

GENEVIÈVE DUMONT

**ÉTUDE DE LA COMPOSITION DES PARTICULES
DES LIPOPROTÉINES DE FAIBLE DENSITÉ ET DES
DÉTERMINANTS DE LEUR TAILLE**

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

FACULTÉ DE MÉDECINE
UNIVERSITÉ LAVAL
QUÉBEC

MAI 2008

© Geneviève Dumont, 2008

Résumé

Les particules LDL et HDL petites et denses sont liées à un risque cardiovasculaire augmenté. Malgré les fortes corrélations négatives entre les taux de TG et la taille des particules LDL et HDL, les valeurs prédictives de différents ratios et paramètres de lipides et d'apolipoprotéines sont partiellement caractérisées. Les objectifs du mémoire sont d'identifier les déterminants de la taille des particules LDL et HDL et d'évaluer les potentiels prédictifs de différents ratios et paramètres. Les tailles des particules LDL de 1956 sujets ont été mesurées par électrophorèse sur gradient de gel de polyacrylamide (PAGGE). Les particules LDL des hommes sont plus petites que celle des femmes. Le C-LDL/apoB:LDL a la plus importante contribution à la variance de la taille des LDL. Tous les autres ratios étudiés sont de mauvais prédicteurs. Les meilleurs moyens de mesurer les tailles des particules LDL afin de prédire le risque cardiovasculaire demeurent les mesures sur PAGGE.

Abstract

Several lines of evidence indicate that small, dense LDL and HDL are associated with an increased risk of cardiovascular disease. Despite the strong negative correlation between plasma triglyceride levels and LDL particle size, the predictive value of various lipid/apolipoprotein ratios to estimate LDL size has not been fully characterized. The objectives were to identify the determinants of LDL and HDL particle size and to evaluate the predictive potentials of different lipid/apolipoproteins ratios to estimate LDL and HDL particle size. LDL particle size was measured on 1956 subjects by electrophoresis on polyacrylamide gradient. Men have smaller and denser LDL particle than women. LDL-C/LDLapoB was the most important variable of LDL particle size. All ratios studied are similar but weak ratios to predict LDL particle size. LDL-C/LDLapoB is the major determinant of the variability of LDL particle size. However, all lipids/lipoprotein ratios studied are weak predictor of LDL particle size.

Avant-Propos

Ce mémoire est présenté à la Faculté des Études Supérieures de l'Université Laval pour l'obtention du grade de maître ès sciences (M.Sc). Il s'agit d'un mémoire avec insertion d'un article scientifique. L'introduction comprend un chapitre sur les lipoprotéines, sur l'athérosclérose et sur les connaissances actuelles au sujet de la taille des particules LDL et HDL. L'article scientifique, cœur du mémoire, est présentement en processus de publication. L'article est suivi d'une conclusion générale rappelant les résultats obtenus et les discutant plus en profondeur.

Je remercie tous les gens ayant collaboré aux travaux de mon mémoire en commençant par les coauteurs de mon article. Je tiens à remercier le Dr Patrick Couture, clinicien-chercheur au Centre de Recherche sur les Maladies Lipidiques (CRML) et le Dr Benoît Lamarche chercheur à l'Institut des nutraceutiques et des aliments fonctionnels de l'Université Laval et professeur à la Faculté des sciences de l'agriculture et de l'alimentation, pour la qualité de leur encadrement tout au long des travaux.

Je remercie le Dr Claude Gagné, le Dr Jean Bergeron et chef du service de lipidologie du CHUL pour le recrutement des sujets ainsi que pour les révisions des manuscrits. Je remercie aussi Jean-Charles Hogue, étudiant à la maîtrise sous la supervision des Dr Patrick Couture et Benoît Lamarche et récipiendaire d'une bourse de formation de la Fondation des Maladies du Cœur du Canada en collaboration avec les Instituts en Recherche en Santé du Canada (IRSC) pour ses conseils pour le laboratoire, pour les statistiques et pour la rédaction des articles et du mémoire.

J'ai fait la totalité des analyses de laboratoire, la majorité des analyses statistiques et j'ai participé à l'élaboration de la base de données. J'ai rédigé l'article présenté et procédé aux corrections demandées par les réviseurs.

Je remercie les autres membres de mon équipe et de celle du Dr Lamarche, Johanne, Jean-François, George, Élise et André pour leur expertise technique et pour l'aide qu'ils m'ont apportées sur le plan technique. Je remercie les membres du personnel du laboratoire clinique du CRML pour les dosages qu'ils ont effectués.

Table des matières

Résumé	i
Abstract.....	ii
Avant-Propos	iii
Table des matières	iv
Liste des abréviations	vi
Introduction	1
Chapitre 1 : Les lipoprotéines.....	4
1.1 Classification des lipoprotéines	4
1.1.1 Les chylomicrons (CM).....	4
1.1.2 Les lipoprotéines de très faible densité (VLDL)	5
1.1.3 Les lipoprotéines de densité intermédiaire (IDL).....	5
1.1.4 Les lipoprotéines de faible densité (LDL).....	6
1.1.5 Les lipoprotéines de haute densité (HDL).....	6
1.1.6 Les lipoprotéines(a) (Lp(a)).....	6
1.2 Le métabolisme des lipoprotéines	7
1.2.1 La voie des lipides exogènes (voie entéro-hépatique).....	7
1.2.3 La voie des lipides endogènes	8
1.2.3 Le transport inverse du cholestérol.....	8
Chapitre 2 : L'athérosclérose.....	10
2.1 Définition.....	10
2.2 Facteurs de risque des MCV.....	11
2.2.1 Facteurs de risques traditionnels.....	11
2.2.2 Facteurs de risque non-traditionnels.....	12
Chapitre 3 : Connaissances actuelles.....	13
3.1 Taille des particules LDL	13
3.1.2 Formation des LDL petites et denses	13
3.1.3 Relation entre les particules LDL petites et denses et les MVC	13
3.1.4 Composition des particules LDL	15
3.2 Taille des particules HDL.....	15
3.2.2 Formation des HDL petites et denses.....	16
3.2.3 Relation entre les particules HDL petites et denses et les MVC.....	16
3.2.4 Composition des particules HDL	18
3.3 Facteurs influençant la taille et la composition des particules LDL et HDL et mécanismes sous-jacents	19
3.3.1 Lipase hépatique et protéine de transfert des esters de cholestérol	19
3.3.2 Sexe	20
3.3.3 Obésité.....	21
3.3.4 Variations génétiques	23
3.3.5 Diète/ exercice.....	24
3.4 Ratios et paramètres pouvant prédire cliniquement la taille des particules LDL et HDL	25
Chapitre 4 : Hypothèses et objectifs.....	27
4.1 Hypothèses.....	27
4.2 Objectifs.....	27

Chapitre 5 : Article LDL	28
Chapitre 6 : Conclusion	58
Bibliographie	60

Liste des abréviations

Apo : apoprotéine

C : cholestérol

CE : cholestérol estérifié

CETP : protéine de transfert des esters de cholestérol

CM : chylomicrons

HDL : lipoprotéine de haute densité

IDL : lipoprotéine de densité intermédiaire

LCAT : lécithine:cholestérol acyltransférase

LDL : lipoprotéine de faible densité

LDL-PPD : diamètre du pic principal de particules LDL

LH : lipase hépatique

Lp(a) : lipoprotéine(a)

LpAI : particule HDL ne comportant que de l'apoAI

LpAI:AI : particule HDL contenant simultanément l'apoAI et l'apoAII

LPL : lipoprotéine lipase

MCV : maladie cardiovasculaire

PL : phospholipides

PLTP : protéine de transfert des phospholipides

TG : triglycérides

VLDL : lipoprotéine de très faible densité

Introduction

Les maladies cardiovasculaires (MCV) sont la première cause de mortalité et de morbidité des pays occidentaux. Un homme sur deux et une femme sur quatre a des chances de développer une MCV au cours de sa vie après l'âge de 40 ans.^{1,2} La première cible pour le contrôle optimal du risque cardiovasculaire est la mesure du cholestérol mais il est maintenant bien connu que le contenu en cholestérol des lipoprotéines de faible densité (LDL) ne révèlent qu'une particularité de la particule.³ Nous savons aussi que des taux plus élevés de lipoprotéines de haute densité (HDL) sont associés à un risque cardiovasculaire plus faible.^{4,5} Les particules LDL et HDL sont hétérogènes quant à leur densité, leur taille, leur composition, leur charge électrique et leurs fonctions physiologiques.⁶⁻⁸

Plusieurs études ont démontré que les particules LDL petites et denses étaient liées à un risque cardiovasculaire augmenté.^{5,9,10,11} Les particules LDL petites et denses seraient davantage athérogènes que les plus grosses parce que leur affinité au récepteur LDL est diminuée¹², parce qu'elles ont une plus grande affinité aux protéoglycanes^{13,14} ou parce qu'elles sont plus susceptibles à l'oxydation, facteur important dans l'athérosclérose.¹⁵ La surface à une couche dégarnie de phospholipides des particules LDL petites denses résulte à une exposition plus importante des régions de fixation des protéoglycanes. Cette exposition plus grande mène chez les particules LDL petites et denses, en comparaison avec les plus grosses, à un changement dans la conformation de l'apoB-100.¹⁶

Mesurer la taille des particules HDL peut possiblement améliorer l'évaluation du risque cardiovasculaire chez les hommes avec de bas taux de HDL.¹⁷ La littérature ne permet pas d'affirmer si les petites particules HDL (HDL₃) sont un facteur de risque plus fort de MCV que les particules HDL grosses et légères (HDL₂) même si nous savons que des taux plus élevés de HDL sont inversement associés au risque cardiovasculaire. Il est clair que les particules HDL petites et denses uniquement, tout comme les particules LDL petites et denses, sont liées à un risque cardiovasculaire accru.

Les concentrations de cholestérol HDL (C-HDL) et d'apoprotéine A1 (apoAI) corréleront dans les particules HDL₂ mais pas dans les

particules HDL₃.¹⁸ Les concentrations plasmatiques de HDL₂ sont plus élevées chez la femme que chez l'homme mais les deux sexes ont des concentrations semblables de HDL₃.¹⁸ L'apoAI des sujets ayant un faible C-HDL est plus facilement échangeable.¹⁹ Les particules HDL enrichies en TG ont une plus grande proportion d'apoAI sous sa forme dissociable.¹⁹

Les compositions chimiques des grosses et des petites particules LDL sont semblables mais il y aurait une plus grande proportion d'apoB dans les petites particules LDL et une diminution du même ordre de grandeur de phospholipides et de cholestérol non estérifié.²⁰

Mesurer la taille des particules LDL et HDL est une tâche coûteuse en matériel et en main-d'oeuvre. Cliniquement, il est impensable de pouvoir bénéficier de ces informations complémentaires pour évaluer le risque cardiovasculaire pour chaque patient. Ainsi, il est intéressant de se demander s'il n'existerait pas d'outil moins coûteux et plus accessibles que les cliniciens pourraient utiliser pour chaque patient afin d'estimer la taille de leurs particules LDL et HDL afin de peaufiner leur diagnostic et leurs traitements. La littérature propose l'usage de différents ratios et paramètres pour estimer la taille ou le phénotype des particules LDL et HDL tels que l'apoAI,²¹ les ratios TG/HDL-C,²²⁻²⁸ TC/HDL-C,²² LDL-C/LDLapoB,²⁹ LDL-C/apoBtotal,³⁰ TC/TG,³¹ LDL-C/TG³¹ et apoB/apoAI.²³

Les objectifs de ce mémoire sont d'étudier les relations entre les propriétés électrophorétiques et la composition des particules LDL, d'identifier les déterminants de la taille des particules LDL ainsi que de vérifier la validité de différents paramètres dans l'estimation de la taille des particules LDL chez un grand groupe de sujets ayant un grand éventail de niveaux de TG.

Le présent mémoire est divisé en trois chapitres. Le premier chapitre comprend une description des lipoprotéines et de leur métabolisme. Le second présente l'athérosclérose et ses facteurs de risque. Le troisième chapitre consiste en une revue des connaissances actuelles sur la taille des particules LDL et HDL. Ce chapitre aborde la formation des particules petites et denses, les liens entre la taille des particules et les MCV, les facteurs influençant la composition des particules et ce chapitre comporte également une section consacrée à différents ratios proposés pour prédire la taille des particules LDL et HDL. Le

quatrième chapitre présente les hypothèses et les résultats du mémoire. Le manuscrit d'un article scientifique, issu de mes travaux de recherche à la maîtrise, seront bientôt soumis pour publication, est présenté au chapitre 5 de ce mémoire. Le dernier chapitre prend la forme d'une discussion autour des résultats obtenus et de leurs implications au niveau clinique.

Chapitre 1 : Les lipoprotéines

1.1 Classification des lipoprotéines

Le cholestérol est essentiel à chaque cellule pour la synthèse et le maintien de ses membranes. Les lipoprotéines assurent le transport des lipides (composés hydrophobes) dans un milieu hydrophile (le plasma sanguin) d'un tissu à l'autre. La composition, la structure et les fonctions des lipoprotéines sont modifiées tout au long de leur vie. Les lipoprotéines seront ultimement captées par des récepteurs spécifiques ou non spécifiques dans le but de donner leur contenu aux cellules qui pourront alors s'en servir pour produire de l'énergie, pour maintenir et produire la membrane cellulaire et pour fabriquer diverses substances endogènes comme les hormones stéroïdiennes et les acides biliaires.

Les lipoprotéines ont toutes la même structure de base : elles sont sphériques et constituées d'une surface et d'un noyau. Le noyau est formé de lipides apolaires ou hydrophobes (triglycérides (TG) et le cholestérol estérifié (CE)). Il permet le transport des lipides dans le sang. À la surface, nous retrouvons une fraction protéique, les apoprotéines et des lipides polaires, hydrophiles (phospholipides et cholestérol non estérifié). Les apoprotéines servent à la reconnaissance des lipoprotéines par des récepteurs et des enzymes. Elles sont importantes pour la solubilisation des lipides et pour la structure des lipoprotéines.

Les lipoprotéines se différencient les unes des autres par leur teneur et leur composition en apoprotéines et en lipides. Elles peuvent être classées en fonction de leurs propriétés physiques (selon leur densité et leur taille) et par leurs propriétés chimiques (selon leur composition en lipides, en protéines et selon leur degré de flottaison).

1.1.1 Les chylomicrons (CM)

Les chylomicrons sont les plus grosses et les moins denses des lipoprotéines. Elles transportent les lipides alimentaires des intestins aux tissus. Normalement, elles contiennent de l'apoAI, A-II, B-48, C-I, C-II, C-III et E. La synthèse de l'apoB-48 par l'intestin grêle est essentielle à la formation des chylomicrons.³² Les résidus de CM sont considérés

comme athérogènes contrairement aux CM.³³ Le diamètre des chylomicrons varie de 800 à 5000 Å et leur densité est inférieure à 0.95 g/ml. Le principal composé lipidique des CM est les TG.³⁴

1.1.2 Les lipoprotéines de très faible densité (VLDL)

Les VLDL sont responsables du transport des TG endogènes du foie vers les tissus périphériques. Le foie fabrique et sécrète les VLDL. Les VLDL sont riches en TG, toutefois moins que les CM, et contiennent de l'apoC-III et de l'apoE. Ils ont de l'apoB-100 au lieu de l'apoB-48 comme les CM. L'émergence de l'apoB-100 dans la cascade est importante parce que cet apo est un agglutinant physiologique pour le récepteur LDL.³⁵ L'action lipolytique des lipases, en particulier celle de la lipoprotéine lipase (LPL), hydrolyse les acides gras des VLDL. Les acides gras ainsi libérés sont repris au niveau du tissu adipeux et serviront à l'édification des réserves d'énergie et peuvent aussi être repris au niveau du muscle. Le contenu lipidique des VLDL suite à l'hydrolyse continue des TG des VLDL par la LPL est réduit. On note une réduction du diamètre et une augmentation de la densités des VLDL.³³ Environ un tiers des VLDL est éliminé par des récepteurs hépatiques tandis que les deux tiers termineront en LDL suite à la cascade métabolique.³⁵ Leur diamètre varie de 300 à 800 Å et leur densité est inférieure à 1.006 g/ml.³⁴

1.1.3 Les lipoprotéines de densité intermédiaire (IDL)

Lorsque les VLDL ont atteint une certaine taille (300 Å environ), ils sont considérés comme des IDL ou comme résidus de VLDL. La transformation des VLDL en IDL est accompagnée du transfert de l'apoC-III aux HDL.³³ L'hydrolyse des TG des IDL en acides gras libres est facilitée par la lipase hépatique (LH): les IDL sont ensuite transformées en LDL. Durant la transformation des IDL en LDL, l'apoC-III est également enlevée aux HDL et remplacée par l'apoE des LDL.³⁵ À la surface de chaque IDL il y a une molécule d'apoB-100 et plusieurs molécules d'apoE. La densité des IDL varie de 1.006 à 1.019 g/ml et leur diamètre de 250 à 350 Å.³⁴

1.1.4 Les lipoprotéines de faible densité (LDL)

Les LDL, communément appelés « mauvais cholestérol » jouent un rôle majeur dans le développement des MCV.³⁶ Le contenu en cholestérol des LDL est assez élevé comparativement à son contenu en TG.³³ Les LDL sont la classe de lipoprotéine qui véhicule la plus grande partie du cholestérol retrouvée dans la circulation sanguine. Chaque particule LDL ne possède qu'une seule molécule d'apoB-100. Celle-ci est nécessaire au maintien de l'intégrité structurelle de la particule. Les prédécesseurs des LDL, les IDL et les VLDL ont également des apoB-100. Les LDL sont la dernière classe de lipoprotéines de la cascade des lipoprotéines contenant de l'apoB-100. La population des LDL est hétérogène dans la distribution de sa densité, de sa taille et dans certaines propriétés des différentes particules. Toutes les LDL sont athérogènes mais les sous-classes de LDL petites et denses le sont davantage. On peut classer les sous-classes de LDL selon le phénotype A (décalage vers les grosses LDL) ou selon le phénotype B (décalage vers les petites LDL) ou encore en classifiant les sous-classes selon leur taille, de LDL₁ à LDL₇. La densité des LDL varie de 1.019 à 1.063 g/ml et leur diamètre de 180 à 280 Å.³⁴

1.1.5 Les lipoprotéines de haute densité (HDL)

Dans la circulation, on retrouve trois catégories de particules HDL, divisées selon leur densité : les HDL naissantes, les HDL₂ et les HDL₃. Les apo, principalement l'apoAI, C-II, C-III et E stabilisent la forme discoïdale des HDL naissantes. Les phospholipides (PL) sont leur constituant lipidique le plus important. Le foie et l'intestin les secrètent et elles sont dérivées des résidus de l'hydrolyse des CM et des VLDL (lipoprotéines riches en TG). Au cours de leur maturation, les particules HDL adopteront une forme sphérique en gagnant l'apoA-II et A-IV et en relâchant l'apoC-III, C-II et E vers les lipoprotéines riches en TG.³³ La densité des HDL₂ varie de 1.063 à 1.125 g/ml et celle des HDL₃ de 1.125 à 1.210 g/ml. Le diamètre des HDL₂ est de 90 à 120 Å et celui des HDL₃ de 50 à 90 Å.³⁴

1.1.6 Les lipoprotéines(a) (Lp(a))

La Lp(a) est une particule LDL à laquelle une molécule d'apo(a) est fixée par un lien disulfure sur la molécule d'apoB-100. L'apo supplémentaire augmente ainsi le poids et la densité des LDL. La Lp(a) est riche en CE. La synthèse de l'apo(a) par le foie est

indépendante de celle de l'apoB-100. Elle est d'abord liée de façon non-covalente à l'apoB-100 des LDL avant la formation spontanée du lien disulfure.³³ La pathogénécité de la Lp(a) est due à son potentiel athérogénique et antifibrinolytique.³⁷ Une méta-analyse récente suggère que des niveaux élevés de Lp(a) sont un facteur de risque de l'incidence d'accidents cérébrovasculaires.³⁸

1.2 Le métabolisme des lipoprotéines

Plusieurs récepteurs et enzymes interviennent dans le métabolisme des lipoprotéines. Les lipides, circulant dans le sang sous forme de lipoprotéines, empruntent différentes voies métaboliques : la voie exogène (de l'intestin vers d'autres tissus), la voie endogène (du foie vers d'autres tissus) et la voie du transport inverse du cholestérol (des tissus vers le foie).

1.2.1 La voie des lipides exogènes (voie entéro-hépatique)

Pour fournir de l'énergie et pour la synthèse de molécules, les lipides alimentaires doivent voyager des intestins aux différents tissus. Le petit intestin hydrolyse les lipides qui seront ensuite absorbés par les cellules épithéliales intestinales. Les CM sont formés à partir des lipides réestérifiés et assemblés à l'aide de l'apoB-48. Les CM transportent surtout des TG. La LPL, enzyme située sur l'endothélium capillaire dont le cofacteur, l'apoC-III, hydrolyse les TG des CM en acides gras libres. L'apoC-III contenue dans les CM diminue toutefois l'activité de la LPL et l'apoC-II est le cofacteur de la LPL et stimule son activité. Les acides gras libérés sont captés par la cellule adipeuse où ils seront reconstitués en TG. Les muscles utilisent les acides gras libres également comme source d'énergie. Les constituants en surplus à la surface des CM (phospholipides, cholestérol libre, apoA et apoC) sont transférés aux HDL. Seuls les TG des CM ont été hydrolysés donc les résidus de CM sont riches en CE et en apoE. Un récepteur membranaire de la cellule hépatique semblable à celui des LDL capte les résidus de CM. Suite à un repas, les CM circulent dans le sang et disparaissent généralement après huit heures de jeun.^{33,34}

1.2.3 La voie des lipides endogènes

La circulation de lipides du foie vers d'autres tissus est essentielle en situation postprandiale parce que la quantité de CM en circulation est moins élevée en préprandial. Les CM sont produits en période post-prandiale. La LPL hydrolyse les TG des CM et des VLDL et les acides gras libérés sont distribués aux tissus adipeux et musculaires. La LH hydrolyse les TG des IDL qui deviendront des LDL suite à une diminution de leurs contenus en TG. Les VLDL perdront leurs apo soit par échange ou soit par libération dans le plasma. Il ne restera qu'une seule molécule d'apoB-100 essentielle au maintien de l'intégrité des particules LDL. La lécithine : cholestérol acyltransférase (LCAT) réestérifie le cholestérol des LDL. L'apoB-100 est reconnu par le récepteur LDL et ce récepteur permet le retrait des LDL de la circulation.³⁴

1.2.3 Le transport inverse du cholestérol

Les particules HDL assurent le transport inverse du cholestérol. Les cellules des muqueuses intestinales et le foie synthétisent les particules HDL. Elles sont secrétées sous forme d'un disque et ne contiennent qu'une faible quantité de phospholipides et d'apoAI (pré- β -HDL) lorsqu'elles sont naissantes.

Ces particules HDL naissantes absorbent avidement le cholestérol libre non estérifié des cellules périphériques par diffusion aqueuse de la membrane cellulaire à la particule. Le flux du cholestérol est facilité par l'attachement de la particule HDL naissante à la surface cellulaire des récepteurs. Le cholestérol libre est absorbé dans la membrane des HDL. Le LCAT, activé par l'apoAI, catalyse l'estérification du cholestérol, causant l'entrée du cholestérol ester dans le noyau de la particule HDL, laissant de la place à la surface de la particule pour l'adsorption ultérieure de cholestérol.

L'action coordonnée de l'apoAI, des HDL et de la LCAT facilite l'accumulation d'ester de cholestérol dans les HDL et permet le maintien du sens unique du transport inverse du cholestérol. Au long de ce processus, avec l'ajout de phospholipides, de cholestérol et d'apoprotéines issus de la lipolyse des CM et des VLDL par l'action de la protéine de transfert des esters de cholestérol (CETP), les particules HDL acquièrent leur forme sphérique (α -HDL).

Par l'action de la CETP, les EC sont échangés contre des TG entre les HDL et les lipoprotéines contenant de l'apoB-100. La LPL catabolise les TG dans les VLDL et les IDL. Les HDL reçoivent également du cholestérol libre et des EC via le récepteur SR-B1/Cla-1 que l'on retrouve dans les macrophages, le foie et les tissus stéroïdogéniques et via le système ABCA-1, présent dans les macrophages, le foie, les reins, l'intestin et les glandes surrénales.

Simultanément, les TG des HDL₂ sont hydrolysés par la LH pour régénérer des HDL₃. Tout au long de l'absorption de cholestérol, les HDL accumulent de l'apoC-III et de l'apoE des VLDL et des IDL. Plus les HDL reçoivent du cholestérol, plus leurs tailles augmentent, passant de la classe HDL₃ à la classe HDL₂. Un récepteur SR-B1/Cla-1 du foie ou d'un tissu stéroïdogénique captera les HDL pour lui récupérer son cholestérol. Suite à la livraison de ses EC, les HDL se retrouveront à nouveau en circulation et redeviendront disponibles pour recevoir des EC. Les TG contenus dans les HDL peuvent être hydrolysés par la LH. Le cholestérol est transformé en hormones stéroïdiennes dans les tissus stéroïdogéniques et en sels biliaires dans le foie. Il peut aussi être excrété directement dans la bile³³⁻³⁵.

Une des fonctions des HDL est d'être un réservoir d'apoprotéines, particulièrement, d'apoC-II, cofacteur et stimulateur de l'activité de la LPL.³⁵

Chapitre 2 : L'athérosclérose

2.1 Définition

L'athérosclérose est une maladie chronique et insidieuse de la paroi artérielle. Elle est une des causes les plus fréquentes des MCV. Trouble complexe, l'athérosclérose implique plusieurs types de cellules et de médiateurs conduisant à un état inflammatoire. Les lésions athérosclérotiques peuvent commencer à se développer très tôt dans la vie et continuer pendant des années avant de se manifester comme une maladie chronique.³⁹

L'athérosclérose se produit lorsque les lipoprotéines, principalement les LDL (les résidus de CM et les VLDL aussi mais en plus petites quantités) entrent dans la paroi artérielle et subissent des modifications, dont l'oxydation, la glycosylation et l'hydrolyse des molécules de surface. Ces lipoprotéines oxydées provoquent une cascade de réponses cellulaires comme la production de médiateurs inflammatoires dont les cytokines. Il y a également induction de molécules d'adhésion dans l'endothélium. Les monocytes s'attachent aux molécules d'adhésion et traverseront ultimement la paroi artérielle, attirés par les chémokines et des cytokines chemoattractantes. Via les récepteurs scavengers, les monocytes se transforment en macrophages et phagocytent de manière non spécifique les lipoprotéines dénaturées.^{33,39}

Les monocytes des parois du vaisseau prennent les lipoprotéines oxydées induisant leur différenciation dans les cellules spumeuses chargées de lipides. Ainsi est élaborée la strie lipidique, base de la plaque athéromateuse. L'infiltration continue de monocytes et de lipoprotéines et l'aggravation des dommages causés à l'endothélium contribuent à l'évolution de la strie. Les cellules musculaires lisses de la paroi répondent à ces stimuli en s'activant, proliférant et en migrant de la média vers l'intima. Tant dans la média que dans l'intima, ces cellules se reproduisent et élaborent une matrice extracellulaire. La strie est plus solide suite à l'accumulation de matériel collagèneux extracellulaire à la superficie. Cette matrice matériel collagèneux contribue à la formation de lésions athérosclérotiques précoces et à la formation des stries lipidiques. Les stries apparaissent avant les plaques

plus complexes des stages ultérieurs de la maladie. La lumière vasculaire diminue au fur et à mesure que la plaque se développe. Une plaque riche en esters de cholestérol est moins stable et le flot sanguin a plus de chance de la déloger qu'une plaque riche en cholestérol cristallisé, solidement implantée.^{33,39}

De nombreuses entités cellulaires sont impliquées dans la pathogenèse de l'athérosclérose. Les cellules vasculaires, dont les cellules endothéliales et les cellules musculaires lisses ont des rôles bien définis dans l'athérosclérose. L'endothélium n'est plus qu'un simple tuyau : maintenant reconnu comme un organe en soit, dynamique, l'endothélium est impliqué dans des fonctions paracrines et endocrines. Les cellules endothéliales sont exposées à des agressions continues ou répétées, pouvant être d'origine métabolique, comme l'hypercholestérolémie, menaçant leur intégrité, avec une perte de leurs fonctions normales et de leur rôle de barrière. L'induction de molécules d'adhésion, étape importante dans le développement de l'athérosclérose prématurée, est un exemple de réponse à ces stimuli. Un changement dans la production d'oxyde nitrique, molécule aidant au maintien des réactions normales de l'endothélium tout en limitant les thromboses et l'inflammation est signe d'un développement prématuré d'athérosclérose. La structure de la plaque peut être affaiblie par des enzymes comme les métalloprotéinases. Celles-ci hydrolysent le matériel collagèneux à la surface de la plaque et augmentent donc ses chances de céder sous la force du flux sanguin. Un thrombus peut être formé suite à une rupture de la plaque relâchant ainsi beaucoup de substances coagulantes. Le tableau clinique résultant de la rupture d'une plaque et de la formation d'un caillot intra-artériel dépend de la localisation de cette obstruction. Ce tableau clinique inclus notamment l'accident vasculaire cérébral, l'infarctus du myocarde, l'angine de poitrine, la mort subite, l'insuffisance vasculaire périphérique aux membres inférieurs et l'ischémie mésentérique.³⁹

2.2 Facteurs de risque des MCV

2.2.1 Facteurs de risque traditionnels

L'athérosclérose est une maladie multifactorielle. Plus personne ne doute de l'impact des facteurs de risque traditionnels comme l'âge élevé, le sexe masculin, la pression sanguine élevée, le tabagisme, les hauts niveaux plasmatiques de C-LDL et des bas niveaux

de C-HDL sur le risque de MCV.⁴⁰ Utilisés en cliniques et connus depuis longtemps, les facteurs de risque traditionnels sont soit modifiables ou soit non-modifiables. Ces facteurs sont présents chez 80 à 90% des patients développant une MCV.^{41,42}

2.2.2 Facteurs de risque non-traditionnels

Des niveaux de Lp(a), d'homocystéine, d'apoB, d'insuline, de particules LDL et HDL petites et denses et de CRP élevés sont maintenant reconnus depuis quelques années par la communauté scientifique comme des facteurs de risque non-traditionnels de MCV.⁴⁰

Chapitre 3 : Connaissances actuelles

3.1 Taille des particules LDL

Les particules LDL sont hétérogènes quant à leur densité, leur taille, leur composition lipidique et quant à leurs propriétés pathologiques.⁶

3.1.2 Formation des LDL petites et denses

Le métabolisme des lipoprotéines riches en TG est lié à la formation de LDL petites et denses. De hauts niveaux plasmatiques de TG sont corrélés à des particules LDL petites et denses.^{3,43-45} Une augmentation des taux plasmatiques de VLDL riches en TG favorise, par l'entremise de la CETP, une hausse du transfert du CE des LDL vers les VLDL et aussi le transfert des TG des VLDL vers les LDL. Les LDL enrichis en TG sont de bons substrats pour la LH. La formation de particules LDL plus petites et plus denses est ainsi favorisée.

3.1.3 Relation entre les particules LDL petites et denses et les MCV

Depuis une vingtaine d'années, plusieurs études prospectives et rétrospectives ont démontré que les individus dont leurs particules LDL étaient plus petites et plus denses avaient un plus grand risque de développer une MCV.^{5,9,46}

C'est en 1988 que des chercheurs ont démontré pour la première fois un lien entre la taille des LDL, mesurée par électrophorèse sur gradient de gel de polyacrylamide (PAGGE) et le risque de MCV. En étudiant 121 témoins vs 109 cas, Austin et al.,⁴⁷ ont démontré que le lien entre le phénotype B (prépondérance de petites particules LDL), tant chez les hommes que chez les femmes, et le risque de développer une MCV était trois fois plus élevé que celui avec le phénotype A (prépondérance de grosses particules LDL). D'après cette étude, la taille des particules LDL serait modulée par les taux plasmatiques de C-HDL, de C-IDL et de TG.

Des chercheurs écossais⁴⁸ ont analysé par ultracentrifugation les particules LDL de sujets souffrant de maladies vasculaires athérosclérotiques, de leurs témoins, de sujets survivants d'infarctus du myocarde et de leurs témoins. Ils ont démontré que la présence de particules LDL denses est associée avec un risque relatif de 4.5 pour la présence de maladies vasculaires et de 6.9 pour la présence d'infarctus du myocarde.

Campos et al.⁴⁹ ont étudié le LDL-PPD chez 92 hommes normolipidémiques ayant eu une MCV et chez 92 témoins normolipidémiques. L'association entre les grosses particules LDL et les cas de MCV était significative, même après ajustements pour l'âge, l'indice de masse corporelle, le C-HDL et le C-VLDL.

En 1996, Stampfer et al.⁵⁰ ont quant à eux conclu, qu'avant ajustement pour les TG, que la LDL-PPD était associée au développement des MCV. Les niveaux de TG seraient, par le fait même, des meilleurs prédicteurs du risque de MCV. Pour arriver à ces résultats, les auteurs ont examinés la taille des LDL de 308 témoins et 266 cas.

En 1996 également, Gardner et al.⁹ ont étudié l'association entre le diamètre des particules LDL et l'incidence de MCV fatale ou non fatale comparant par paires 180 hommes et 68 femmes. Cette étude prospective populationnelle a démontré que la taille des particules LDL était significativement plus petite chez les sujets cardiaques que chez les témoins. Dans cette étude, le diamètre du pic principal de particules LDL (LDL-PPD) était le meilleur différentiateur entre les deux catégories de sujets.

Les données de l'Étude cardiovasculaire de Québec⁵ ont permis de démontrer une association entre la présence de particules LDL petites et denses et le développement de MCV en comparant par paires 103 cas de MCV à 103 témoins. Ces mêmes données ont permis de démontrer que le LDL-PPD était inférieur chez les individus ayant développé une MCV durant la période de suivi,⁵¹ que le pourcentage des particules LDL dans la région <255 Å et que la concentration de cholestérol dans les particules <255 Å étaient des variables davantage liées au risque de MCV que le LDL-PPD.⁴⁴

En 1999, Mikkänen et al.⁵² ont quant à eux publié une étude démontrant que la taille des particules LDL n'était pas un bon prédicteur du risque cardiovasculaire, après ajustement pour le diabète de type 2. Cette étude a été réalisée chez des sujets âgés de 65 à 74 ans.

La plupart de ces études démontrent donc un plus grand potentiel athérogénique des particules LDL petites et denses. Ce phénomène serait dû à leur affinité moins forte pour le récepteur LDL,¹² à leur affinité plus forte aux protéoglycanes^{13,14} ou à leur plus grande susceptibilité à l'oxydation.¹⁵ Une exposition plus importante aux régions d'attache des protéoglycanes est due à la surface à une couche dépourvue de PL des particules LDL petites et denses, comparativement aux plus grosses, menant à un changement dans la conformation de l'apoB-100.¹⁶

3.1.4 Composition des particules LDL

Les compositions chimiques des petites et grosses particules LDL sont semblables mais les plus petites particules ont une plus grande proportion d'apoB que les plus grosses et une diminution du même ordre de phospholipides et de cholestérol non estérifié.²⁰ Plus la taille des particules LDL diminue, plus le ratio cholestérol sur phospholipides diminue et la fraction de la surface couverte de lipides diminue également. La surface centrale estimée nécessitant une couverture d'apoB augmente avec la diminution de la taille des particules LDL.¹⁶

Les plus petites et les plus denses particules LDL contiennent significativement moins de cholestérol libre, de phospholipide et de CE que les particules plus grosses.⁵³ Capell et al.⁵³ n'ont pas noté de différence dans la quantité de LDL-TG par particule LDL entre les plus grosses et plus petites.

3.2 Taille des particules HDL

Les particules HDL sont hétérogènes quant à leur taille, à leur composition et à leurs propriétés physiologiques.^{7,8} Pascot et al. ont suggéré que la mesure de la taille des particules HDL permettrait d'améliorer l'évaluation du risque cardiovasculaire.¹⁷ Il a été

démontré que les particules HDL petites et denses étaient plus rapidement éliminées de la circulation entraînant une diminution du taux de C-HDL. La taille des particules HDL pourrait ainsi être un déterminant significatif des taux de C-HDL.⁵⁴

3.2.2 Formation des HDL petites et denses

Au cours de leur maturation, les particules HDL adopteront une forme sphérique en gagnant l'apoA-II et A-IV et en relâchant l'apoC-III, C-II et E vers les lipoprotéines riches en TG.³³ Plus les particules HDL reçoivent du cholestérol, plus leurs tailles augmentent, passant de la classe HDL₃ à la classe HDL₂.

3.2.3 Relation entre les particules HDL petites et denses et les MCV

En 1951, Barr et al. ont été les premiers à suggérer que des concentrations élevées de C-HDL étaient associées à un risque de cardiopathie ischémique plus faible.⁵⁵ Plusieurs études prospectives ont confirmé ces observations^{4,56-60} et de nos jours, le rôle protecteur des HDL contre le développement des MCV est bien accepté. Les mécanismes impliqués ne sont pas entièrement compris⁶¹ mais Gofman et al.⁶² ont suggéré que ce rôle protecteur était dû à la fraction HDL₂.

À l'heure actuelle, la littérature ne nous permet pas de savoir si les particules HDL petites et denses (HDL₃) sont un meilleur prédicteur du risque de MCV que les particules HDL grosses et légères (HDL₂).

Des études ont démontrés que les propriétés cardioprotectrices des HDL sont dues aux particules grosses et légères HDL₂.^{18,63-68} Selon d'autres études, les HDL₂ et les HDL₃ qui diminueraient le risque de MCV de la même amplitude.^{68,69}

L'étude prospective de Stampfer et al.,⁷⁰ avec les données de la Physicians'Health Study, a démontré que les sous-classes HDL₂ et HDL₃ avaient des propriétés protectrices et que les HDL₃ était un meilleur prédicteur d'infarctus du myocarde.

Avec The Caerphilly and Speedwell Collaborative Heart Disease Studies,⁶⁷ Sweetnam et al. ont démontré que les fractions HDL₂ et HDL₃ étaient inversement associées au risque de cardiopathie ischémique mais que les HDL₃ y sont plus fortement associés. Les HDL₂ sont ainsi un meilleur prédicteur des MCV que les HDL₃.

Les résultats de Salonen et al.⁶⁸ suggèrent quant à eux que l'effet cardioprotecteur des taux de C-HDL élevés est dû à la sous-classe HDL₂ et que le rôle des HDL₃ est ambigu.

Soedamah-muthu⁶⁶ ont mesuré, à l'aide de la spectrométrie par résonance magnétique des échantillons de 59 contrôles pairés pour l'âge et le sexe à 59 cas de MCV. Ils ont conclu que les petites particules de HDL sont reliées avec un risque plus élevé de MCV.

L'étude de Shepherd et al.¹⁸ a démontré aussi démontré que l'effet protecteur des HDL résiderait dans les HDL₂.

Les données de l'Étude cardiovasculaire de Québec⁶³ ont permis de conclure la presque totalité de l'effet protecteur des HDL était dû aux HDL₂ et que les HDL₃ étaient associés à un risque de MCV plus faible. La relation entre les HDL₃ et le risque de MCV était plus faible que celle avec les HDL₂.

William et al.⁷¹ ont démontré que des taux augmentés de HDL₃ sont reliés avec un risque plus élevé de MCV.

Les particules HDL ne comportant que de l'apoAI (LpAI) sont moins athérogènes que celles qui contiennent simultanément l'apoAI et l'apoAII (LpAI:AII).^{72,73} La plupart des LpAI est retrouvé dans les HDL₂.⁶⁹ Cette affirmation appuie le concept que les particules semblables aux grosses HDL₂ ont des propriétés cardioprotectrices.

Les patients atteints de désordres métaboliques comme l'obésité abdominale,⁷⁴ l'hypercholestérolémie familiale,⁷⁵ le déficit de LPL⁷⁶ ou la maladie de Tangier⁷⁷ ont des particules HDL plus petites et plus denses que des patients non atteints. Ces maladies sont associées à un risque cardiovasculaire supérieur supportant ainsi le concept que la taille des particules HDL influence le développement de MCV.

3.2.4 Composition des particules HDL

Plusieurs études ont démontré que les sujets hypertriglycéridémiques avaient des particules HDL plus petites que les sujets normaux.^{78,79} Chez ces sujets, la maturation des particules HDL est anormale et le transport inverse du cholestérol est moins efficace.⁷⁸⁻⁸¹ Les particules HDL_{2b} des sujets hypercholestérolémiques ont un contenu relatif en apoAI plus élevé que celles des sujets hypertriglycéridémiques.⁸² Les concentrations de C-HDL et d'apoAI corrélaient significativement avec les niveaux de plasma HDL₂, mais pas avec ceux de HDL₃.¹⁸ Yang et al.⁷⁸ ont démontré que les concentrations plasmatiques de TG influençaient davantage les changements de distributions des sous-classes de HDL que les concentrations plasmatiques de cholestérol. Cette équipe a également démontré que lorsque les taux de TG sont normaux et que le C-HDL est faible, le nombre de grosses particules HDL a tendance à diminuer. Le contenu en apoAI des petites particules HDL est plus haut lorsque les taux de cholestérol plasmatique sont élevés.⁷⁸

D'après Li et al.,⁸³ le C-HDL est le constituant majeur affectant la taille des particules HDL. Dans le même ordre d'idée, Asztalos et al.⁷³ ont reporté que le C-HDL et que l'apoAI étaient les deux paramètres influençant le plus les niveaux de LpAI et de LpAI :AII. Il a aussi été démontré que l'hypertriglycéridémie était associée à une plus grande diminution de C-HDL que d'apoAI et que la taille des particules HDL diminuait également.^{84,85} Tremblay et al. ont récemment démontré que des taux plus élevés de TG étaient associés à une plus grande diminution des taux de C-HDL que de HDLapoAI.⁸⁶ La corrélation entre les TG et le C-HDL est supérieure à celle entre l'apoAI et le C-HDL.⁸⁷ Chez les sujets avec de faibles concentrations de C-HDL, le HDLapoAI est plus facilement échangeable et sa clairance rénale est facilitée.¹⁹ Les particules HDL riches en TG ont une plus grande proportion d'apoAI sous forme dissociable.¹⁹

Brinton et al. ont démontré que les taux de C-HDL étaient principalement déterminés par le taux de catabolisme de l'apoAI. La taille des particules HDL semblait être le principal déterminant du catabolisme de l'apoAI parce que la vidange des petites particules de HDL est plus rapide que celle des plus grosses. La contribution des concentrations de TG, de l'activité des lipases, de la sensibilité à l'insuline et de la graisse abdominale à la

régulation du taux de catabolisme de l'apoAI peut être médiée à travers leurs effets sur la taille moyenne des particules HDL. Le même groupe a aussi démontré que le taux de catabolisme de l'apoAI était le mécanisme métabolique prédominant des taux élevés de C-HDL et qu'un faible catabolisme de l'apoAI est associé avec une fraction des HDL riche en lipides. Les plus hautes concentrations de C-HDL des femmes que des hommes peuvent être expliquées par le taux inférieur du catabolisme fractionnel de l'apoAI chez la femme en comparaison avec l'homme. Les taux réduits de C-HDL observés chez certains sujets peuvent être en grande partie dues à un taux de catabolisme élevé de l'apoAI lui-même du à la présences de particules HDL petites et denses.^{88,89}

3.3 Facteurs influençant la taille et la composition des particules LDL et HDL et mécanismes sous-jacents

3.3.1 Lipase hépatique et protéine de transfert des esters de cholestérol

La CETP facilite l'échange des esters de cholestérol des lipoprotéines riches en cholestérol aux TG.⁹⁰ L'hypertriglycéridémie résultante active le transfert des TG aux LDL et HDL par l'action de la CETP. Les produits de ce processus, les LDL et HDL enrichis en TG, sont exposés à une lipolyse augmentée par la LH. Il y a ainsi formation de particules LDL et HDL petites et denses.⁹¹⁻⁹³ Tan et al. ont démontré que les niveaux de LH étaient plus faibles chez les femmes.⁹⁴ La LH hydrolyse principalement les PL des HDL et de façon moins importante les TG. Chez les souris, les particules HDL riches en TG semblent être des meilleurs substrats pour la LH. La LH augmente la formation de petites particules HDL.⁹⁵

L'activité de la CETP est corrélée avec l'échange du cœur lipidique entre les HDL et les lipoprotéines enrichies de TG comme les VLDL₁.^{96,97} En cas d'hypertriglycéridémie, les taux de VLDL sont augmentés⁹⁸ et la formation de particules HDL riches en TG est facilitée.⁹⁹ L'apoAI des sujets ayant un faible C-HDL est plus facilement échangeable.¹⁹ Les particules HDL enrichies en TG ont une plus grande proportion d'apoAI sous sa forme dissociable.¹⁹

Les échanges entre les lipoprotéines riches en TG et les HDL, facilités par la CETP, mènent à l'enrichissement en TG des HDL et à une augmentation du taux de catabolisme de l'apoAI et par le fait même à une amélioration du catabolisme des particules HDL.¹⁰⁰ Une étude récente a démontré que l'impact sur la taille des particules HDL d'une diminution de l'activité des protéines de transfert des phospholipides semble plus important que l'impact d'une diminution de l'activité de la CETP.¹⁰¹ Il a été démontré qu'il y avait une relation significative entre la taille des particules HDL et la concentration de la masse sérique de CETP.^{75,102}

La LCAT est associée positivement avec le HDL_{3b} et négativement avec le HDL_{2a}. La balance entre l'activité de la LCAT et celle de la CETP a un grand effet sur la taille des particules HDL.¹⁰³

3.3.2 Sexe

La littérature permet d'affirmer que les particules LDL et HDL des hommes sont plus petites et plus denses que celles des femmes.^{49,76,104-108} Les hormones sexuelles influencent la distribution des sous-classes des lipoprotéines.¹⁰⁵

L'étude de Li et al.¹⁰⁵ a conclu que le sexe était associé à d'importantes variations dans les niveaux plasmatiques de lipoprotéines, indépendamment de l'âge et des effets de la ménopause. La plus grande accumulation de tissu adipeux chez l'homme et leurs niveaux de TG plasmatiques supérieurs ne peuvent pas expliquer totalement cette différence¹⁰⁸. L'équipe de Li et al.¹⁰⁵ a démontré que les femmes avaient des taux significativement plus élevés de LpAI, de plus grosses particules LDL et des taux plus faibles de TG et d'apoB que les hommes. Les deux sexes avaient des taux comparables de LpAI:AI. Les femmes ont des niveaux plus faibles de LH. L'administration d'œstrogène chez la femme diminue l'activité de cette enzyme.^{109,110} Tan et al.¹¹¹ ont démontré que chez la femme, cette enzyme était corrélée avec les LDL₃ mais que chez l'homme, la LH n'était pas fortement associée avec des variations des sous-classes de LDL. La testostérone, stimulateur de l'activité de la LH, diminue la densité des particules LDL.¹¹²

Le sexe peut également moduler l'impact de la PLTP sur les particules contenant de l'apoB, surtout les IDL et les particules LDL légères. La PLTP corrèle significativement avec les particules LDL légères chez les hommes avec un indice de masse corporel inférieur à 27.5 kg/m^2 .¹¹³

On observe une augmentation d'apoAI-HDL et de C-HDL lorsque les taux d'androgène plasmatiques diminuent.¹¹⁴ Sodr  et al.¹¹⁵ ont démontré que les femmes avaient des plus hauts niveaux de C-HDL₂, TG-HDL₂ et C-HDL₃ comparativement aux hommes. Par contre, leurs travaux n'ont pas permis d'observer de différences significatives de taux de TG-HDL₃ entre les deux sexes. Shepherd et al.¹⁸ ont observé que les hommes et les femmes avaient autant de HDL₃ mais que les femmes avaient des taux plus élevés de HDL₂. En 2005, Jia L. et al.¹¹⁶ ont démontré que les femmes avaient de plus grandes concentrations plasmatiques de C-HDL, d'apoAI, de HDL_{2a} et de HDL_{2b} ainsi que de plus faibles concentrations des plus petites sous-classes comparativement aux hommes.

Selon l'étude de Li et al.,¹⁰⁵ les femmes pr m nopauss es auraient des plus grandes concentrations de C-HDL, du LpAI, des particules HDL plus grosses et un plus haut taux HDL₂/HDL₃ que les femmes postm nopauss es et que les hommes. Il a été démontré que le taux de production d'apoAI était supérieur chez les femmes que chez les hommes.^{105,117}

3.3.3 Ob sitt 

L'ob sitt  abdominale est associée à une augmentation de sécrétion hépatique d'acides gras et à une élévation de la synthèse et de la sécrétion hépatique des VLDL. L'activité lipolytique du tissu adipeux viscéral est élevée. Les acides gras originaires du tissu adipeux viscéral sont lâchés dans la circulation porte, résultant en un flux augmenté d'acides gras au foie qui peuvent servir de substrat ou jouer un rôle régulateur dans la production de VLDL.¹¹⁸ Les niveaux augmentés de VLDL causés par à une augmentation de leur production et une diminution du catabolisme des lipoprotéines riches en TG (  cause de la réduction de l'activité de la LPL) causent une augmentation des échanges facilités par la CETP.¹¹⁹ Les HDL riche en TG sont un meilleur substrat pour la LH.

Les patients hypertriglycéridémiques ont, en plus grande proportion des VLDL₁, premier précurseur des petites particules LDL. Les plus petites particules VLDL₂ sont les précurseurs des plus grosses particules LDL. Les particules LDL petites et denses ont un temps séjour dans le plasma prolongé.⁶ Chez les hommes normaux, l'efficacité de l'élimination des VLDL est le régulateur le plus important des taux de VLDL, facteur majeur dans le contrôle de la formation de particules LDL petites et denses.¹²⁰

L'adiposité et la résistance à l'insuline contrôlent le métabolisme des lipoprotéines contenant de l'apoB. La production hépatique de VLDL est stimulée par l'augmentation du flux des acides gras nonestérifiés au foie (augmenté par une adiposité excessive).^{121,122}

Le tour de taille, l'hypertriglycéridémie, les faibles taux de C-HDL, les HDL de petites taille, l'hyperinsulinémie et la faible activité du PLTP sont directement associés à une augmentation du catabolisme du LpAI et du LpAI :AII. Une augmentation de la clairance des LpAI est liée à une augmentation du tour de taille et de la résistance à l'insuline ainsi qu'à une diminution de l'activité de la PLTP.¹²³

Le phénotype des LDL petites et denses est fortement associé avec la dyslipidémie (haut TG, C-HDL bas) souvent liée à l'obésité viscérale et à l'hyperinsulinémie. Après ajustements pour les TG et les niveaux de C-HDL, l'obésité viscérale et l'hyperinsulinémie ne sont pas des prédicteurs indépendants d'une augmentation de la production de particules LDL petites et denses.¹²⁴

Les particules HDL petites et denses semblent être une autre caractéristique de cette dyslipidémie retrouvée chez les sujets hyperinsulinémiques souffrant d'obésité viscérale.¹⁷ Des concentrations plasmatiques élevées de TG et de faibles niveaux plasmatiques de C-HDL et d'HDL₂ sont associés à l'obésité abdominale.¹²⁵⁻¹²⁷ Il a été démontré que les sujets obèses avec un haut niveau de tissu adipeux abdominal avaient des concentrations inférieures de C-HDL et de HDL₂ comparativement à des sujets obèses avec peu de tissu adipeux abdominal.¹¹⁸

3.3.4 Variations génétiques

Le génotype LIPC encode la LH et le polymorphisme C-514T dans le gène de la LH ou le déficit en LH cause une augmentation de l'activité de la LH diminuant ainsi les concentrations d' HDL₂.^{128,129} Le génotype CETP Taq1q associé à la masse de la CETP est inversement lié à la taille des HDL.^{75,95,129}

Les travaux de Ruel et al.⁷⁶ suggèrent que les sujets portant une mutation dans le gène LPL ont des particules HDL plus petites que des sujets contrôles. La mutation nulle P207L dans le gène de la LPL est associée à une diminution significative de la taille des particules HDL comparativement à la mutation déficiente D9N chez les hommes mais pas chez les femmes.

Cette mutation est également associée à une plus grande diminution de la taille des particules LDL que la mutation déficiente D9N indépendamment des niveaux de TG.¹³⁰ Les sujets portant une mutation du gène LPL avec un tour de taille et un indice de masse corporel ont davantage tendance à avoir de plus petites particules LDL.¹³¹

Des mutations dans le gène du récepteur LDL causent l'hypercholestérolémie familiale, un désordre autosomique codominant sur gène unique.¹³² Cette maladie est associée à de plus petites particules LDL et HDL.^{75,133}

Plusieurs études montrent de fortes corrélations entre les niveaux de TG et le phénotype de la taille des LDL. Les niveaux de TG expliquent jusqu'à 62% de la variance du phénotype de la taille des LDL.^{20,49,124,134}

Certains éléments du métabolisme des lipoprotéines comme l'activité de la LH ou de la LPL contribuent à la formation de particules LDL et HDL petites et denses.¹²⁹ Rainwater et al.¹³⁵ ont démontré que 45% de la variance de la taille des particules LDL était expliquée par la somme des effets génétiques mais ils suggèrent la possibilité que l'association génétique entre la taille des particules LDL et HDL serait due à des effets génétiques facilités par les TG.

Il a récemment été suggéré que la présence d'un gène majeur influençant le LDL-PPD et une association positive avec un gène candidat de position localisé sur le chromosome 17q.¹³⁶ Demant et al.¹³⁷ ont démontré que le phénotype de l'apoE influençait la conversion des IDL aux LDL. Dans une étude récente, des analyses de régressions multiples ont démontré que les TG plasmatiques et que les niveaux de la phospholipase sécrétée inflammatoire (sPLA2) expliquaient 22.7 et 11.8% de la variance du LDL-PPD.¹³⁸

3.3.5 Diète et exercice

Peu d'études ont examiné les relations entre les facteurs alimentaires avec la taille des particules LDL, encore moins avec la taille des particules HDL.

Une étude de revue a démontré que les diètes faibles en gras, associées avec une augmentation de la consommation de glucides, était liées avec des diminutions de la taille des particules LDL.⁴³ La diète et l'exercice physique améliorent la taille des particules LDL et HDL de sujets non diabétiques, résistants à l'insuline. Cette amélioration corrèle avec l'amélioration de la sensibilité à l'insuline.¹³⁹

Il a été démontré que la consommation d'alcool ferait augmenter les concentrations d'HDL₂, de HDL₃ et qu'apoAI.^{140,141} Les variations génétiques des promoteurs du gène de l'apoAI sont associées avec des concentrations de C-HDL et aux variations des taux de C-HDL suite à des changements diététiques tel qu'une augmentation de l'apport en acides gras polyinsaturés et sont associés à une redistribution des sous-classes de HDL suite à un entraînement physique.^{142,143}

Il est maintenant connu que l'exercice physique a des effets sur le métabolisme des lipides et que le transport plasmatique des lipoprotéines.¹⁴⁴

L'entraînement physique a d'importants effets sur les concentrations des sous-classes de LDL. En 2002, Kraus et al.¹⁴⁵ ont démontré que l'entraînement intense diminuait les concentrations de C-LDL et de petites particules LDL et augmentait la taille moyenne des particules LDL.

La perte de poids engendrée par l'exercice est liée à une augmentation du C-HDL, du HDL₂, à une diminution du C-LDL et de l'apoB ainsi qu'à une hausse de la sensibilité à l'insuline.¹⁴⁶ L'activité de la LPL des tissus adipeux est augmentée durant la perte de poids suite à la restriction calorique.¹⁴⁷ Nikkilä et al.¹⁴⁸ ont rapporté une corrélation positive et significative entre l'activité de la LPL et les niveaux de C-HDL et de HDL₂. L'activité de la LH baisse suite à l'exercice physique.¹⁴⁹ Contrairement à la LH, la LCAT semble être stimulée lors d'exercice physique. Une activité augmentée de la LCAT mène à une augmentation du cholestérol estérifié dans la fraction HDL donc par le fait même, mène à une augmentation des taux de C-HDL et de HDL₂.¹⁵⁰ Une étude récente a démontré que les sujets normolipédémiques pouvaient augmenter leur taille moyenne de LDL et augmenter les concentrations de HDL₂ avec un entraînement aérobique.¹⁵¹

3.4 Ratios et paramètres pouvant prédire cliniquement la taille des particules LDL et HDL

La taille des particules LDL et HDL apporte des informations supplémentaires quant au risque de MCV chez les individus. Les particules LDL et HDL petites et denses sont associées à un risque cardiovasculaire plus élevé. La mesure des particules LDL par PAGGE est une longue tâche. Cliniquement, il est impensable de mesurer la taille des particules LDL et HDL de chaque patient. Plusieurs auteurs ont proposés différents paramètres et ratios pour nous aider à estimer la taille des particules LDL et HDL.

Une étude récente a suggéré que le ratio apoB/apoAI pouvait estimer la présence de particules LDL petites et denses.²³

Plusieurs groupes ont étudié les relations entre le ratio TG/C-HDL et la taille des particules LDL. Certains auteurs ont déterminé que le ratio TG/C-HDL est le meilleur prédicteur de la présence du phénotype B de la taille des LDL²³ et que ce ratio est fiable pour identifier le phénotype B chez l'homme et la femme.¹⁵² Le ratio TG/C-HDL est inversement corrélé avec la taille des particules LDL et peut prédire le phénotype B.¹⁵³ D'autres auteurs disent que ce ratio est bénéfique pour déterminer la présence de LDL de petites tailles.²⁴ Le ratio $\log(\text{TG/C-HDL})$ corrèle avec la taille des particules LDL mesurée

directement par PAGGE.¹⁵⁴ Boizel et al. ont démontré que la relation entre le ratio TG/C-HDL et la taille des particules LDL est forte.¹⁵⁵

Yoshida et al. ont démontré que les ratios TC/TG et C-LDL/TG sont des outils simples pour prédire la présence de LDL petites et denses et que le ratio TC/TG est un indicateur des particules LDL petites et denses facile à utiliser.³¹

Hattori et al. ont déterminé que l'estimation de l'apoB-LDL est utile pour le diagnostic de l'hyperapobetalipoprotéinémie et pour détecter la présence de LDL petites et denses et que des faibles ratios de C-LDL/apoB-LDL reflète la prépondérance de LDL petites et denses.¹⁵⁶ Par ailleurs, Furuya et al.¹⁵⁷ ont conclu que nous ne devrions pas estimer la taille des particules rapidement avec le ratio C-LDL/apoB-LDL. Furuya et al. ont démontré une faible corrélation négative entre le ratio C-LDL/apoB-LDL et la taille des particules LDL chez des sujets en santé et ont démontré une faible corrélation positive entre ce même ratio et des sujets hyperlipidémiques.¹⁵⁸

Wagner et al. ont démontré que les concentrations de TG étaient le meilleur prédicteur de la taille des particules LDL chez des sujets diabétiques de type 2 et que le ratio C-LDL/apoB était le meilleur outil pour détecter le phénotype B.³⁰

Peu d'études ont proposé des outils pour prédire la taille ou les sous-classes de particules HDL. Tian et al.²¹ ont démontré que les niveaux d'apoAI étaient positivement et significativement corrélés avec toutes les sous-classes de HDL et que les concentrations d'apoAI étaient le prédicteur le plus puissant de la distribution de sous-classes de particules HDL. Une autre étude a conclu qu'ensemble, les ratios TC/C-HDL et TG/C-HDL peuvent être des bons indicateurs de la distribution de sous-classes des particules HDL.²²

Chapitre 4 : Hypothèses et objectifs

4.1 Hypothèses

Le sexe, l'âge, les taux de cholestérol LDL et HDL, le taux de TG plasmatique, les taux d'apoB et d'apoAI sont tous des facteurs influençant significativement la taille des particules LDL et HDL. Plus les particules LDL et HDL sont grosses, plus leurs contenus respectifs en LDL ou en HDL augmente comparativement à leur contenu en LDLapoB ou en HDLapoAI. Finalement, de tous les paramètres étudiés, les taux de TG sont les meilleurs pour prédire la taille des particules LDL et HDL.

4.2 Objectifs

Identifier les déterminants la taille des particules LDL.

Étudier les relations entre les propriétés électrophorétiques et la composition des particules LDL.

Vérifier la validité de différents paramètres tels que l'apoAI, les ratios TG/HDL-C, TC/HDL-C, LDL-C/LDLapoB, LDL-C/apoBtotal, TC/TG, LDL-C/TG et apoB/apoAI dans l'estimation de la taille des particules LDL chez un grand groupe de sujets ayant un grand éventail de niveau de TG.

Chapitre 5 : L'utilité clinique de différentes mesures lipidiques pour prédire la taille des particules LDL chez les hommes et les femmes

L'article de ce chapitre est intitulé: "Clinical utility of different lipid measures for prediction of LDL particle size in men and women"

(Cet article sera soumis pour publication sous peu)

Résumé

Les particules LDL petites et denses sont associées à un risque augmenté de maladie cardiovasculaire. Malgré les fortes corrélations négatives entre les taux de TG et la taille des particules LDL, les valeurs prédictives de différents ratios et paramètres de lipides et d'apolipoprotéines sont partiellement caractérisées. Les objectifs sont d'identifier les déterminants de la taille des particules LDL et d'évaluer les potentiels prédictifs de différents ratios et paramètres dans l'estimation de cette taille. Les tailles des particules LDL de 1956 sujets ont été mesurées par électrophorèse sur gradient de gel de polyacrylamide (PAGGE). Les particules LDL des hommes sont plus petites que celle des femmes. Le ratio C-LDL/apoB LDL est le déterminant majeur de la variabilité de la taille des particules LDL. Tous les ratios étudiés sont de mauvais prédicteurs. Le meilleur moyen de savoir les tailles des particules LDL afin de prédire le risque cardiovasculaire demeure les mesures sur PAGGE.

Abstract

Small, dense LDL are associated with an increased risk of cardiovascular disease (CVD). Despite the strong negative correlation between plasma triglyceride levels and LDL particle size, the predictive value of various lipid/apolipoprotein ratios to estimate LDL size has not been fully characterized. Therefore, the objectives of the present study were to identify the determinants of LDL particle size and to evaluate the predictive potentials of different lipid/apolipoproteins ratios to estimate LDL particle size. LDL particle size was measured on 1956 subjects by electrophoresis on polyacrilamide gradient. The results show that men have smaller and denser LDL particle than women. Multiple linear-regression analysis showed that LDL-C/LDLapoB was the most important variable of LDL particle size. All ratios studied are comparable but weak to predict LDL-PPD. LDL-C/LDLapoB is the major determinant of the variability of LDL particle size. However, all lipids/lipoprotein ratios studied are weak predictor of LDL particle size.

2 **Clinical utility of different lipid measures for prediction of LDL particle size in**
3 **men and women**

4 Geneviève Dumont¹, Jean-Charles Hogue¹, Benoît Lamarche², Claude Gagné¹, Jean
5 Bergeron¹, Patrick Couture¹

6

7

8 ¹Lipid Research Center, CHUL Research Center and Laval University, Québec, Canada

9 ²Institute on Nutraceuticals and Functional Foods, Laval University, Québec, Canada

10

11

12

13

14

15 To whom correspondence should be addressed:

16 **Patrick Couture, MD, FRCP(C), PhD**
17 **Lipid Research Center (S-102)**
18 **CHUL Research Center and Laval University**
19 **Québec, Canada, G1V 4G2**
20 **Phone: (418) 654-2106**
21 **Fax: (418) 654-2277**
22 **E-Mail: patrick.couture@crchul.ulaval.ca**

23

24

25 Dumont: HDL size and composition

26 Word count of body (including references): 4446

27 Word count of abstract: 250

28 Number of figure and tables: 6

29

30 **Abstract**

31 Several lines of evidence indicate that small, dense LDL are associated with an increased
32 risk of cardiovascular disease (CVD). Despite the strong negative correlation between
33 plasma triglyceride levels and LDL particle size, the predictive value of various lipid and
34 apolipoprotein ratios to estimate LDL size has not been fully characterized. Therefore, the
35 objectives of the present study were to identify the determinants of LDL particle size in a
36 large group of subjects with a wide range of plasma triglyceride levels and to evaluate the
37 predictive potentials of different lipid and apolipoproteins ratios to estimate LDL particle
38 size. LDL-PPD was measured on 1956 subjects by electrophoresis on polyacrilamide
39 gradient. Bivariate, multiple linear regression, concordance/discordance and kappa analyses
40 were done. LDL-PPD is a quantitative trait reflecting the size of the major LDL subclass.
41 The results show that men have smaller and denser LDL-PPD than women. Plasma
42 concentrations of both LDL-C and LDLapoB are correlated positively with LDL-PPD. As
43 compared with individuals in the smaller LDL-PPD, subjects in the larger LDL-PPD
44 quintile had a 2.2-fold greater increase of LDL-C than LDLapoB (37.8% vs 14.0%).
45 Multiple linear-regression analysis showed that LDL-C/LDLapoB was the most important
46 variable of LDL-PPD (35.3%). We observed that LDL-C/LDLapoB, TC/TG, LDL-C/TG
47 and LDL-C/apoBtotal are comparable but weak predictor of LDL-PPD. **Conclusions:**
48 These results indicate that LDL-C and LDLapoB concentrations do not modulate LDL-PPD
49 in the same extent and that LDL-C/LDLapoB is the major determinant of the variability of
50 LDL-PPD. However, all lipids/lipoprotein ratios studied are weak predictor of LDL-PPD.

51

52 **Key Words:** Apolipoprotein, LDL-cholesterol, triglyceride, LDL particle size, LDL-PPD

53 **Introduction**

54 Low density lipoproteins (LDL) particles are heterogeneous in density, size, lipid
55 composition, electrical charge, and pathogenic properties¹. Various prospective, nested,
56 case-control studies have shown that small, dense LDL particles are associated with an
57 increased cardiovascular (CVD) risk.²⁻⁴ Interventions trials in human have shown the
58 same.^{5,6} A meta-analysis demonstrated that a 10 Å decrease in the LDL peak particle
59 density (LDL-PPD) was associated with a 60 % increase in CVD risk.⁷ Small dense LDL
60 might be more atherogenic than normal size LDL because they have a decreased affinity to
61 LDL receptor,⁸ a greater affinity to proteoglycans^{9,10} and are more susceptible to oxidation,
62 a factor of significance in atherosclerosis.¹¹ A more important exposure of proteoglycan-
63 binding regions is due to the phospholipids-depleted surface monolayer of small dense
64 LDL compared with larger ones that leads to a change in the conformation of
65 apolipoprotein (apo) B-100.¹² LDL-PPD is a quantitative trait reflecting the size of the
66 major LDL subclass.

67 Rainwater demonstrated that there were no huge difference in chemical composition
68 for samples with large LDL and small LDL but found that there is a higher proportion of
69 apoB in small LDL sample and a corresponding reduction of phospholipids and
70 unesterified cholesterol.¹³ Several studies have shown strong correlations between TG and
71 LDL size phenotype, explaining as much as 62% of variation.¹³⁻¹⁵

72 Measurement of cholesterol levels are the primary biochemical target for optimal
73 management of CVD risk but it is now well known that the cholesterol concentration of
74 LDL reveals only one particularity of the particle.¹⁶ Measurement of LDL particle size is a
75 cumbersome task and clinically, it is impossible to test each patient. Various authors have
76 proposed the use of different ratios, such as TG/HDL-C,¹⁷⁻²² LDL-C/LDLapoB,²³ LDL-
77 C/apoBtotal,²⁴ TC/TG,²⁵ LDL-C/TG²⁵ or apoB/apoAI¹⁸ as clinical tool for predicting
78 small dense LDL or pattern B LDL phenotype.

79 The objective of the present study was to examine the relationship between the
80 electrophoretic properties and the composition of LDL particles and to identify the
81 determinants of LDL-PPD in a large group of subjects with a wide range of plasma TG
82 levels. We also wanted to validate the reliability of different ratios to estimate LDL-PPD.

83

84 **Material and methods**

85 **Participants**

86 Data from 1956 patients seen in consultation between 1995 and 2005 at the Lipid
87 Research Center Clinic in Québec City were included in this study. Patients ranged in age
88 from 2 years to 87 years. Blood samples were obtained lipid drug free and in the fasting
89 state.

90 **Characterization of plasma lipids and lipoproteins**

91 Venous blood samples were obtained from an antecubital vein into Vacutainer tubes
92 containing K₃EDTA (1 mg/ml, final concentration). Plasma was separated from blood cells
93 by centrifugation at 3000 rpm for 10 min at 4°C. Plasma VLDL fraction was isolated by
94 ultracentrifugation using a 50.3 rotor (Beckman Instruments Inc, Palo Alto, CA) at a
95 density of 1.006 g/ml, as described by Havel *et al.*²⁶ The top fraction containing VLDL was
96 recovered by tube slicing. Heparin and manganese chloride were added to the infranatant
97 (density of more than 1.006 g/ml and containing both LDL and HDL) to precipitate apoB-
98 containing LDL, leaving the HDL in solution. The concentration of LDL was obtained by
99 differences from the values of cholesterol in the infranatant, measured before and after the
100 precipitation step. The cholesterol and TG in plasma and lipoprotein fractions were
101 quantified on an AutoAnalyzer RA-500 (Technicon Instruments Corporation, Tarrytown,
102 NY). The mean recovery of cholesterol in the lipoprotein fractions averaged 95% and
103 ranged from 92% to 102%. The coefficients of variation of cholesterol and TG
104 determinations were below 2%, as previously reported.²⁷ HDLapoAI levels were measured
105 by nephelometry (Dade Behring).

106

107 **LDL particle size characterization**

108 Nondenaturing 2–16% PAGE was performed as described previously²⁸. LDL
109 particle size was determined on 8 cm × 8 cm polyacrylamide gradient gels prepared in
110 batches in our laboratory. Aliquots of 3.5 µL of whole plasma samples were mixed in a 1:1
111 volume ratio with a sample buffer containing 20% sucrose and 0.25% bromophenol blue
112 and loaded onto the gels. A 15 min pre-run at 75 V preceded electrophoresis of the plasma
113 samples at 150 V for 3 h. Gels were stained for 1 h with Sudan black (0.07%) and stored in

114 a 0.81% acetic acid/4% methanol solution until analysis by the Imagemaster 1-D Prime
115 computer software (Amersham Pharmacia Biotech). LDL size was extrapolated from the
116 relative migration of four plasma standards of known diameter. The estimated diameter for
117 the major peak in each scan was identified as the LDL-PPD. An integrated (or mean) LDL
118 diameter was also computed by using a modification of the approach described
119 previously.²⁸ This integrated LDL particle size corresponds to the weighted mean size of all
120 LDL subclasses in each individual. It was calculated as a continuous variable and was
121 computed as the sum of the diameter of each LDL subclass multiplied by its relative area.
122 Analysis of pooled plasma standards revealed that measurement of LDL-PPD was highly
123 reproducible, with an interassay coefficient of variation of <2%.

124

125 **Statistical Analysis**

126 Plasma TG levels were log-transformed to normalize their distribution. Pearson
127 correlation coefficients, concordance and kappa analysis were determined to assess the
128 significance of associations of LDL particle size and other parameters. Stepwise multiple
129 linear regression analysis was used to interpret the relationship of these associations. All
130 analyzes were performed using JMP Statistical Software (version 7.0, SAS Institute, Cary,
131 NC).

132

133 RESULTS

134 Participants

135 Table 1 shows data from 1956 participants (63.1% men, 36.9% women) with a
136 mean age of 39.7 ± 18.1 years and body mass index (BMI) of 26.3 ± 5.6 kg/m². The
137 percentage of non-smokers subjects was 80.1%. Table 1 shows the distribution of lipid-
138 lipoprotein profile of the participants. The mean plasma cholesterol was 6.22 ± 1.81 and the
139 mean TG was 3.01 ± 4.71 mmol/L. The mean plasma HDL-C, LDL-C, apoB, and
140 HDLapoAI concentrations were 1.05 ± 0.34 and 3.91 ± 1.62 mmol/L as well as 1.26 ± 0.34
141 and 1.20 ± 0.23 g/L, respectively. Moreover, participants had plasma-C/HDL-C ratio and
142 plasma apoB/HDLapoAI ratio of 6.62 ± 3.84 and 1.08 ± 0.37 , respectively. The mean
143 integrated LDL size was 253.7 ± 4.4 Å, and the mean LDL-PPD was 253.5 ± 4.6 Å.

144 Lipid-lipoprotein profile according to the LDL-PPD quintiles

145 Table 2 shows the distribution of plasma lipoproteins and apolipoproteins as well as
146 various lipid and apolipoprotein ratios according to the LDL-PPD quintiles. The results
147 show that larger LDL-PPD were associated with higher plasma-C, LDL-C, HDL-C,
148 LDLapoB, HDLapoAI concentrations as well as with lower waist girth, VLDL-C, TG,
149 VLDL-TG, LDL-TG, HDL-TG and VLDLapoB concentrations. Moreover, the ratio
150 plasma-C/HDL-C, apoB/HDLapoAI and TG/HDL-C ratios were inversely correlated with
151 LDL-PPD whereas LDL-C/LDLapoB, TC/TG, LDL-C/TG and LDL-C/apoBtotal were
152 positively associated with LDL-PPD levels. We then investigated the percentage of
153 difference in the lipoprotein levels between the smaller and the higher LDL-PPD quintiles
154 (Figure 1). We found that individuals with large LDL-PPD exhibited low levels of VLDL-
155 C (-298.0%) TG (-391.9%), VLDL-TG (-374.0%), LDL-TG (-14.0%), HDL-TG (-59.0%),
156 VLDLapoB (-133.3%), plasma-C/HDL-C (-50.9%), apoB/HDLapoAI ratio (-6.7%) and
157 TG/HDL-C (-791.3%) as compared with individuals with low LDL-PPD. It is interesting to
158 note that, as compared with individuals in the smaller LDL-PPD quintile, subjects in the
159 larger LDL-PPD quintile had a 2.2-fold greater increase in LDL-C (39.9%) than in
160 LDLapoB (18.1%). Individuals with high LDL-PPD were also characterized by higher
161 HDL-C (37.8%), LDL-C/LDLapoB (28.4%), TC/TG (67.5%), LDL-C/TG (79.7%) and
162 LDL-C/apoBtotal (38.4%) as compared to individuals with small LDL-PPD.

163

164 Univariate correlations between independent variables and LDL-PPD

165 As shown in Table 3, negative correlations were found between LDL-PPD and age
166 (r: -0.23, $P<0.0001$), BMI (r: -0.30, $P<0.0001$), waist girth (r: -0.30, $P<0.0001$), VLDL-C (r:
167 -0.59, $P<0.0001$), TG (r: -0.63, $P<0.0001$), VLDL-TG (r: -0.61, $P<0.0001$), VLDLapoB (r:
168 -0.50, $P<0.0001$), apoB/apoAI (r: -0.13, $P<0.0001$), TG/HDL-C (r: -0.66, $P<0.0001$), and
169 non-HDL-C (r: -0.07, $P=0.0029$) and we observed positive correlations between LDL-PPD
170 and plasma-C (r: 0.05, $P=0.0281$), LDL-C (r: 0.39, $P<0.0001$), HDL-C (r: 0.52, $P<0.0001$),
171 LDLapoB (r: 0.18, $P=0.0001$), HDLapoAI (r: 0.27, $P<0.0001$), TC/TG (r: 0.65, $P<0.001$),
172 LDL-C/LDLapoB (r: 0.60, $P<0.001$), LDL-C/TG (r: 0.64, $p<0.001$) and LDL-C/apoBtotal (r:
173 0.64, $P<0.001$). There was no relation between apoB and LDL-PPD (r: 0.01, $P=0.8169$). As
174 shown in Table 4, multiple linear regression analyses were performed to assess the
175 independent contribution of different metabolic and anthropometric variables to the
176 variance of LDL-PPD. LDL-C/ApoB, gender, age and TG were included in the model.
177 LDL-C/LDLapoB ratio, gender and age represented 35.3%, 3.4% and 2.8% of the variance
178 of the LDL-PPD, whereas plasma TG levels contributed for 1.5% to the variance of LDL-
179 PPD.

180

181 Concordance/discordance analysis

182 The concordance/discordance analysis of LDL-PPD and various
183 lipid/apolipoprotein ratios are shown in table 5. Overall, across the range of LDL-PPD and
184 LDL-C/LDLapoB quintiles, just about one third of the values (35.8%) were concordant,
185 whereas about two thirds were not. Moreover, concordance/discordance was not evenly
186 distributed across the LDL-PPD and LDL-C/LDLapoB spectrum (data not shown). At the
187 first and fifth quintiles for either variable (i.e., the extremes) concordance was $>43.7\%$. The
188 degree of concordance for the middle of the distribution of LDL-PPD and LDL-
189 C/LDLapoB values was much less. Thus, these 2 variables were fully concordant in only $\frac{1}{4}$
190 of the subjects belonging to the middle quintile of each parameter.

191 Table 5 also shows the concordance/discordance analysis of LDL-PPD and
192 ApoB/apoAI. Less than one fifth of the values (18%) were concordant. The degrees of
193 concordance of LDL-PPD and TC/TG, LDL-C/TG, LDL-C/apoBtotal and 1/TG were all

194 about the same (between 38.5 and 39.0 of the values were concordant). The
195 concordance/discordance analysis of LDL-PPD and TG/HDL shows a low degree of
196 concordance (11%) but when taking the inverse of the ratio i.e HDL/TG we obtain the best
197 percentage off all ratios (40.5%).

198

199 **Kappa statistics**

200 Table 5 also presents the kappa statistics among the various atherogenic indexes.
201 For TC/TG, LD-LC/TG, HDL-C/TG and LDL-C/apoBtotal the agreements are fair. For
202 apoB/apoAI and TG/HDL the kappa values are negative showing disagreements between
203 LDL-PPD and ratios. The agreement for the ratio LDL-C/LDLapoB was slight.

204 **Discussion**

205 The present study was designed to examine the concordance between different lipid
206 and apolipoprotein ratios and LDL-PPD in a large group of subjects with a wide range of
207 plasma TG levels attending a lipid clinic. We also wanted to identify the determinants of
208 LDL-PPD and to evaluate the predictive potentials of different lipid and apoprotein ratios
209 to estimate LDL particle size. Relations between LDL-C/LDLapoB, TC/TG and LCL-
210 C/TG, TG/HDL-C, LDL-C/apoBtotal, TG and LDL-PPD were weak. There was no
211 relation between apoB and LDL-PPD as between non-HDL-C/apoB and LDL-PPD. As
212 expected, we found that men have smaller LDL-PPD than women. The plasma
213 concentrations of both LDL-C and LDLapoB were reduced progressively as LDL-PPD
214 decreased. We noted a more important reduction in LDL-C than in LDLapoB. We noted
215 important increase of TG, VLDL-TG and VLDL-C with a decrease of LDL-PPD. In men
216 and women taken together and in women, apoB had a more important contribution in the
217 variance of LDL-PPD in a model including apoB, LDL-C, TG, gender, age, plasma-C and
218 BMI.

219 Small, dense LDL phenotype is strongly correlated with the high TG-low HDL-C
220 dyslipidemia frequently associated with visceral obesity and hyperinsulinemic state. After
221 controlling for TG and HDL-C levels, visceral obesity and hyperinsulinemia are not
222 independent predictors of an increased proportion of small dense LDL particles.¹⁵
223 Abdominal obesity may be an important cause of insulin resistance as a result of excess
224 lipolysis of portally drained visceral adipose tissue, causing a higher flux of free fatty acids
225 to the liver and an overproduction of hepatic TG-rich lipoproteins.²⁹ The transfer of TG to
226 LDL and HDL through the action of the cholesteryl ester transfer protein (CETP) is
227 promoted by the resulting hypertriglyceridemia. TG-enriched LDL may thus be exposed to
228 increased lipolysis by hepatic lipase (HL), resulting in the formation of small, dense LDL
229 particles.³⁰ We do not have data about insulinemia but our results show that there are
230 univariate relations between the other component of metabolic syndrome, i.e. TG, waist
231 girth and plasma HDL-C concentrations.

232 It is well documented that women are characterized by larger, less dense LDL
233 particle than men.^{14,31,32} This difference cannot be all explained by the higher visceral
234 adipose tissue accumulation of men or by their increased pl-TG levels.³² Li et al.³³

235 suggested that sex hormones affect lipoprotein subspecies. They found that women have
236 significantly higher values of Lp A-I, larger LDL, and lower values of TG, apoB, and Lp
237 B:C-III particles than men, with no difference in Lp A-I:A-II. A study showed that women
238 have decreased levels of HL and his activity is lowered with estrogen administration in
239 women.^{34,35} Testosterone may be a stimulator of HL activity and thereby testosterone
240 decreases LDL particle density.³⁶ Gender and obesity-related factors can modulate the
241 impact of phospholipid transfer protein (PLTP) on apoB-containing lipoproteins,
242 particularly IDL and buoyant LDL. PLTP is significantly correlated with buoyant LDL in
243 men with BMI <27.5 kg/m.³⁷

244 A study showed that chemical composition for samples with large LDL and small
245 LDL are similar but small LDL samples tented to have a higher proportion of apoB than
246 large LDL samples, and a corresponding reduction of phospholipids and unesterified
247 cholesterol.¹³ As LDL size decreased, the ratio of surface cholesterol to phospholipid
248 decreased, and the fraction of surface area covered by lipid decreased too. The estimated
249 core surface area requiring coverage by apoB increased with decreasing particle size.¹²
250 Smaller and denser LDL contain significantly less free cholesterol, phospholipids, and CE
251 per particle than larger and less dense LDL. There is no difference in the amount of LDL-
252 TG per particle between large and small LDL particle.³⁸

253 In the present study, almost half (42.0%) of the variance of LDL-PPD for men and
254 women taken together is explained by LDL-C/apoBLDL, gender, age and TG. Genetic,
255 constitutional and environmental factors may also affect LDL size. Various studies showed
256 strong correlations between TG and LDL size phenotype, explaining as much as 62% of
257 variation.¹³⁻¹⁵ Some constituents of lipoprotein metabolism like lipoprotein lipase (LPL) or
258 HL activity contribute to the formation of small, dense LDL particles.³⁹ In a recent study,
259 multiple regression analyses showed that TG and secretary group IIA phospholipase A₂
260 levels explained 22.7 and 11.8% of the variance in LDL-PPD, respectively.⁴⁰ Ruel and al
261 have shown that the presence mutations in the LPL gene were associated with a diminution
262 LDL particle size.^{41,42} Mutations in the LDL receptor gene cause familial
263 hypercholesterolemia, caused by mutations in the LDL receptor gene, is associated with
264 smaller LDL size.⁴³

265 Few studies examined the relationship between dietary factors and LDL size. Diet
266 and exercise may also have positive effects on LDL size in non-diabetic, insulin resistant
267 adults.⁴⁴ Exercise training has positive effects on the concentrations of LDL subfractions.⁴⁵
268 A review showed that low fat diets, associated with an increased consumption of dietary
269 carbohydrates, have been associated with reductions in LDL size.⁴⁶

270 A recent study suggested that apoB/apoAI can estimate the presence of small and
271 dense LDL particles.¹⁸ Univariate correlations, concordance analysis and kappa analysis
272 have revealed that apoB/apoAI among those studied is the worst ratio for predicting LDL-
273 PPD. The three comparison's methods show similar results regarding the relations between
274 those different ratios and LDL-PPD; all ratios seem to be weak predictor of LDL-PPD.

275 Many groups have studied relationships between TG/HDL-C and LDL size. Some
276 authors determined that TG/HDL-C is the best predictor of the presence of the pattern B
277 LDL phenotype¹⁸ and that the ratio TG/HDL-C was reliable for identifying LDL
278 phenotype B in men and women.²⁰ TG/HDL-C ratio correlated inversely with the LDL size
279 and positively with the particle concentration. A TG/HDL-C ratio can predict phenotype
280 B.¹⁷ Other authors said that TG/HDL-C ratio is beneficial for assessing the presence of
281 small LDL.¹⁹ Log(TG/HDL-C) correlated closely with LDL particle size measured directly
282 by GGE.²¹ Boizel et al.²² demonstrated that the relation between the TG/HDL-C and LDL
283 size is strong and that a cutoff point of 1.33 for the TG/HDL-C distinguishes between
284 patients having small LDL values better than TG cutoff of 1.70 and 1.45 mmol/l.

285 Yoshida et al.²⁵ showed that TC/TG and LDL-C/TG may offer a convenient and
286 simple clinical tool for predicting the presence of small dense LDL and that TC/TG could
287 be an easy-to-use indicator of small dense LDL.

288 Hattori et al. have determined that estimating LDLapoB is useful for the diagnosis
289 of hyperapobetalipoproteinemia and detection of small dense LDL and that lower ratios of
290 LDL-C/LDLapoB reflected preponderance of small dense LDL.²³ On the other hand,
291 Furuya et al.⁴⁷ concluded that LDL particle size determination should not be rapidly
292 estimated by the LDL-C/LDLapoB ratio. Furuya and al. showed a weak negative
293 correlation between LDL-C/LDLapoB and LDL particles size in healthy subjects and a
294 weak positive correlation in hyperlipemic subjects.²¹ Wagner et al. demonstrated that TG
295 concentration is the best predictor of LDL size in type 2 diabetes and that LDL-C/apoB

296 ratio is the best tool to detect phenotype B.²⁴ All those precedent studies suggested several
297 ratios for predicting LDL size. Inversely, our results from a large group of subjects with a
298 wide range of plasma triglyceride levels, did not allow us to suggest the use of any of those
299 ratios.

300 In conclusion, the results of the present study demonstrate that the plasma
301 concentrations of both LDL-C and LDLapoB were reduced progressively as LDL-PPD
302 decreased. The reduction is more important for LDL-C than for LDLapoB. ApoB had the
303 more important contribution in the variance of LDL-PPD in a model included LDL-C, TG,
304 gender, age, TC and BMI. We do not show any relation between apoB-pl and LDL-PPD.
305 LDL-C/LDLapoB, TC/TG and LDL-C/TG are weak predictor of LDL-PPD. The best tool
306 remains measurement of LDL-PPD by electrophoresis on polyacrylamide gradient.

307

308

References

309

310

311

312

1. Berneis KK, Krauss RM. Metabolic origins and clinical significance of LDL heterogeneity. *J Lipid Res* 2002;43:1363-1379.

313

314

315

2. 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;276:875-881.

316

317

318

3. Stampfer MJ, Sacks FM, Salvini S, Willett WC, Hennekens CH. A prospective study of cholesterol, apolipoproteins, and the risk of myocardial infarction. *N Engl J Med* 1991;325:373-381.

319

320

321

322

4. Lamarche B, Tchernof A, Moorjani S, Cantin B, Dagenais GR, Lupien PJ, Despres 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;95:69-75.

323

324

325

5. Miller BD, Alderman EL, Haskell WL, Fair JM, Krauss RM. Predominance of dense low-density lipoprotein particles predicts angiographic benefit of therapy in the Stanford Coronary Risk Intervention Project. *Circulation* 1996;94:2146-2153.

326

327

328

6. Zambon A, Hokanson JE, Brown BG, Brunzell JD. Evidence for a new pathophysiological mechanism for coronary artery disease regression: hepatic lipase-mediated changes in LDL density. *Circulation* 1999;99:1959-1964.

329

330

7. Austin MA. Triglyceride, small, dense low-density lipoprotein, and the atherogenic lipoprotein phenotype. *Curr Atheroscler Rep* 2000;2:200-207.

331

332

333

334

8. Flood C, Gustafsson M, Pitas RE, Arnaboldi L, Walzem RL, Boren J. Molecular mechanism for changes in proteoglycan binding on compositional changes of the core and the surface of low-density lipoprotein-containing human apolipoprotein B100. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2004;24:564-570.

- 335 9. Galeano NF, Al Haideri M, Keyserman F, Rumsey SC, Deckelbaum RJ. Small
336 dense low density lipoprotein has increased affinity for LDL receptor-independent
337 cell surface binding sites: a potential mechanism for increased atherogenicity. *J*
338 *Lipid Res* 1998;39:1263-1273.
- 339 10. La Belle M, Krauss RM. Differences in carbohydrate content of low density
340 lipoproteins associated with low density lipoprotein subclass patterns. *J Lipid Res*
341 1990;31:1577-1588.
- 342 11. Chait A, Brazg RL, Tribble DL, Krauss RM. Susceptibility of small, dense, low-
343 density lipoproteins to oxidative modification in subjects with the atherogenic
344 lipoprotein phenotype, pattern B. *Am J Med* 1993;94:350-356.
- 345 12. McNamara JR, Small DM, Li Z, Schaefer EJ. Differences in LDL subspecies
346 involve alterations in lipid composition and conformational changes in
347 apolipoprotein B. *J Lipid Res* 1996;37:1924-1935.
- 348 13. Rainwater DL. Lipoprotein correlates of LDL particle size. *Atherosclerosis*
349 2000;148:151-158.
- 350 14. McNamara JR, Campos H, Ordovas JM, Peterson J, Wilson PW, Schaefer EJ.
351 Effect of gender, age, and lipid status on low density lipoprotein subfraction
352 distribution. Results from the Framingham Offspring Study. *Arteriosclerosis*
353 1987;7:483-490.
- 354 15. Tchernof A, Lamarche B, Prud'homme D, Nadeau A, Moorjani S, Labrie F, Lupien
355 PJ, Despres JP. The dense LDL phenotype. Association with plasma lipoprotein
356 levels, visceral obesity, and hyperinsulinemia in men. *Diabetes Care* 1996;19:629-
357 637.
- 358 16. Lamarche B, Lemieux I, Despres JP. The small, dense LDL phenotype and the risk
359 of coronary heart disease: epidemiology, patho-physiology and therapeutic aspects.
360 *Diabetes Metab* 1999;25:199-211.

- 361 17. Bhalodkar NC, Blum S, Enas EA. Accuracy of the ratio of triglycerides to high-
362 density lipoprotein cholesterol for predicting low-density lipoprotein cholesterol
363 particle sizes, phenotype B, and particle concentrations among Asian Indians. *Am J*
364 *Cardiol* 2006;97:1007-1009.
- 365 18. Tsimihodimos V, Gazi I, Kostara C, Tselepis AD, Elisaf M. Plasma Lipoproteins
366 and Triacylglycerol are Predictors of Small, Dense LDL Particles. *Lipids*
367 2007;42:403-409.
- 368 19. Maruyama C, Imamura K, Teramoto T. Assessment of LDL particle size by
369 triglyceride/HDL-cholesterol ratio in non-diabetic, healthy subjects without
370 prominent hyperlipidemia. *J Atheroscler Thromb* 2003;10:186-191.
- 371 20. Hanak V, Munoz J, Teague J, Stanley A, Jr., Bittner V. Accuracy of the triglyceride
372 to high-density lipoprotein cholesterol ratio for prediction of the low-density
373 lipoprotein phenotype B. *Am J Cardiol* 2004;94:219-222.
- 374 21. Dobiasova M, Frohlich J. The plasma parameter log (TG/HDL-C) as an atherogenic
375 index: correlation with lipoprotein particle size and esterification rate in apoB-
376 lipoprotein-depleted plasma (FER(HDL)). *Clin Biochem* 2001;34:583-588.
- 377 22. Boizel R, Benhamou PY, Lardy B, Laporte F, Foulon T, Halimi S. Ratio of
378 triglycerides to HDL cholesterol is an indicator of LDL particle size in patients with
379 type 2 diabetes and normal HDL cholesterol levels. *Diabetes Care* 2000;23:1679-
380 1685.
- 381 23. Hattori Y, Suzuki M, Tsushima M, Yoshida M, Tokunaga Y, Wang Y, Zhao D,
382 Takeuchi M, Hara Y, Ryomoto KI, Ikebuchi M, Kishioka H, Mannami T, Baba S,
383 Harano Y. Development of approximate formula for LDL-chol, LDL-apo B and
384 LDL-chol/LDL-apo B as indices of hyperapobetalipoproteinemia and small dense
385 LDL. *Atherosclerosis* 1998;138:289-299.

- 386 24. Wagner AM, Jorba O, Rigla M, Alonso E, Ordonez-Llanos J, Perez A. LDL-
387 cholesterol/apolipoprotein B ratio is a good predictor of LDL phenotype B in type 2
388 diabetes. *Acta Diabetol* 2002;39:215-220.
- 389 25. Yoshida A, Kouwaki M, Matsutani Y, Fukuchi Y, Naito M. Usefulness of serum
390 total cholesterol/triglyceride ratio for predicting the presence of small, dense LDL. *J*
391 *Atheroscler Thromb* 2004;11:215-219.
- 392 26. Havel RJ. Citation Classic - the Distribution and Chemical-Composition of
393 Ultracentrifugally Separated Lipoproteins in Human-Serum. *Current Contents/Life*
394 *Sciences* 1983;23.
- 395 27. Albers JJ, Warnick GR, Wiebe D, King P, Steiner P, Smith L, Breckenridge C,
396 Chow A, Kuba K, Weidman S, Arnett H, Wood P, Shlagenhaft A. Multi-laboratory
397 comparison of three heparin-Mn²⁺ precipitation procedures for estimating
398 cholesterol in high-density lipoprotein. *Clin Chem* 1978;24:853-856.
- 399 28. St Pierre AC, Ruel IL, Cantin B, Dagenais GR, Bernard PM, Despres JP, Lamarche
400 B. Comparison of various electrophoretic characteristics of LDL particles and their
401 relationship to the risk of ischemic heart disease. *Circulation* 2001;104:2295-2299.
- 402 29. Despres JP. Abdominal obesity as important component of insulin-resistance
403 syndrome. *Nutrition* 1993;9:452-459.
- 404 30. Lagrost L, Gandjini H, Athias A, Guyard-Dangremont V, Lallemand C, Gambert P.
405 Influence of plasma cholesteryl ester transfer activity on the LDL and HDL
406 distribution profiles in normolipidemic subjects. *Arterioscler Thromb* 1993;13:815-
407 825.
- 408 31. Nikkila M, Pitkajarvi T, Koivula T, Solakivi T, Lehtimaki T, Laippala P, Jokela H,
409 Lehtomaki E, Seppa K, Sillanaukee P. Women have a larger and less atherogenic
410 low density lipoprotein particle size than men. *Atherosclerosis* 1996;119:181-190.

- 411 32. Lemieux I, Pascot A, Lamarche B, Prud'homme D, Nadeau A, Bergeron J, Despres
412 JP. Is the gender difference in LDL size explained by the metabolic complications
413 of visceral obesity? *Eur J Clin Invest* 2002;32:909-917.
- 414 33. Li Z, McNamara JR, Fruchart JC, Luc G, Bard JM, Ordovas JM, Wilson PW,
415 Schaefer EJ. Effects of gender and menopausal status on plasma lipoprotein
416 subspecies and particle sizes. *J Lipid Res* 1996;37:1886-1896.
- 417 34. Tikkanen MJ, Nikkila EA, Vartiainen E. Natural oestrogen as an effective treatment
418 for type-II hyperlipoproteinaemia in postmenopausal women. *Lancet* 1978;2:490-
419 491.
- 420 35. Granfone A, Campos H, McNamara JR, Schaefer MM, Lamon-Fava S, Ordovas
421 JM, Schaefer EJ. Effects of estrogen replacement on plasma lipoproteins and
422 apolipoproteins in postmenopausal, dyslipidemic women. *Metabolism*
423 1992;41:1193-1198.
- 424 36. Herbst KL, Amory JK, Brunzell JD, Chansky HA, Bremner WJ. Testosterone
425 administration to men increases hepatic lipase activity and decreases HDL and LDL
426 size in 3 wk. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2003;284:E1112-E1118.
- 427 37. Cheung MC, Knopp RH, Retzlaff B, Kennedy H, Wolfbauer G, Albers JJ.
428 Association of plasma phospholipid transfer protein activity with IDL and buoyant
429 LDL: impact of gender and adiposity. *Biochim Biophys Acta* 2002;1587:53-59.
- 430 38. Capell WH, Zambon A, Austin MA, Brunzell JD, Hokanson JE. Compositional
431 differences of LDL particles in normal subjects with LDL subclass phenotype A
432 and LDL subclass phenotype B. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1996;16:1040-1046.
- 433 39. Carr MC, Ayyobi AF, Murdoch SJ, Deeb SS, Brunzell JD. Contribution of hepatic
434 lipase, lipoprotein lipase, and cholesteryl ester transfer protein to LDL and HDL
435 heterogeneity in healthy women. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2002;22:667-673.

- 436 40. Paradis ME, Hogue MO, Mauger JF, Couillard C, Couture P, Bergeron N,
437 Lamarche B. Visceral adipose tissue accumulation, secretory phospholipase A2-IIA
438 and atherogenicity of LDL. *Int J Obes (Lond)* 2006;30:1615-1622.
- 439 41. Ruel IL, Gaudet D, Perron P, Bergeron J, Julien P, Lamarche B. Characterization of
440 LDL particle size among carriers of a defective or a null mutation in the lipoprotein
441 lipase gene: the Quebec LIPD Study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2002;22:1181-
442 1186.
- 443 42. Ruel IL, Gaudet D, Perron P, Bergeron J, Julien P, Lamarche B. Effect of obesity on
444 HDL and LDL particle sizes in carriers of the null P207L or defective D9N
445 mutation in the lipoprotein lipase gene: the Quebec LipD Study. *Int J Obes Relat*
446 *Metab Disord* 2003;27:631-637.
- 447 43. Hogue JC, Lamarche B, Gaudet D, Tremblay AJ, Despres JP, Gagne C, Couture P.
448 Genotype of the mutant LDL receptor allele is associated with LDL particle size
449 heterogeneity in familial hypercholesterolemia. *Atherosclerosis* 2006;184:163-170.
- 450 44. Shadid S, LaForge R, Otvos JD, Jensen MD. Treatment of obesity with
451 diet/exercise versus pioglitazone has distinct effects on lipoprotein particle size.
452 *Atherosclerosis* 2006;188:370-376.
- 453 45. Kraus WE, Houmard JA, Duscha BD, Knetzger KJ, Wharton MB, McCartney JS,
454 Bales CW, Henes S, Samsa GP, Otvos JD, Kulkarni KR, Slentz CA. Effects of the
455 amount and intensity of exercise on plasma lipoproteins. *N Engl J Med*
456 2002;347:1483-1492.
- 457 46. Krauss RM. Dietary and genetic effects on low-density lipoprotein heterogeneity.
458 *Annu Rev Nutr* 2001;21:283-295.
- 459 47. Furuya D, Yagihashi A, Nasu S, Endoh T, Nakamura T, Kaneko R, Kamagata C,
460 Kobayashi D, Watanabe N. LDL particle size by gradient-gel electrophoresis cannot
461 be estimated by LDL-cholesterol/apolipoprotein B ratios. *Clin Chem* 2000;46:1202-
462 1203.

- 463 48. Landis JR, Koch GG. The measurement of observer agreement for categorical data.
464 *Biometrics* 1977;33:159-174.
465
466
467

468 Legend to figure

469

470 Figure 1

471 Percentage of difference in lipoprotein levels between the lowest and the highest LDL-PPD

472 quintiles. (Quintile 1: LDL-PPD $\leq 249.58 \text{ \AA}$; Quintile 2: LDL-PPD $\leq 252.49 \text{ \AA}$; Quintile 3:

473 LDL-PPD $\leq 254.72 \text{ \AA}$; Quintile 4: LDL-PPD $\leq 257.31 \text{ \AA}$; Quintile 5: LDL-PPD $\leq 270.87 \text{ \AA}$)

474

Table 1
Distribution of lipid-lipoprotein profile of the participants

	Age (y)	BMI (kg/m ²)	PI-C (mmol/L)	VL DL-C (mmol/L)	LDL-C (mmol/L)	HDL-C (mmol/L)	TG (mmol/L)	VL DL-TG (mmol/L)	Apo B (g/L)	VL DLapoB (g/L)	LDLapoB (g/L)	LDL -C/ apo BLD L	HD L- apo A-I (g/L)	PI-C/ HDL-C	HDL particle size (Å)	LDL-PPD (Å)	Integrated LDL size (Å)
Quantiles																	
100.0% (Max)	86.9	51.8	28.9 0	14.2 9	20.13	3.05	84.4 0	20.7 4	4.34	0.97	4.02	5.77	2.34	78.11	113.21	271	270.06
99.5%	77.9	45.0	13.8 4	7.49	9.87	2.33	27.8 1	13.2 2	2.46	0.67	2.21	4.96	1.96	26.02	107.57	265	263.80
97.5%	70.3	37.9	10.2 4	4.11	7.63	1.83	14.0 7	7.20	2.02	0.47	1.81	4.63	1.70	14.31	102.95	262	261.71
90.0%	61.3	33.2	8.18	2.29	5.77	1.48	5.52	3.93	1.67	0.33	1.47	4.30	1.49	9.59	97.75	259	259.22
75.0%	52.9	29.6	6.97	1.34	4.69	1.24	3.04	2.22	1.44	0.23	1.26	3.99	1.34	7.57	94.06	257	256.89
50.0% (Median)	42.1	26.1	6.00	0.72	3.78	0.99	1.83	1.20	1.23	0.15	1.05	3.65	1.19	5.99	90.28	254	254.11
25.0%	27.3	22.8	5.12	0.41	2.91	0.81	1.13	0.61	1.04	0.11	0.86	3.24	1.04	4.67	87.17	251	251.09
10.0%	11.3	19.0	4.41	0.23	2.08	0.67	0.81	0.34	0.86	0.07	0.69	2.75	0.93	3.75	84.70	248	248.16
2.5%	6.0	15.3	3.69	0.09	1.01	0.52	0.58	0.17	0.65	0.05	0.47	1.90	0.78	2.94	81.02	244	244.73
0.5%	3.7	14.1	2.64	0.04	0.46	0.37	0.47	0.12	0.49	0.02	0.33	1.05	0.64	2.35	74.55	23	240.27
0.0% (Min)	2.1	13.1	2.12	0.01	0.15	0.20	0.38	0.05	0.30	0.00	0.17	0.55	0.27	2.11	69.67	230	232.35
Mean	39.7	26.3	6.22	1.08	3.91	1.05	3.01	1.81	1.26	0.18	1.08	3.56	1.20	6.62	90.77	254	253.86
Standard deviation	18.1	5.6	1.81	1.16	1.62	0.34	4.71	2.04	0.34	0.11	0.33	0.66	0.23	3.84	5.45	4.59	4.35
Number	1956	1884	1956	1956	1963	1956	1956	1956	1956	1956	1934	1934	1744	1956	1946	1956	1956

BMI: Body Mass Index; TG: Triglycerides; C: Cholesterol; apo: apolipoprotein.

63.1% (n=1234) and 36.9% (n=722) of the participants were males and females, respectively. 80.05% (n=1557) and 19.95% (n=388) of the participants were non-smokers and smokers, respectively.

Table 2

Lipid-lipoprotein profile according to the LDL-PPD quintiles

	Quintile 1 (n=390)	Quintiles 2 (n=393)	Quintiles 3 (n=392)	Quintiles 4 (n=390)	Quintile 5 (n=391)
Age (years)	45.27±14.41	42.73±15.44 ^a	41.40±18.91 ^a	36.18±18.53 ^{a,b,c}	32.77±19.70 ^{a,b,c,d}
Gender	M=310 (79.5%) F=80 (20.55%) Smoker= 103 (26.82%)	M=280 (71.3%) F=113 (28.8%) Smoker=95 (24.30%)	M=240 (61.2%) F=152 (38.8%) Smoker=69 (17.69%)	M=229 (58.7%) F=161 (41.3%) Smoker=67 (17.22%)	M=175 (44.8%) F=216 (55.2%) Smoker=54 (13.81%) Non-smoker=337 (86.19%)
Smoking habits	Non-smoker=281 (73.18%)	Non-smoker=296 (75.70%)	Non-smoker=321 (82.31%)	Non-smoker=322 (82.78%)	
BMI (kg/m ²)	28.0±4.4	27.7±5.2	26.5±5.85 ^{a,b}	25.15±5.5 ^{a,b,c}	23.9±5.78 ^{a,b,c,d}
Waist girth (cm)	97.47±10.97	96.67±12.00	94.89±16.84 ^a	90.00±14.65 ^{a,b,c}	86.15±13.72 ^{a,b,c,d}
Lipoprotein-lipid profile					
Plasma-C (mmol/L)	6.36±2.36	6.11±1.60	6.03±1.58 ^a	6.11±1.46	6.51±1.86 ^{b,c,d}
-VLDL-C (mmol/L)	2.03±1.61	1.39±1.28 ^a	0.86±0.69 ^{a,b}	0.62±0.48 ^{a,b,c}	0.51±0.47 ^{a,b,c}
-LDL-C (mmol/L)	2.83±1.34	3.64±1.30 ^a	4.04±1.38 ^{a,b}	4.32±1.48 ^{a,b,c}	4.71±1.89 ^{a,b,c,d}
-HDL-C (mmol/L)	0.79±0.22	0.94±0.27 ^a	1.08±0.29 ^{a,b}	1.15±0.32 ^{a,b,c}	1.27±0.37 ^{a,b,c,d}
TG (mmol/L)	6.64±8.14	3.26±3.44 ^a	2.20±3.42 ^{a,b}	1.62±1.37 ^{a,b}	1.35±1.07 ^{a,b,c}
-VLDL-TG (mmol/L)	3.65±3.11	2.24±1.82 ^a	1.40±1.05 ^{a,b}	1.00±0.80 ^{a,b,c}	0.77±0.75 ^{a,b,c}
-LDL-TG (mmol/L)	0.45±0.22	0.39±0.14 ^a	0.35±0.15 ^{a,b}	0.32±0.14 ^{a,b,c}	0.31±0.12 ^{a,b,c}
-HDL-TG (mmol/L)	0.35±0.15	0.28±0.10 ^a	0.25±0.07 ^{a,b}	0.23±0.07 ^{a,b}	0.22±0.06 ^{a,b,c}
ApoB (g/L)	1.22±0.34	1.27±0.30	1.26±0.33	1.25±0.33	1.28±0.40 ^a
VLDLapoB (g/L)	0.28±0.15	0.21±0.12 ^a	0.16±0.08 ^{a,b}	0.14±0.07 ^{a,b,c}	0.12±0.06 ^{a,b,c}
LDLapoB (g/L)	0.95±0.32	1.06±0.29 ^a	1.10±0.31 ^a	1.12±0.32 ^{a,b}	1.16±0.38 ^{a,b,c}
HDLapoA1 (g/L)	1.11±0.21	1.16±0.21 ^a	1.22±0.23 ^{a,b}	1.23±0.23 ^{a,b}	1.29±0.24 ^{a,b,c,d}
Plasma-C/HDL-C	8.45±6.27	6.97±2.94 ^a	6.01±2.88 ^{a,b}	5.67±2.04 ^{a,b}	5.60±2.50 ^{a,b}
LDL-C/LDLapoB	2.88±0.70	3.41±0.55 ^a	3.66±0.45 ^{a,b}	3.83±0.44 ^{a,b,c}	4.02±0.45 ^{a,b,c,d}
ApoB/HDLapoA1	1.11±0.32	1.11±0.32	1.06±0.37	1.06±0.40	1.04±0.40 ^{a,b}
TC/TG	1.61±1.04	2.80±1.72 ^a	3.87±2.14 ^{a,b}	4.96±2.68 ^{a,b,c}	4.96±2.68 ^{a,b,c,d}
LDL-C/TG	0.92±0.84	1.87±1.41 ^a	2.70±1.73 ^{a,b}	3.61±2.28 ^{a,b,c}	4.52±2.59 ^{a,b,c,d}
TG/HDL-C	11.23±23.86	4.28±7.64 ^a	2.57±7.95 ^{a,b}	1.69±2.80 ^{a,b}	1.26±1.50 ^{a,b}
LDL-C/apoBtotal	2.23±0.74	2.84±0.65 ^a	3.19±0.50 ^{a,b}	3.41±0.50 ^{a,b,c}	3.62±0.49 ^{a,b,c,d}
HDL size (Å)	88.67±4.89	89.48±5.09 ^a	90.89±5.16 ^{a,b}	91.62±5.44 ^{a,b,c}	93.20±5.49 ^{a,b,c,d}
LDL-PPD (Å)	247.07±3.22	251.31±0.75 ^a	253.63±0.66 ^{a,b}	255.91±0.79 ^{a,b,c}	259.62±2.01
Integrated LDL size (Å)	247.95±3.05	251.86±1.85 ^a	254.14±1.53 ^{a,b}	256.27±1.54 ^{a,b,c}	259.07±2.27 ^{a,b,c,d}

Quintile 1: LDL-PPD ≤ 249.58 Å; Quintile 2: LDL-PPD ≤ 252.49 Å; Quintile 3: LDL-PPD ≤ 254.72 Å; Quintile 4: LDL-PPD ≤ 257.31 Å; Quintile 5: LDL-PPD ≤ 270.87 Å

BMI : body mass index; C : cholesterol; TG : triglycerides; apo : apolipoprotein

^a P<.05 vs Quartile 1

^b P<.05 vs Quartile 2

^c P<.05 vs Quartile 3

^d P<.05 vs Quartile 4

Table 3
Univariate correlations between independent variables and LDL-PPD

Variables	Spearman's Rho	p
Age	-0.2274	<.0001
BMI	-0.2935	<.0001
Waist girth	-0.3023	<.0001
Plasma-C	0.0497	0.0281
-VLDL-C	-0.5889	<.0001
-LDL-C	0.3871	<.0001
-HDL-C	0.5227	<.0001
TG	-0.6325	<.0001
-VLDL-TG	-0.6074	<.0001
-LDL-TG	-0.3482	<.0001
-HDL-TG	-0.3920	<.0001
ApoB-pl	0.0052	0.8169
-VLDLapoB	-0.4960	<.0001
-LDLapoB	0.1813	0.0001
-HDLapoAI	0.2651	<.0001
Ratios		
-LDL-C/LDLapoB	0.6039	<.0001
-ApoB/apoAI	-0.1274	<.0001
-TC/TG	0.6524	<.0001
-LDL-C/TG	0.6384	<.0001
-TG/HDL-C	-0.6557	<.0001
-LDL-C/apoBtotal	0.6441	<.0001
Non-HDL-C	-0.0674	0.0029
HDL particle size	0.2978	<.0001

TG: triglycerides; C: cholesterol; BMI: body mass index; Apo: apolipoprotein

Table 4

Multiple linear regression analysis showing independent contributions of LDL-C/LDLapoB, gender, age and TG to the variance of the LDL size for men and women.

	M and F (n:1934) R ² X 100: 42.03		M (n : 1216) R ² X 100: 40.00		F (n : 718) R ² X 100 : 40.23	
Independent variables	Partial (R ² X 100)	P	Partial (R ² X 100)	P	Partial (R ² X 100)	P
LDL-C/LDLapoB	35.32	<0.0001	35.93	<0.0001	34.03	<0.0001
Gender	3.36	<0.0001	-	-	-	-
Age	2.82	<0.0001	2.92	<0.0001	2.97	0.0002
TG	1.51	<0.0001	1.15	0.0020	3.22	<0.0001

[†]The multivariate model included LDL-C/LDLapoB, gender, age and TG
 TG: triglycerides; C: cholesterol; Apo: apolipoprotein

Table 5
Univariate Correlations, Degree of Concordance and Degree of Agreement Among the
Various Variables

	LDL-PPD					
	Spearman's Rho	p	degree of concordance(the proportion of subjects in whom both atherogenic indexes fell into the same quintile of the distribution)	Kappa *	Error	Agreement **
LDL-C/LDLapoB	0.6039	<.0001	35.8%	0.20	0.013631	Slight
apoB/apoAI	-0.1274	<.0001	18.0%	-0.02	0.011498	Weaker than expected by chance
TC/TG	0.6524	<.0001	39.0%	0.24	0.013788	Fair
LDL-C/TG	0.6384	<.0001	38.7%	0.23	0.013768	Fair
TG/HDL-C	0.6557	<.0001	11%	-0.11	0.008834	Weaker than expected by chance
HDL-C/TG	0.6557	<.0001	40.5%	0.26	0.013877	Fair
LDL-C/apoBtotal	0.6441	<.0001	38.5%	0.23	0.013754	Fair
1/TG	0.6325	<.0001	38.5%	/	/	/

*The kappa statistic, on a scale from 0 to 1, reflects the degree of agreement between 2 variables. Negative values of Kappa can occur if agreement is weaker than expected by chance, but this is rare.

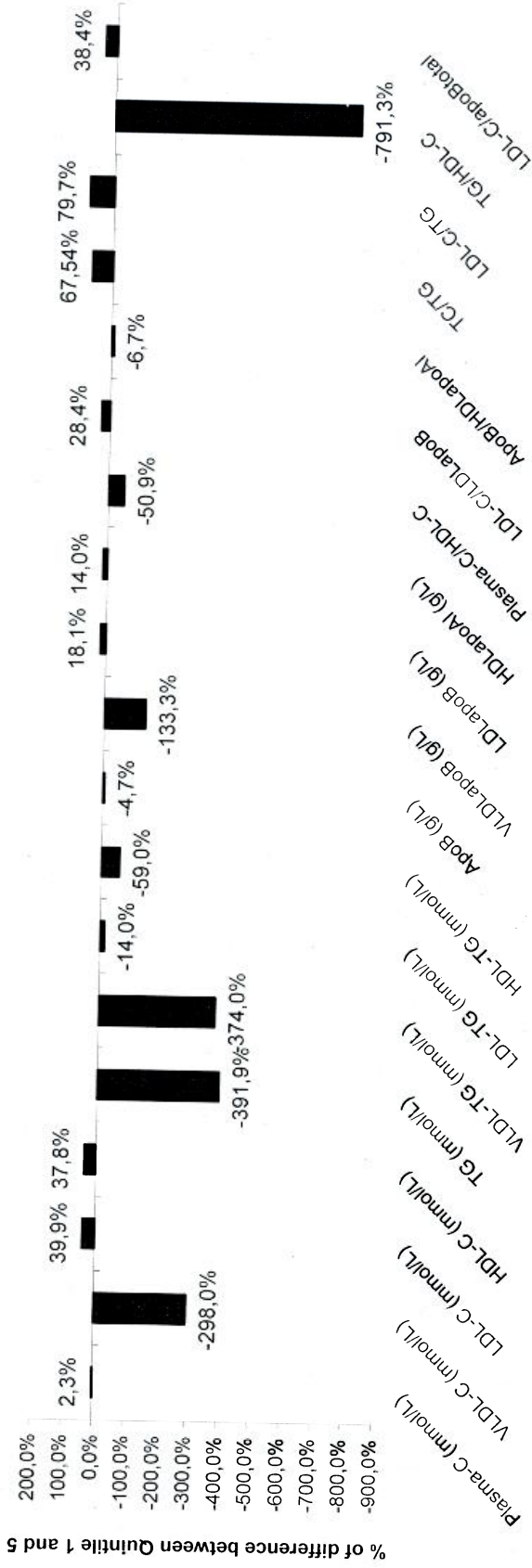
**The levels of agreement range from slight (kappa 0.0 to 0.20), fair (0.21 to 0.40), moderate (0.41 to 0.60), substantial (0.61 to 0.80), and to almost perfect according to Landis and Koch ⁴⁸

Legend to figure

Figure 1

Percentage of difference in lipoprotein levels between the lowest and the highest LDL-PPD quintiles. (Quintile 1: LDL-PPD \leq 249.58 Å; Quintile 2: LDL-PPD \leq 252.49 Å; Quintile 3: LDL-PPD \leq 254.72 Å; Quintile 4: LDL-PPD \leq 257.31 Å; Quintile 5: LDL-PPD \leq 270.87 Å)

Figure 1



Chapitre 6 : Conclusion

L'article présenté dans ce mémoire avait pour but d'examiner les relations entre les propriétés électrophorétiques des particules LDL et leurs compositions et d'identifier les déterminants de la taille de ces particules chez un grand groupe de sujets ayant un grand éventail de niveau de TG. Nous voulions aussi trouver les meilleurs outils possibles pour utiliser quotidiennement en clinique afin d'estimer les tailles des particules LDL.

Sans surprise, nous avons démontré que les particules LDL des hommes étaient plus petites que celles des femmes. De nombreuses études démontrent que les particules LDL et HDL des hommes sont plus petites et plus denses que celles des femmes.^{49,76,79,105-108,159} Selon Li et al.¹⁰⁵ les hormones sexuelles affecteraient les sous-classes de lipoprotéines. Ils ont démontré que les femmes préménopausées avaient de plus hauts taux de C-HDL, de LpAI, des particules HDL plus grosses que les femmes postménopausées et que les hommes. Ils ont également démontré que les femmes avaient des niveaux significativement plus élevés de LpAI, de plus grosses particules LDL, de plus faibles taux de TG et d'apoB que les hommes.

Dans nos études, les concentrations plasmatiques du C-LDL et de l'apoBLDL diminuent progressivement lorsque le LDL-PPD diminue, tout comme diminuent les concentrations du C-HDL et de l' HDLapoAI lorsque la taille des particules HDL diminue. Nous avons noté que la diminution des taux de C-LDL était plus grande que celle des taux d'ApoBLDL et que l'augmentation des TG, des VLDL-TG et du C-VLDL était accompagnée d'une diminution du LDL-PPD. Il a été démontré que la composition chimique des grosses particules LDL était similaire à celle de plus petites particules sauf quant à leur contenu en apoB, plus grand chez les grosses particules.²⁰

Il n'y a pas de relation entre le LDL-PPD et l'apoB et avec le ratio non-C-HDL/apoB ni entre les TG-HDL et la taille des particules HDL.

Pour la totalité des sujets ainsi que pour les femmes, l'apoB a la plus importante contribution à la variance du LDL-PPD dans un modèle incluant l'apoB, le C-LDL, les TG, l'âge, le sexe, le cholestérol et l'indice de masse corporelle. Chez les hommes, c'est le C-

LDL qui contribue le plus à la variance du LDL-PPD dans le même modèle, plus que l'apoB.

Les relations entre les taux de TG, les ratios C-LDL/apoB, LDL, TC/TG, C-LDL/TG, TG/C-HDL, C-LDL/apoBtotal et le LDL-PPD sont faibles. Les analyses de corrélations démontrent qu'aucun ratio ou paramètre tel que l'apoA1, les ratios TG/HDL-C, TC/HDL-C, C-LDL/apoB, LDL-C/apoBtotal, TC/TG, LDL-C/TG et apoB/apoA1 n'est un bon prédicteur de la taille des particule LDL. Les meilleurs moyens de savoir la taille des particules LDL afin de prédire le risque cardiovasculaire restent les mesures par électrophorèse sur PAGGE chez un grand groupe de sujets ayant un grand éventail de niveau de TG.

Nos études ne nous ont pas permis de vérifier les liens entre l'insulinémie et la taille des particules LDL et HDL mais nos résultats démontrent des relations univariées entre les autres composantes du syndrome métabolique comme les TG, le tour de taille le C-HDL et la tension artérielle. Les particules LDL et HDL petites et denses semblent être un autre élément de la dyslipidémie associée au syndrome métabolique.¹⁷ L'obésité abdominale est une cause importante de la résistance à l'insuline résultant, par divers mécanismes à une surproduction hépatique de lipoprotéines riches en TG.¹¹⁸ Ces particules étant exposées à une plus grande lipolyse par la LH forment des particules plus petites et plus denses.⁹¹

Plusieurs études ont démontré des liens entre la taille des particules LDL et HDL et des facteurs génétiques^{130,133,136-138,160,161} et l'alimentation et l'activité physique.^{43,76,95,103,128,129,129,133,145,162-165} Également Plusieurs études ont démontré des liens entre des facteurs génétiques ainsi que la taille des particules LDL et HDL. Seulement quelques études ont été faites sur les liens entre la taille des particules LDL et HDL et l'alimentation et l'activité physique Il serait intéressant d'inclure dans nos modèles statistiques de variance des facteurs environnementaux, génétiques ou métaboliques (enzymes) pour expliquer davantage les variances des tailles des particules LDL et HDL.

Bibliographie

Cette liste comprend les références pour les chapitres 1 à 4 et pour la conclusion.

1. Lloyd-Jones DM, Larson MG, Beiser A, Levy D. Lifetime risk of developing coronary heart disease. *Lancet* 1999;353:89-92.
2. Lloyd-Jones DM, Wilson PW, Larson MG, Beiser A, Leip EP, D'Agostino RB, Levy D. Framingham risk score and prediction of lifetime risk for coronary heart disease. *Am J Cardiol* 2004;94:20-24.
3. Lamarche B, Lemieux I, Despres JP. The small, dense LDL phenotype and the risk of coronary heart disease: epidemiology, patho-physiology and therapeutic aspects. *Diabetes Metab* 1999;25:199-211.
4. Gordon T, Castelli WP, Hjortland MC, Kannel WB, Dawber TR. High density lipoprotein as a protective factor against coronary heart disease. The Framingham Study. *Am J Med* 1977;62:707-714.
5. Lamarche B, Tchernof A, Moorjani S, Cantin B, Dagenais GR, Lupien PJ, Despres 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;95:69-75.
6. Berneis KK, Krauss RM. Metabolic origins and clinical significance of LDL heterogeneity. *J Lipid Res* 2002;43:1363-1379.
7. Stein O, Stein Y. Atheroprotective mechanisms of HDL. *Atherosclerosis* 1999;144:285-301.
8. Blanche PJ, Gong EL, Forte TM, Nichols AV. Characterization of human high-density lipoproteins by gradient gel electrophoresis. *Biochim Biophys Acta* 1981;665:408-419.
9. 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;276:875-881.
10. Stampfer MJ, Sacks FM, Salvini S, Willett WC, Hennekens CH. A prospective study of cholesterol, apolipoproteins, and the risk of myocardial infarction. *N Engl J Med* 1991;325:373-381.
11. Austin MA. Triglyceride, small, dense low-density lipoprotein, and the atherogenic lipoprotein phenotype. *Curr Atheroscler Rep* 2000;2:200-207.
12. Flood C, Gustafsson M, Pitas RE, Arnaboldi L, Walzem RL, Boren J. Molecular mechanism for changes in proteoglycan binding on compositional changes of the

- core and the surface of low-density lipoprotein-containing human apolipoprotein B100. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2004;24:564-570.
13. 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;39:1263-1273.
 14. La Belle M, Krauss RM. Differences in carbohydrate content of low density lipoproteins associated with low density lipoprotein subclass patterns. *J Lipid Res* 1990;31:1577-1588.
 15. Chait A, Brazg RL, Tribble DL, Krauss RM. Susceptibility of small, dense, low-density lipoproteins to oxidative modification in subjects with the atherogenic lipoprotein phenotype, pattern B. *Am J Med* 1993;94:350-356.
 16. McNamara JR, Small DM, Li Z, Schaefer EJ. Differences in LDL subspecies involve alterations in lipid composition and conformational changes in apolipoprotein B. *J Lipid Res* 1996;37:1924-1935.
 17. Pascot A, Lemieux I, Prud'homme D, Tremblay A, Nadeau A, Couillard C, Bergeron J, Lamarche B, Despres JP. Reduced HDL particle size as an additional feature of the atherogenic dyslipidemia of abdominal obesity. *J Lipid Res* 2001;42:2007-2014.
 18. Shepherd J, Packard CJ, Stewart JM, Vallance BD, Lawrie TD, Morgan HG. The relationship between the cholesterol content and subfraction distribution of plasma high-density lipoproteins. *Clin Chim Acta* 1980;101:57-62.
 19. Horowitz BS, Goldberg IJ, Merab J, Vanni TM, Ramakrishnan R, Ginsberg HN. Increased plasma and renal clearance of an exchangeable pool of apolipoprotein A-I in subjects with low levels of high density lipoprotein cholesterol. *J Clin Invest* 1993;91:1743-1752.
 20. Rainwater DL. Lipoprotein correlates of LDL particle size. *Atherosclerosis* 2000;148:151-158.
 21. Tian L, Fu M, Jia L, Xu Y, Long S, Tian H, Tian Y. Relationship between apolipoprotein concentrations and HDL subclasses distribution. *Lipids* 2007;42:419-426.
 22. Jia L, Long S, Fu M, Yan B, Tian Y, Xu Y, Gou L. Relationship between total cholesterol/high-density lipoprotein cholesterol ratio, triglyceride/high-density lipoprotein cholesterol ratio, and high-density lipoprotein subclasses. *Metabolism* 2006;55:1141-1148.

23. Tsimihodimos V, Gazi I, Kostara C, Tselepis AD, Elisaf M. Plasma Lipoproteins and Triacylglycerol are Predictors of Small, Dense LDL Particles. *Lipids* 2007;42:403-409.
24. Maruyama C, Imamura K, Teramoto T. Assessment of LDL particle size by triglyceride/HDL-cholesterol ratio in non-diabetic, healthy subjects without prominent hyperlipidemia. *J Atheroscler Thromb* 2003;10:186-191.
25. Hanak V, Munoz J, Teague J, Stanley A, Jr., Bittner V. Accuracy of the triglyceride to high-density lipoprotein cholesterol ratio for prediction of the low-density lipoprotein phenotype B. *Am J Cardiol* 2004;94:219-222.
26. Dobiasova M, Frohlich J. The plasma parameter log (TG/HDL-C) as an atherogenic index: correlation with lipoprotein particle size and esterification rate in apoB-lipoprotein-depleted plasma (FER(HDL)). *Clin Biochem* 2001;34:583-588.
27. Boizel R, Benhamou PY, Lardy B, Laporte F, Foulon T, Halimi S. Ratio of triglycerides to HDL cholesterol is an indicator of LDL particle size in patients with type 2 diabetes and normal HDL cholesterol levels. *Diabetes Care* 2000;23:1679-1685.
28. Bhalodkar NC, Blum S, Enas EA. Accuracy of the ratio of triglycerides to high-density lipoprotein cholesterol for predicting low-density lipoprotein cholesterol particle sizes, phenotype B, and particle concentrations among Asian Indians. *Am J Cardiol* 2006;97:1007-1009.
29. Hattori Y, Suzuki M, Tsushima M, Yoshida M, Tokunaga Y, Wang Y, Zhao D, Takeuchi M, Hara Y, Ryomoto KI, Ikebuchi M, Kishioka H, Mannami T, Baba S, Harano Y. Development of approximate formula for LDL-chol, LDL-apo B and LDL-chol/LDL-apo B as indices of hyperapobetalipoproteinemia and small dense LDL. *Atherosclerosis* 1998;138:289-299.
30. Wagner AM, Jorba O, Rigla M, Alonso E, Ordonez-Llanos J, Perez A. LDL-cholesterol/apolipoprotein B ratio is a good predictor of LDL phenotype B in type 2 diabetes. *Acta Diabetol* 2002;39:215-220.
31. Yoshida A, Kouwaki M, Matsutani Y, Fukuchi Y, Naito M. Usefulness of serum total cholesterol/triglyceride ratio for predicting the presence of small, dense LDL. *J Atheroscler Thromb* 2004;11:215-219.
32. Redgrave TG. Chylomicron metabolism. *Biochem Soc Trans* 2004;32:79-82.
33. Gagné CaGD. *Les dyslipoprotéinémies : L'approche clinique*. Québec: 1997.
34. Betteridge D. Clinicians' Guide to Lipids and Coronary Heart Disease, 2Ed Clinicians' Guide Series. J.Morrell. 2003. London, Hodder Education.
Ref Type: Generic

35. Tulenko TN, Sumner AE. The physiology of lipoproteins. *J Nucl Cardiol* 2002;9:638-649.
36. Steiner A. Cholesterol in arteriosclerosis with special reference to coronary arteriosclerosis. *Med Clin North Am* 1950;34:673-683.
37. Genest J. Lipoprotein disorders and cardiovascular risk. *J Inherit Metab Dis* 2003;26:267-287.
38. Smolders B, Lemmens R, Thijs V. Lipoprotein (a) and Stroke. A Meta-Analysis of Observational Studies. *Stroke* 2007.
39. Plutzky J. The vascular biology of atherosclerosis. *Am J Med* 2003;115 Suppl 8A:55S-61S.
40. Fruchart JC, Nierman MC, Stroes ES, Kastelein JJ, Duriez P. New risk factors for atherosclerosis and patient risk assessment. *Circulation* 2004;109:III15-III19.
41. Khot UN, Khot MB, Bajzer CT, Sapp SK, Ohman EM, Brener SJ, Ellis SG, Lincoff AM, Topol EJ. Prevalence of conventional risk factors in patients with coronary heart disease. *JAMA* 2003;290:898-904.
42. Greenland P, Knoll MD, Stamler J, Neaton JD, Dyer AR, Garside DB, Wilson PW. Major risk factors as antecedents of fatal and nonfatal coronary heart disease events. *JAMA* 2003;290:891-897.
43. Krauss RM. Dietary and genetic effects on low-density lipoprotein heterogeneity. *Annu Rev Nutr* 2001;21:283-295.
44. St Pierre AC, Ruel IL, Cantin B, Dagenais GR, Bernard PM, Despres JP, Lamarche B. Comparison of various electrophoretic characteristics of LDL particles and their relationship to the risk of ischemic heart disease. *Circulation* 2001;104:2295-2299.
45. Austin MA, Hokanson JE, Edwards KL. Hypertriglyceridemia as a cardiovascular risk factor. *Am J Cardiol* 1998;81:7B-12B.
46. Stampfer MJ, Sacks FM, Salvini S, Willett WC, Hennekens CH. A prospective study of cholesterol, apolipoproteins, and the risk of myocardial infarction. *N Engl J Med* 1991;325:373-381.
47. Austin MA, Breslow JL, Hennekens CH, Buring JE, Willett WC, Krauss RM. Low-density lipoprotein subclass patterns and risk of myocardial infarction. *JAMA* 1988;260:1917-1921.
48. 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;106:241-253.

49. McNamara JR, Campos H, Ordovas JM, Peterson J, Wilson PW, Schaefer EJ. Effect of gender, age, and lipid status on low density lipoprotein subfraction distribution. Results from the Framingham Offspring Study. *Arteriosclerosis* 1987;7:483-490.
50. 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;276:882-888.
51. Lamarche B, St Pierre AC, Ruel IL, Cantin B, Dagenais GR, Despres 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;17:859-865.
52. 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;19:2742-2748.
53. Capell WH, Zambon A, Austin MA, Brunzell JD, Hokanson JE. Compositional differences of LDL particles in normal subjects with LDL subclass phenotype A and LDL subclass phenotype B. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1996;16:1040-1046.
54. Lamarche B, Rashid S, Lewis GF. HDL metabolism in hypertriglyceridemic states: an overview. *Clin Chim Acta* 1999;286:145-161.
55. BARR DP, RUSS EM, Eder HA. Protein-lipid relationships in human plasma. II. In atherosclerosis and related conditions. *Am J Med* 1951;11:480-493.
56. Miller NE, Thelle DS, Forde OH, Mjos OD. The Tromso heart-study. High-density lipoprotein and coronary heart-disease: a prospective case-control study. *Lancet* 1977;1:965-968.
57. Castelli WP, Doyle JT, Gordon T, Hames CG, Hjortland MC, Hulley SB, Kagan A, Zukel WJ. HDL cholesterol and other lipids in coronary heart disease. The cooperative lipoprotein phenotyping study. *Circulation* 1977;55:767-772.
58. Gordon DJ, Rifkind BM. High-density lipoprotein--the clinical implications of recent studies. *N Engl J Med* 1989;321:1311-1316.
59. Assmann G, Schulte H. Relation of high-density lipoprotein cholesterol and triglycerides to incidence of atherosclerotic coronary artery disease (the PROCAM experience). Prospective Cardiovascular Munster study. *Am J Cardiol* 1992;70:733-737.
60. Manninen V, Tenkanen L, Koskinen P, Huttunen JK, Manttari M, Heinonen OP, Frick MH. Joint effects of serum triglyceride and LDL cholesterol and HDL cholesterol concentrations on coronary heart disease risk in the Helsinki Heart Study. Implications for treatment. *Circulation* 1992;85:37-45.

61. Silverman DI, Ginsburg GS, Pasternak RC. High-density lipoprotein subfractions. *Am J Med* 1993;94:636-645.
62. Gofman JW, Young W, Tandy R. Ischemic heart disease, atherosclerosis, and longevity. *Circulation* 1966;34:679-697.
63. Lamarche B, Moorjani S, Cantin B, Dagenais GR, Lupien PJ, Despres JP. Associations of HDL2 and HDL3 subfractions with ischemic heart disease in men. Prospective results from the Quebec Cardiovascular Study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1997;17:1098-1105.
64. Roheim PS, Asztalos BF. Clinical significance of lipoprotein size and risk for coronary atherosclerosis. *Clin Chem* 1995;41:147-152.
65. Stampfer MJ, Sacks FM, Salvini S, Willett WC, Hennekens CH. A prospective study of cholesterol, apolipoproteins, and the risk of myocardial infarction. *N Engl J Med* 1991;325:373-381.
66. Soedamah-Muthu SS, Chang YF, Otvos J, Evans RW, Orchard TJ. Lipoprotein subclass measurements by nuclear magnetic resonance spectroscopy improve the prediction of coronary artery disease in Type 1 diabetes. A prospective report from the Pittsburgh Epidemiology of Diabetes Complications Study. *Diabetologia* 2003;46:674-682.
67. Sweetnam PM, Bolton CH, Yarnell JW, Bainton D, Baker IA, Elwood PC, Miller NE. Associations of the HDL2 and HDL3 cholesterol subfractions with the development of ischemic heart disease in British men. The Caerphilly and Speedwell Collaborative Heart Disease Studies. *Circulation* 1994;90:769-774.
68. Salonen JT, Salonen R, Seppanen K, Rauramaa R, Tuomilehto J. HDL, HDL2, and HDL3 subfractions, and the risk of acute myocardial infarction. A prospective population study in eastern Finnish men. *Circulation* 1991;84:129-139.
69. Roheim PS, Asztalos BF. Clinical significance of lipoprotein size and risk for coronary atherosclerosis. *Clin Chem* 1995;41:147-152.
70. Stampfer MJ, Sacks FM, Salvini S, Willett WC, Hennekens CH. A prospective study of cholesterol, apolipoproteins, and the risk of myocardial infarction. *N Engl J Med* 1991;325:373-381.
71. Williams PT, Krauss RM, Vranizan KM, Stefanick ML, Wood PD, Lindgren FT. Associations of lipoproteins and apolipoproteins with gradient gel electrophoresis estimates of high density lipoprotein subfractions in men and women. *Arterioscler Thromb* 1992;12:332-340.
72. Schultz JR, Verstuyft JG, Gong EL, Nichols AV, Rubin EM. Protein composition determines the anti-atherogenic properties of HDL in transgenic mice. *Nature* 1993;365:762-764.

73. Asztalos BF, Demissie S, Cupples LA, Collins D, Cox CE, Horvath KV, Bloomfield HE, Robins SJ, Schaefer EJ. LpA-I, LpA-I:A-II HDL and CHD-risk: The Framingham Offspring Study and the Veterans Affairs HDL Intervention Trial. *Atherosclerosis* 2006;188:59-67.
74. Pascot A, Lemieux I, Prud'homme D, Tremblay A, Nadeau A, Couillard C, Bergeron J, Lamarche B, Despres JP. Reduced HDL particle size as an additional feature of the atherogenic dyslipidemia of abdominal obesity. *J Lipid Res* 2001;42:2007-2014.
75. Hogue JC, Lamarche B, Gaudet D, Tremblay AJ, Despres JP, Bergeron J, Gagne C, Couture P. Association of heterozygous familial hypercholesterolemia with smaller HDL particle size. *Atherosclerosis* 2007;190:429-435.
76. Ruel IL, Gaudet D, Perron P, Pascot A, Despres JP, Bergeron J, Julien P, Lamarche B. Determinants of HDL particle size in patients with the null (P207L) or defective (D9N) mutation in the lipoprotein lipase gene: the Quebec LipD Study. *Atherosclerosis* 2002;162:269-276.
77. Asztalos BF, Brousseau ME, McNamara JR, Horvath KV, Roheim PS, Schaefer EJ. Subpopulations of high density lipoproteins in homozygous and heterozygous Tangier disease. *Atherosclerosis* 2001;156:217-225.
78. Yang Y, Yan B, Fu M, Xu Y, Tian Y. Relationship between plasma lipid concentrations and HDL subclasses. *Clin Chim Acta* 2005;354:49-58.
79. Gou L, Fu M, Xu Y, Tian Y, Yan B, Yang L. Alterations of high-density lipoprotein subclasses in endogenous hypertriglyceridemia. *Am Heart J* 2005;150:1039-1045.
80. Lamarche B, Uffelman KD, Carpentier A, Cohn JS, Steiner G, Barrett PH, Lewis GF. Triglyceride enrichment of HDL enhances in vivo metabolic clearance of HDL apo A-I in healthy men. *J Clin Invest* 1999;103:1191-1199.
81. Zhong S, Goldberg IJ, Bruce C, Rubin E, Breslow JL, Tall A. Human ApoA-II inhibits the hydrolysis of HDL triglyceride and the decrease of HDL size induced by hypertriglyceridemia and cholesteryl ester transfer protein in transgenic mice. *J Clin Invest* 1994;94:2457-2467.
82. Xu Y, Fu M. Alterations of HDL subclasses in hyperlipidemia. *Clin Chim Acta* 2003;332:95-102.
83. Li Z, McNamara JR, Ordovas JM, Schaefer EJ. Analysis of high density lipoproteins by a modified gradient gel electrophoresis method. *J Lipid Res* 1994;35:1698-1711.
84. Phillips NR, Havel RJ, Kane JP. Serum apolipoprotein A-I levels: relationship to lipoprotein lipid levels and selected demographic variables. *Am J Epidemiol* 1982;116:302-313.

85. Rye KA, Duong MN. Influence of phospholipid depletion on the size, structure, and remodeling of reconstituted high density lipoproteins. *J Lipid Res* 2000;41:1640-1650.
86. Tremblay AJ, Sniderman AD, Gagne C, Bergeron J, Couture P. Differential impact of plasma triglycerides on HDL-cholesterol and HDL-apo A-I in a large cohort. *Clin Biochem* 2007;40:25-29.
87. Schaefer EJ, Lamon-Fava S, Ordovas JM, Cohn SD, Schaefer MM, Castelli WP, Wilson PW. Factors associated with low and elevated plasma high density lipoprotein cholesterol and apolipoprotein A-I levels in the Framingham Offspring Study. *J Lipid Res* 1994;35:871-882.
88. Brinton EA, Eisenberg S, Breslow JL. Elevated high density lipoprotein cholesterol levels correlate with decreased apolipoprotein A-I and A-II fractional catabolic rate in women. *J Clin Invest* 1989;84:262-269.
89. Brinton EA, Eisenberg S, Breslow JL. Human HDL cholesterol levels are determined by apoA-I fractional catabolic rate, which correlates inversely with estimates of HDL particle size. Effects of gender, hepatic and lipoprotein lipases, triglyceride and insulin levels, and body fat distribution. *Arterioscler Thromb* 1994;14:707-720.
90. Morton RE. Cholesteryl ester transfer protein and its plasma regulator: lipid transfer inhibitor protein. *Curr Opin Lipidol* 1999;10:321-327.
91. Lagrost L, Gandjini H, Athias A, Guyard-Dangremont V, Lallemand C, Gambert P. Influence of plasma cholesteryl ester transfer activity on the LDL and HDL distribution profiles in normolipidemic subjects. *Arterioscler Thromb* 1993;13:815-825.
92. Ruel IL, Gaudet D, Perron P, Pascot A, Despres JP, Bergeron J, Julien P, Lamarche B. Determinants of HDL particle size in patients with the null (P207L) or defective (D9N) mutation in the lipoprotein lipase gene: the Quebec LipD Study. *Atherosclerosis* 2002;162:269-276.
93. Lamarche B, Rashid S, Lewis GF. HDL metabolism in hypertriglyceridemic states: an overview. *Clin Chim Acta* 1999;286:145-161.
94. Tan CE, Foster L, Caslake MJ, Bedford D, Watson TD, McConnell M, Packard CJ, Shepherd J. Relations between plasma lipids and postheparin plasma lipases and VLDL and LDL subfraction patterns in normolipemic men and women. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1995;15:1839-1848.
95. Zhong S, Goldberg IJ, Bruce C, Rubin E, Breslow JL, Tall A. Human ApoA-II inhibits the hydrolysis of HDL triglyceride and the decrease of HDL size induced by hypertriglyceridemia and cholesteryl ester transfer protein in transgenic mice. *J Clin Invest* 1994;94:2457-2467.

96. Guerin M, Egger P, Soudant C, Le Goff W, Van Tol A, Dupuis R, Chapman MJ. Cholesteryl ester flux from HDL to VLDL-1 is preferentially enhanced in type IIB hyperlipidemia in the postprandial state. *J Lipid Res* 2002;43:1652-1660.
97. Deckelbaum RJ, Granot E, Oschry Y, Rose L, Eisenberg S. Plasma triglyceride determines structure-composition in low and high density lipoproteins. *Arteriosclerosis* 1984;4:225-231.
98. Packard CJ, Shepherd J. Lipoprotein heterogeneity and apolipoprotein B metabolism. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1997;17:3542-3556.
99. Mann CJ, Yen FT, Grant AM, Bihain BE. Mechanism of plasma cholesteryl ester transfer in hypertriglyceridemia. *J Clin Invest* 1991;88:2059-2066.
100. Lamarche B, Uffelman KD, Carpentier A, Cohn JS, Steiner G, Barrett PH, Lewis GF. Triglyceride enrichment of HDL enhances in vivo metabolic clearance of HDL apo A-I in healthy men. *J Clin Invest* 1999;103:1191-1199.
101. Tzotzas T, Dumont L, Triantos A, Karamouzis M, Constantinidis T, Lagrost L. Early decreases in plasma lipid transfer proteins during weight reduction. *Obesity (Silver Spring)* 2006;14:1038-1045.
102. Arai T, Tsukada T, Murase T, Matsumoto K. Particle size analysis of high density lipoproteins in patients with genetic cholesteryl ester transfer protein deficiency. *Clin Chim Acta* 2000;301:103-117.
103. Huesca-Gomez C, Carreon-Torres E, Nepomuceno-Mejia T, Sanchez-Solorio M, Galicia-Hidalgo M, Mejia AM, Montano LF, Franco M, Posadas-Romero C, Perez-Mendez O. Contribution of cholesteryl ester transfer protein and lecithin:cholesterol acyltransferase to HDL size distribution. *Endocr Res* 2004;30:403-415.
104. Gou L, Fu M, Xu Y, Tian Y, Yan B, Yang L. Alterations of high-density lipoprotein subclasses in endogenous hypertriglyceridemia. *Am Heart J* 2005;150:1039-1045.
105. Li Z, McNamara JR, Fruchart JC, Luc G, Bard JM, Ordovas JM, Wilson PW, Schaefer EJ. Effects of gender and menopausal status on plasma lipoprotein subspecies and particle sizes. *J Lipid Res* 1996;37:1886-1896.
106. Nikkila M, Pitkajarvi T, Koivula T, Solakivi T, Lehtimaki T, Laippala P, Jokela H, Lehtomaki E, Seppa K, Sillanaukee P. Women have a larger and less atherogenic low density lipoprotein particle size than men. *Atherosclerosis* 1996;119:181-190.
107. Carr MC, Hokanson JE, Zambon A, Deeb SS, Barrett PH, Purnell JQ, Brunzell JD. The contribution of intraabdominal fat to gender differences in hepatic lipase activity and low/high density lipoprotein heterogeneity. *J Clin Endocrinol Metab* 2001;86:2831-2837.

108. Lemieux I, Pascot A, Lamarche B, Prud'homme D, Nadeau A, Bergeron J, Despres JP. Is the gender difference in LDL size explained by the metabolic complications of visceral obesity? *Eur J Clin Invest* 2002;32:909-917.
109. Tikkanen MJ, Nikkila EA, Vartiainen E. Natural oestrogen as an effective treatment for type-II hyperlipoproteinaemia in postmenopausal women. *Lancet* 1978;2:490-491.
110. Granfone A, Campos H, McNamara JR, Schaefer MM, Lamon-Fava S, Ordovas JM, Schaefer EJ. Effects of estrogen replacement on plasma lipoproteins and apolipoproteins in postmenopausal, dyslipidemic women. *Metabolism* 1992;41:1193-1198.
111. Tan CE, Foster L, Caslake MJ, Bedford D, Watson TD, McConnell M, Packard CJ, Shepherd J. Relations between plasma lipids and postheparin plasma lipases and VLDL and LDL subfraction patterns in normolipemic men and women. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1995;15:1839-1848.
112. Herbst KL, Amory JK, Brunzell JD, Chansky HA, Bremner WJ. Testosterone administration to men increases hepatic lipase activity and decreases HDL and LDL size in 3 wk. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2003;284:E1112-E1118.
113. Chung BH, Segrest JP, Franklin F. In vitro production of beta-very low density lipoproteins and small, dense low density lipoproteins in mildly hypertriglyceridemic plasma: role of activities of lecithin:cholesterol acyltransferase, cholesterylester transfer proteins and lipoprotein lipase. *Atherosclerosis* 1998;141:209-225.
114. Moorjani S, Dupont A, Labrie F, Lupien PJ, Brun D, Gagne C, Giguere M, Belanger A. Increase in plasma high-density lipoprotein concentration following complete androgen blockage in men with prostatic carcinoma. *Metabolism* 1987;36:244-250.
115. Sodre FL, Castanho VS, Castilho LN, Barros-Mazon S, de Faria EC. High-density lipoprotein subfractions in normolipidemic individuals without clinical atherosclerosis lipoprotein subfractions in an adult population. *J Clin Lab Anal* 2006;20:113-117.
116. Jia L, Bai H, Fu M, Xu Y, Yang Y, Long S. Relationship between plasma HDL subclasses distribution and apoA-I gene polymorphisms. *Clin Chim Acta* 2005;360:37-45.
117. Brinton EA, Eisenberg S, Breslow JL. Human HDL cholesterol levels are determined by apoA-I fractional catabolic rate, which correlates inversely with estimates of HDL particle size. Effects of gender, hepatic and lipoprotein lipases, triglyceride and insulin levels, and body fat distribution. *Arterioscler Thromb* 1994;14:707-720.

118. Despres JP. Abdominal obesity as important component of insulin-resistance syndrome. *Nutrition* 1993;9:452-459.
119. Tall AR. Plasma cholesteryl ester transfer protein and high-density lipoproteins: new insights from molecular genetic studies. *J Intern Med* 1995;237:5-12.
120. Packard CJ, Demant T, Stewart JP, Bedford D, Caslake MJ, Schwertfeger G, Bedynek A, Shepherd J, Seidel D. Apolipoprotein B metabolism and the distribution of VLDL and LDL subfractions. *J Lipid Res* 2000;41:305-318.
121. Chan DC, Barrett HP, Watts GF. Dyslipidemia in visceral obesity: mechanisms, implications, and therapy. *Am J Cardiovasc Drugs* 2004;4:227-246.
122. Ginsberg HN, Huang LS. The insulin resistance syndrome: impact on lipoprotein metabolism and atherothrombosis. *J Cardiovasc Risk* 2000;7:325-331.
123. Ji J, Watts GF, Johnson AG, Chan DC, Ooi EM, Rye KA, Serone AP, Barrett PH. High-density lipoprotein (HDL) transport in the metabolic syndrome: application of a new model for HDL particle kinetics. *J Clin Endocrinol Metab* 2006;91:973-979.
124. Tchernof A, Lamarche B, Prud'homme D, Nadeau A, Moorjani S, Labrie F, Lupien PJ, Despres JP. The dense LDL phenotype. Association with plasma lipoprotein levels, visceral obesity, and hyperinsulinemia in men. *Diabetes Care* 1996;19:629-637.
125. Krotkiewski M, Bjorntorp P, Sjostrom L, Smith U. Impact of obesity on metabolism in men and women. Importance of regional adipose tissue distribution. *J Clin Invest* 1983;72:1150-1162.
126. Anderson AJ, Sobocinski KA, Freedman DS, Barboriak JJ, Rimm AA, Gruchow HW. Body fat distribution, plasma lipids, and lipoproteins. *Arteriosclerosis* 1988;8:88-94.
127. Despres JP, Moorjani S, Tremblay A, Ferland M, Lupien PJ, Nadeau A, Bouchard C. Relation of high plasma triglyceride levels associated with obesity and regional adipose tissue distribution to plasma lipoprotein-lipid composition in premenopausal women. *Clin Invest Med* 1989;12:374-380.
128. Soro A, Jauhiainen M, Ehnholm C, Taskinen MR. Determinants of low HDL levels in familial combined hyperlipidemia. *J Lipid Res* 2003;44:1536-1544.
129. Carr MC, Ayyobi AF, Murdoch SJ, Deeb SS, Brunzell JD. Contribution of hepatic lipase, lipoprotein lipase, and cholesteryl ester transfer protein to LDL and HDL heterogeneity in healthy women. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2002;22:667-673.
130. Ruel IL, Gaudet D, Perron P, Bergeron J, Julien P, Lamarche B. Characterization of LDL particle size among carriers of a defective or a null mutation in the lipoprotein

- lipase gene: the Quebec LIPD Study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2002;22:1181-1186.
131. Ruel IL, Gaudet D, Perron P, Bergeron J, Julien P, Lamarche B. Effect of obesity on HDL and LDL particle sizes in carriers of the null P207L or defective D9N mutation in the lipoprotein lipase gene: the Quebec LipD Study. *Int J Obes Relat Metab Disord* 2003;27:631-637.
 132. Goldstein JL. Familial hypercholesterolemia. In: Hobbs HH BM, ed. *The Metabolic Basis of Inherited Diseases*. New York: 2000:2863-2913.
 133. Hogue JC, Lamarche B, Gaudet D, Tremblay AJ, Despres JP, Gagne C, Couture P. Genotype of the mutant LDL receptor allele is associated with LDL particle size heterogeneity in familial hypercholesterolemia. *Atherosclerosis* 2006;184:163-170.
 134. Stampfer MJ, Sacks FM, Salvini S, Willett WC, Hennekens CH. A prospective study of cholesterol, apolipoproteins, and the risk of myocardial infarction. *N Engl J Med* 1991;325:373-381.
 135. Rainwater DL, Martin LJ, Comuzzie AG. Genetic control of coordinated changes in HDL and LDL size phenotypes. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2001;21:1829-1833.
 136. Bosse Y, Feitosa MF, Despres JP, Lamarche B, Rice T, Rao DC, Bouchard C, Perusse L, Vohl MC. Detection of a major gene effect for LDL peak particle diameter and association with apolipoprotein H gene haplotype. *Atherosclerosis* 2005;182:231-239.
 137. Demant T, Bedford D, Packard CJ, Shepherd J. Influence of apolipoprotein E polymorphism on apolipoprotein B-100 metabolism in normolipemic subjects. *J Clin Invest* 1991;88:1490-1501.
 138. Paradis ME, Hogue MO, Mauger JF, Couillard C, Couture P, Bergeron N, Lamarche B. Visceral adipose tissue accumulation, secretory phospholipase A2-IIA and atherogenicity of LDL. *Int J Obes (Lond)* 2006;30:1615-1622.
 139. Shadid S, LaForge R, Otvos JD, Jensen MD. Treatment of obesity with diet/exercise versus pioglitazone has distinct effects on lipoprotein particle size. *Atherosclerosis* 2006;188:370-376.
 140. Vasisht S, Pant MC, Srivastava LM. Effect of alcohol on serum lipids & lipoproteins in male drinkers. *Indian J Med Res* 1992;96:333-337.
 141. Stampfer MJ, Sacks FM, Salvini S, Willett WC, Hennekens CH. A prospective study of cholesterol, apolipoproteins, and the risk of myocardial infarction. *N Engl J Med* 1991;325:373-381.
 142. Ruano G, Seip RL, Windemuth A, Zollner S, Tsongalis GJ, Ordovas J, Otvos J, Bilbie C, Miles M, Zoeller R, Visich P, Gordon P, Angelopoulos TJ, Pescatello L,

- Moyna N, Thompson PD. Apolipoprotein A1 genotype affects the change in high density lipoprotein cholesterol subfractions with exercise training. *Atherosclerosis* 2006;185:65-69.
143. Ordovas JM, Corella D, Demissie S, Cupples LA, Couture P, Coltell O, Wilson PW, Schaefer EJ, Tucker KL. Dietary fat intake determines the effect of a common polymorphism in the hepatic lipase gene promoter on high-density lipoprotein metabolism: evidence of a strong dose effect in this gene-nutrient interaction in the Framingham Study. *Circulation* 2002;106:2315-2321.
 144. Wood PD, Haskell WL. The effect of exercise on plasma high density lipoproteins. *Lipids* 1979;14:417-427.
 145. Kraus WE, Houmard JA, Duscha BD, Knetzger KJ, Wharton MB, McCartney JS, Bales CW, Henes S, Samsa GP, Otvos JD, Kulkarni KR, Slentz CA. Effects of the amount and intensity of exercise on plasma lipoproteins. *N Engl J Med* 2002;347:1483-1492.
 146. Williams PT, Wood PD, Krauss RM, Haskell WL, Vranizan KM, Blair SN, Terry R, Farquhar JW. Does weight loss cause the exercise-induced increase in plasma high density lipoproteins? *Atherosclerosis* 1983;47:173-185.
 147. Schwartz RS, Brunzell JD. Increase of adipose tissue lipoprotein lipase activity with weight loss. *J Clin Invest* 1981;67:1425-1430.
 148. Nikkila EA, Taskinen MR, Kekki M. Relation of plasma high-density lipoprotein cholesterol to lipoprotein-lipase activity in adipose tissue and skeletal muscle of man. *Atherosclerosis* 1978;29:497-501.
 149. Nikkila EA, Kuusi T, Taskinen M.R. In: *Role of Lipoprotein Lipase and Hepatic Endothelial Lipase in the Metabolism of HDL: a Novel Concept on Cholesterol Transport in HDL Cycle*. 1982.
 150. Marniemi J, Dahlstrom S, Kvist M, Seppanen A, Hietanen E. Dependence of serum lipid and lecithin: cholesterol acyltransferase levels on physical training in young men. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol* 1982;49:25-35.
 151. Altena TS, Michaelson JL, Ball SD, Guilford BL, Thomas TR. Lipoprotein subfraction changes after continuous or intermittent exercise training. *Med Sci Sports Exerc* 2006;38:367-372.
 152. Hanak V, Munoz J, Teague J, Stanley A, Jr., Bittner V. Accuracy of the triglyceride to high-density lipoprotein cholesterol ratio for prediction of the low-density lipoprotein phenotype B. *Am J Cardiol* 2004;94:219-222.
 153. Bhalodkar NC, Blum S, Enas EA. Accuracy of the ratio of triglycerides to high-density lipoprotein cholesterol for predicting low-density lipoprotein cholesterol

- particle sizes, phenotype B, and particle concentrations among Asian Indians. *Am J Cardiol* 2006;97:1007-1009.
154. Dobiasova M, Frohlich J. The plasma parameter log (TG/HDL-C) as an atherogenic index: correlation with lipoprotein particle size and esterification rate in apoB-lipoprotein-depleted plasma (FER(HDL)). *Clin Biochem* 2001;34:583-588.
 155. Boizel R, Benhamou PY, Lardy B, Laporte F, Foulon T, Halimi S. Ratio of triglycerides to HDL cholesterol is an indicator of LDL particle size in patients with type 2 diabetes and normal HDL cholesterol levels. *Diabetes Care* 2000;23:1679-1685.
 156. Hattori Y, Suzuki M, Tsushima M, Yoshida M, Tokunaga Y, Wang Y, Zhao D, Takeuchi M, Hara Y, Ryomoto KI, Ikebuchi M, Kishioka H, Mannami T, Baba S, Harano Y. Development of approximate formula for LDL-cholesterol, LDL-apo B and LDL-cholesterol/LDL-apo B as indices of hyperapobetalipoproteinemia and small dense LDL. *Atherosclerosis* 1998;138:289-299.
 157. Furuya D, Yagihashi A, Nasu S, Endoh T, Nakamura T, Kaneko R, Kamagata C, Kobayashi D, Watanabe N. LDL particle size by gradient-gel electrophoresis cannot be estimated by LDL-cholesterol/apolipoprotein B ratios. *Clin Chem* 2000;46:1202-1203.
 158. Furuya D, Yagihashi A, Nasu S, Endoh T, Nakamura T, Kaneko R, Kamagata C, Kobayashi D, Watanabe N. LDL particle size by gradient-gel electrophoresis cannot be estimated by LDL-cholesterol/apolipoprotein B ratios. *Clin Chem* 2000;46:1202-1203.
 159. Li Z, McNamara JR, Fruchart JC, Luc G, Bard JM, Ordovas JM, Wilson PW, Schaefer EJ. Effects of gender and menopausal status on plasma lipoprotein subspecies and particle sizes. *J Lipid Res* 1996;37:1886-1896.
 160. Rainwater DL, Martin LJ, Comuzzie AG. Genetic control of coordinated changes in HDL and LDL size phenotypes. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2001;21:1829-1833.
 161. Ruel IL, Gaudet D, Perron P, Bergeron J, Julien P, Lamarche B. Effect of obesity on HDL and LDL particle sizes in carriers of the null P207L or defective D9N mutation in the lipoprotein lipase gene: the Quebec LipD Study. *Int J Obes Relat Metab Disord* 2003;27:631-637.
 162. Shadid S, LaForge R, Otvos JD, Jensen MD. Treatment of obesity with diet/exercise versus pioglitazone has distinct effects on lipoprotein particle size. *Atherosclerosis* 2006;188:370-376.
 163. Ruano G, Seip RL, Windemuth A, Zollner S, Tsongalis GJ, Ordovas J, Otvos J, Bilbie C, Miles M, Zoeller R, Visich P, Gordon P, Angelopoulos TJ, Pescatello L, Moyna N, Thompson PD. Apolipoprotein A1 genotype affects the change in high

density lipoprotein cholesterol subfractions with exercise training. *Atherosclerosis* 2006;185:65-69.

164. Ordovas JM, Corella D, Demissie S, Cupples LA, Couture P, Coltell O, Wilson PW, Schaefer EJ, Tucker KL. Dietary fat intake determines the effect of a common polymorphism in the hepatic lipase gene promoter on high-density lipoprotein metabolism: evidence of a strong dose effect in this gene-nutrient interaction in the Framingham Study. *Circulation* 2002;106:2315-2321.
165. Shadid S, Laforge R, Otvos JD, Jensen MD. Treatment of obesity with diet/exercise versus pioglitazone has distinct effects on lipoprotein particle size. *Atherosclerosis* 2006;188:370-376.