

JOSÉE LEVESQUE

**IMPACT D'UN TRAITEMENT AVEC FENOFIBRATE  
OU ATORVASTATIN SUR LA CINÉTIQUE *IN VIVO*  
DE LA PROTÉINE C-RÉACTIVE**

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

2009

## Résumé

Les travaux de maîtrise présentés dans ce mémoire ont permis d'évaluer le métabolisme *in vivo* de la protéine C-réactive (CRP) chez des patients diabétiques de type 2, en réponse à un traitement avec le fenofibrate ou l'atorvastatin, ce qui n'avait jamais encore été fait. Cela a permis d'identifier avec une relativement bonne certitude le mécanisme par lequel les concentrations plasmatiques de CRP sont réduites suite à un traitement avec une statine ou un fibrate. Ces travaux suggèrent donc qu'une baisse de production endogène du CRP, et non une augmentation de sa clairance, soit responsable des réductions plasmatiques de CRP. De plus, nos observations supportent une association entre une réduction des concentrations plasmatiques de CRP et une amélioration du contrôle glycémique, ce qui renforce l'importance de l'inflammation dans le développement du diabète de type 2 et de ses complications. D'autres études sont nécessaires afin de valider ces données.

## Abstract

The main objective of this study was to evaluate the *in vivo* metabolism of C-reactive protein (CRP) in men with type 2 diabetes in response to a treatment with either fenofibrate or atorvastatin. CRP *in vivo* metabolism had never been studied in response to any pharmacological treatment. The mechanism responsible for treatment-induced plasma CRP reductions was identified. Indeed, the results of this study suggest that plasma CRP reductions are tributary to a decrease in CRP production by the liver, whereas CRP catabolic rate does not have a significant impact on plasma concentrations. Our observations also support an association between plasma CRP reductions and an improvement of the glycemic control, emphasizing the importance of inflammation in the development of diabetes and its complications. Larger studies are warranted to validate these findings.

## **Avant-Propos**

### ***Remerciements***

Je profite de cette occasion pour remercier les personnes qui ont contribué à la réussite de ce projet et qui en ont fait une expérience, non seulement enrichissante, mais également mémorable. Le présent mémoire représente le fruit de travaux de maîtrise réalisés sous la supervision des Drs Benoît Lamarche et Patrick Couture, mes directeur et codirecteur de recherche respectivement.

En premier lieu, j'aimerais remercier le Dr Benoît Lamarche de m'avoir offert, il y a 4 ans, la chance de m'initier à la recherche au sein de son équipe. Avec son enthousiasme débordant et sa rigueur scientifique, il a non seulement été un modèle de réussite mais il a également su piquer mon intérêt pour la recherche, lequel orientera probablement mes projets futurs. Je lui suis reconnaissante d'avoir su aussi bien me diriger malgré mon parcours un peu moins conventionnel de MD/MSc et également de m'avoir offert un projet de maîtrise d'intérêt certain pour ma formation.

En second lieu, j'aimerais remercier le Dr Patrick Couture, clinicien-chercheur à la Clinique des maladies lipidiques du CHUL, d'avoir accepté de codiriger ces travaux de maîtrise. Il est pour moi un modèle à suivre tant comme médecin-clinicien que comme chercheur accompli. Je tiens aussi à souligner ma reconnaissance envers le Fonds de la recherche en santé du Québec (FRSQ) pour le soutien financier qui m'a été accordé (bourse de formation MD/MSc).

La collaboration d'autres personnes a également été nécessaire à la réalisation de ce projet. Jean-François Mauger, étudiant au doctorat sous la supervision du Dr Benoît Lamarche, m'a impressionnée par son esprit scientifique, comme en témoigne la technique d'isolation qu'il a brillamment mise au point. J'ai beaucoup apprécié son expérience, son support et les conseils reçus pendant toute l'élaboration de ces travaux, chaque étape de mon projet de maîtrise étant un nouveau défi. Jean-Charles Hogue, étudiant au doctorat sous la supervision du Dr Patrick Couture, a réalisé l'étude Lipidil Lipitor (3LR) dont j'ai fait cette seconde analyse et il m'a été d'une aide certaine lors de la rédaction de mon article de

maîtrise. J'aimerais aussi remercier Johanne Marin, pour son aide précieuse et incontestable au laboratoire, particulièrement pour l'utilisation du GC-MS, mais également pour sa disponibilité et son support, ainsi qu'André Tremblay, pour son aide au moment d'imprévu et sa disponibilité à répondre à mes questions. Enfin, j'aimerais également remercier Geneviève Dumont et autres collègues de laboratoire de leur agréable compagnie.

En terminant, je tiens tout spécialement à remercier mon amoureux Mathieu Falardeau, sa sœur Julie, ma famille et mes amis pour leur support inconditionnel, particulièrement au cours des dernières années.

### ***Contributions***

Ce mémoire a été rédigé avec insertion d'un article scientifique. Une introduction présente un résumé du développement de l'athérosclérose, du concept de syndrome métabolique et du traitement des facteurs de risque cardiovasculaires, en insistant sur le rôle de la protéine C-réactive et des statines dans l'évaluation et la gestion du risque cardiovasculaire. Le corps du mémoire est constitué du manuscrit de l'article scientifique et enfin le dernier chapitre, d'une conclusion générale où sont discutés les principaux résultats obtenus.

L'article scientifique issu de ces travaux de maîtrise a nécessité la collaboration de certaines personnes. Les sujets de cinétique faisant l'objet de cet article proviennent de l'étude Lipidil Lipitor (3LR) réalisée par Jean-Charles Hogue, sous la supervision du Dr Patrick Couture. La nouvelle technique d'isolation du CRP à partir d'une fraction plasmatique, laquelle a permis d'étudier le métabolisme *in vivo* du CRP, a été mise au point par Jean-François Mauger. J'ai effectué, pour chacune des cinétiques, les gels d'isolation du CRP et j'ai participé à l'analyse de l'enrichissement du CRP à l'aide du GC-MS, en collaboration avec Johanne Marin. Finalement, j'ai effectué la compilation et la modélisation des données, les analyses statistiques et la rédaction de l'article. Ces travaux ont été supervisés par les Drs Benoît Lamarche et Patrick Couture.

Enfin, sous la supervision du Dr Benoît Lamarche, j'ai aussi effectué la rédaction d'un article de synthèse portant sur le syndrome métabolique, lequel a été inséré dans un chapitre de l'introduction portant sur ce sujet.

*À la mémoire de Louis Falardeau  
et Françoise Rondeau*

# Table des matières

RÉSUMÉ.....	II
ABSTRACT .....	III
AVANT-PROPOS .....	IV
<i>REMERCIEMENTS</i> .....	IV
<i>CONTRIBUTIONS</i> .....	V
TABLE DES MATIÈRES.....	VII
LISTE DES TABLEAUX .....	IX
LISTE DES FIGURES.....	X
LISTE DES ABRÉVIATIONS.....	XI
INTRODUCTION .....	1
<b>CHAPITRE 1 : PATHOGENÈSE DE L'ATHÉROSCLÉROSE.....</b>	<b>3</b>
1.1 INITIATION DE L'ATHÉROSCLÉROSE : LA DYSFONCTION ENDOTHÉLIALE.....	3
1.2 PROGRESSION DE L'ATHÉROSCLÉROSE ET COMPLICATIONS : IMPORTANCE DE L'INFLAMMATION.....	4
1.3 FACTEURS DE RISQUE ET BIOMARQUEURS CARDIOVASCULAIRES TRADITIONNELS.....	7
1.4 FACTEURS DE RISQUE NON TRADITIONNELS ET BIOMARQUEURS CARDIOVASCULAIRES ÉMERGEANTS .....	8
1.4.1 <i>CRP comme marqueur des maladies cardiovasculaires</i> .....	8
1.4.2 <i>Autres facteurs de risque et biomarqueurs cardiovasculaires émergents</i> .....	11
<b>CHAPITRE 2 : CRP DANS LE SYNDROME MÉTABOLIQUE ET LE DIABÈTE DE TYPE 2 .....</b>	<b>14</b>
2.1 CRP DANS LE SYNDROME MÉTABOLIQUE .....	14
2.2 CRP DANS LE DIABÈTE DE TYPE 2 .....	15
<b>CHAPITRE 3 : TRAITEMENTS DES FACTEURS DE RISQUE CARDIOVASCULAIRES .....</b>	<b>18</b>
3.1 MODIFICATIONS DES HABITUDES DE VIE .....	18
3.1.1 <i>Modifications des habitudes de vie et CRP</i> .....	20
3.2 TRAITEMENTS PHARMACOLOGIQUES .....	20
3.2.1 <i>PPARs</i> .....	23
3.2.1.1 PPAR-gamma (Thiazolidinediones).....	24
3.2.1.2 PPAR-alpha (Fibrates).....	25
3.2.2 <i>Statines</i> .....	29
3.2.2.1 Statines et bénéfices cardiovasculaires dépendants des lipides.....	30
3.2.2.2 Statines et bénéfices cardiovasculaires indépendants des lipides : effets pléiotropes.....	31
3.2.2.3 Influence de la nutrition dans la réponse aux statines.....	36
3.2.2.4 Influence de la génétique dans la réponse aux statines.....	39
<b>CHAPITRE 4 : ÉTUDE DE LA CINÉTIQUE DES PROTÉINES.....</b>	<b>43</b>
4.1 CINÉTIQUE DU CRP .....	44
4.2 OBJECTIFS DES TRAVAUX DE RECHERCHE.....	45
<b>CHAPITRE 5 : CINÉTIQUE <i>IN VIVO</i> DE LA PROTÉINE C-RÉACTIVE CHEZ DES HOMMES AVEC DIABÈTE DE TYPE 2 : RÉPONSE À UN TRAITEMENT AVEC FENOFIBRATE OU ATORVASTATIN.....</b>	<b>46</b>
RÉSUMÉ.....	47

<b>IN VIVO KINETICS OF C-REACTIVE PROTEIN IN MEN WITH TYPE 2 DIABETES: RESPONSE TO TREATMENT WITH FENOFIBRATE OR ATORVASTATIN .....</b>	<b>48</b>
ABSTRACT .....	49
INTRODUCTION .....	50
METHODS .....	51
<i>Subjects</i> .....	51
<i>Study Design</i> .....	51
<i>Lipid and CRP Measurements</i> .....	51
<i>Kinetic Study</i> .....	52
<i>CRP Isolation</i> .....	52
<i>Isotopic enrichment measurements</i> .....	53
<i>Determination of CRP kinetics</i> .....	53
<i>Statistical Analysis</i> .....	54
RESULTS .....	54
DISCUSSION .....	55
ACKNOWLEDGMENTS .....	59
REFERENCES .....	60
FIGURES LEGEND .....	62
<b>CHAPITRE 6 : CONCLUSION GENERALE .....</b>	<b>68</b>
<b>RÉFÉRENCES .....</b>	<b>75</b>
<b>ANNEXE A. LE SYNDROME METABOLIQUE : DEFINITIONS, PREVALENCE ET PRISE EN CHARGE .....</b>	<b>85</b>
ABSTRACT .....	86
INTRODUCTION .....	87
DEFINITIONS OF THE METABOLIC SYNDROME .....	88
WHICH DEFINITION TO FAVOR? .....	92
COMPARISON OF THE DEFINITIONS OF THE METABOLIC SYNDROME .....	93
MANAGEMENT OF THE METABOLIC SYNDROME .....	96
NUTRIGENOMICS AND THE METABOLIC SYNDROME .....	100
CONCLUSION .....	101
REFERENCES .....	102

## Liste des tableaux

TABLEAU 1-1 : RECOMMANDATIONS DE AHA-CDC POUR LES MESURES DES CONCENTRATIONS PLASMATIQUES DE CRP CHEZ LES PERSONNES AVEC UN RISQUE CARDIOVASCULAIRE INTERMÉDIAIRE TEL QU'ÉVALUÉ PAR LES ALGORITHMES TRADITIONNELS (ADAPTÉ DE [30]).	11
TABLEAU 2-1 : SEUILS DE GLYCÉMIES PLASMATIQUES UTILISÉS POUR LE DIAGNOSTIC D'ANOMALIE DE LA GLYCÉMIE À JEUN, D'INTOLÉRANCE AU GLUCOSE ET DE DIABÈTE. (ADAPTÉ DE CANADIAN DIABETES ASSOCIATION 2003, CLINICAL PRACTICE GUIDELINES FOR THE PREVENTION AND MANAGEMENT OF DIABETES IN CANADA).	17
TABLEAU 3-1 : DIFFÉRENTS MÉDICAMENTS HYPOLIPÉMIANTS UTILISÉS DANS LE TRAITEMENT DES DYSLIPIDÉMIES ET LEURS EFFETS SUR LES CONCENTRATIONS PLASMATIQUES DE CRP (ADAPTÉ DE [21]).	41
TABLEAU 3-2 : RÉSUMÉ DE DIFFÉRENTS POLYMORPHISMES GÉNÉTIQUES PROPOSÉS QUI AFFECTERAIENT L'EFFICACITÉ DES STATINES.	42

## Liste des figures

FIGURE 3-1 : EFFETS ANTI-ATHEROSCLEROTIQUES DU FENOFIBRATE, INCLUANT SES EFFETS SUR LES LIPIDES SANGUINS ET SES EFFETS PLEIOTROPES (ADAPTEE DE [11]). .....	29
---	----

## Liste des abréviations

ABCG8 : ATP binding cassette sous-famille G8  
ACE : enzyme de conversion de l'angiotensine  
Apo : apolipoprotéine  
AT1 : angiotensine 1  
AVC : accident vasculaire cérébral  
BRA : bloqueur du récepteur de l'angiotensine  
CCR2 : C-C chemokine receptor 2  
CETP : protéine de transfert du cholestérol estérifié, cholesterol ester-transfer protein  
CRP : protéine C-réactive  
CYP3A4 : sous-famille 3A du cytochrome P450  
CYP450 : cytochrome P450  
eNOS : synthétase d'oxyde nitrique endothéliale  
ET-1 : endothéline-1  
FCR : taux de catabolisme, fractional catabolic rate  
GC-MS : appareil de chromatographie en phase gazeuse couplé à un spectromètre de masse  
HDL : lipoprotéines de haute densité  
HDL-C : cholestérol des lipoprotéines de haute densité  
HGOP : hyperglycémie orale provoquée  
HMGCR (HMG-CoA réductase) :  $\beta$ -hydroxy- $\beta$ -methylglutaryl coenzyme A réductase  
HTA : hypertension artérielle  
IDL : lipoprotéine de densité intermédiaire  
IECA : inhibiteur de l'enzyme de conversion de l'angiotensine  
Il-6 : interleukine-6  
IMC : indice de masse corporelle (BMI)  
INF- $\gamma$  : interféron- $\gamma$   
LDL : lipoprotéines de faible densité  
LDL-C : cholestérol des lipoprotéines de faible densité  
LDLox : lipoprotéines de faible densité oxydées  
LDLR : récepteur des lipoprotéines de faible densité, LDL  
LH : lipase hépatique  
Lp(a) : lipoprotéine (a)  
LPL : lipoprotéine lipase  
Lp-PLA<sub>2</sub> : phospholipase A<sub>2</sub> associée aux lipoprotéines  
M-CSF : macrophage colony-stimulating factor  
MCV : maladies cardiovasculaires  
MCP-1 : monocyte chemoattractant protein-1  
MetS : syndrome métabolique  
MMP : métalloprotéinases de matrice  
MPO : myeloperoxydase  
NCEP ATP III : National Cholesterol Education Program Adult Treatment Panel III  
NO : oxyde nitrique  
PAI-1 : inhibiteur 1 de l'activateur du plasminogène  
PPAR : peroxisome proliferator activated receptors

PR : taux de production, production rate  
ROS : espèces réactives d'oxygène  
SMC : cellules musculaires lisses  
SNP : polymorphisme nucléotidique  
TA : tension artérielle  
Taille hyperTG : taille hypertriglycéridémique  
TF : facteur tissulaire  
TG : triglycéride  
TNF- $\alpha$  : facteur de nécrose tumorale- $\alpha$   
t-PA : activateur du plasminogène tissulaire  
TRL : lipoprotéines riches en triglycérides  
TXA<sub>2</sub> : thromboxane A<sub>2</sub>  
TZD : thiazolidinediones  
VCAM-1 : molécules vasculaires d'adhésion cellulaire-1

## Introduction

Les maladies cardiovasculaires (MCV) sont la première cause de mortalité et morbidité dans les pays industrialisés [1]. La baisse des concentrations plasmatiques de cholestérol des lipoprotéines de faible densité (LDL-C) par une approche pharmacologique de plus en plus agressive représente pour le moment l'approche préventive la plus utilisée. Par ailleurs, plus de la moitié des événements cardiovasculaires surviennent chez des personnes ayant des niveaux de cholestérol relativement normaux [1]. Les recherches les plus récentes suggèrent que l'inflammation joue un rôle très important à chacune des étapes de la formation de la plaque d'athérosclérose : de la dysfonction endothéliale jusqu'à la rupture de la plaque [1]. La protéine C-réactive (CRP), une protéine non spécifique de la phase aiguë de l'inflammation, a été proposée comme nouveau marqueur des MCV et de ses complications [2]. Les études ont démontré que les individus avec des concentrations plasmatiques élevées de CRP ( $> 3.0$  mg/L) sont davantage à risque de développer des MCV que les individus avec des concentrations constitutives de CRP inférieures à 1.0 mg/L [2].

Le diabète de type 2 est associé à une dyslipidémie athérogène, caractérisée par des niveaux plasmatiques élevés de triglycérides (TG), des niveaux diminués de cholestérol des lipoprotéines de haute densité (HDL-C) et des particules LDL petites et denses [3]. De plus, le diabète de type 2 est associé à un état pro-inflammatoire [4]. Ces deux facteurs confèrent un risque cardiovasculaire accru aux diabétiques de type 2. Des niveaux augmentés de CRP sont associés à plusieurs composantes du syndrome métabolique (MetS) [5, 6], avec un glucose à jeun détérioré et avec un diabète de type 2 diagnostiqué [7].

Les fibrates et les inhibiteurs de la  $\beta$ -hydroxy- $\beta$ -methylglutaryl coenzyme A réductase (HMG-CoA réductase), aussi appelés statines, sont des médicaments fréquemment utilisés dans le traitement de la dyslipidémie diabétique. Les traitements avec les statines ont démontré des bénéfices non équivoques dans la prévention primaire et secondaire des MCV, autant en termes de diminution de mortalité que de morbidité. Les bénéfices cardiovasculaires des statines seraient produits en partie par leurs puissants effets hypocholestérolémiant, mais également par des effets pléiotropes indépendants de cette

réduction des lipides sanguins. Les effets pléiotropes des statines incluent des propriétés anti-inflammatoires, démontrées par des réductions drastiques des concentrations de CRP (13-50%) après traitement, un effet qui serait indépendant de la réduction en LDL-C [8, 9]. Il a été suggéré que la survie sans événement cardiovasculaire, après traitement avec une statine, soit la plus élevée chez les personnes avec des niveaux de CRP diminués (< 2mg/L) et des niveaux diminués de LDL-C (< 1.8mmol/L) [2], un objectif thérapeutique potentiel pour le suivi du traitement avec une statine. D'autre part, les fibrates sont des activateurs de récepteurs nucléaires appelés peroxisome proliferator activated receptors  $\alpha$  (PPAR $\alpha$ ). L'activation de ces récepteurs nucléaires stimule la transcription de différents gènes qui favorisent le métabolisme des lipides, particulièrement le catabolisme des lipoprotéines riches en triglycérides (TRL) [10]. Les fibrates auraient aussi des effets pléiotropes indépendants de leurs effets hypolipémiants [11], mais les propriétés anti-inflammatoires des fibrates, incluant leur effet sur les concentrations de CRP, demeurent controversées. Des études récentes ont cependant démontré que le fenofibrate diminuait significativement les concentrations plasmatiques de CRP, notamment chez des patients avec intolérance au glucose [12] et chez des diabétiques de type 2 [13].

L'objet de ce mémoire consiste en une analyse secondaire d'une étude qui visait à évaluer l'impact de l'atorvastatin et du fenofibrate sur l'inflammation, l'adhésion et les marqueurs d'oxydation plasmatiques chez des sujets diabétiques de type 2 [14]. Dans l'étude entière, le traitement avec l'atorvastatin avait significativement diminué les niveaux de CRP d'en moyenne 26.9%, alors que le fenofibrate n'avait pas eu d'impact significatif sur le CRP [14]. Ces travaux de maîtrise avaient pour but de comparer le métabolisme *in vivo* du CRP en réponse à un traitement avec l'atorvastatin ou le fenofibrate chez des hommes avec diabète de type 2, afin de tenter de mieux comprendre la physiopathologie des processus inflammatoires associés au diabète et aux MCV. Au meilleur de nos connaissances, le métabolisme *in vivo* du CRP avait fait l'objet d'une étude, mais n'avait jamais été étudié en réponse à un traitement pharmacologique. Ces travaux de maîtrise ont mené à la rédaction d'un article intitulé *In vivo kinetics of C-reactive protein in men with type 2 diabetes: Response to treatment with fenofibrate or atorvastatin*, qui sera soumis sous peu pour publication à la revue *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology* (ATVB).

# **CHAPITRE 1 : Pathogenèse de l'athérosclérose**

Les artères normales ont une structure trilaminaire caractéristique, composée de l'intima, la media et l'adventice. L'intima est la couche la plus interne du vaisseau et elle est composée de tissu conjonctif formant une matrice extracellulaire et d'une couche unique de cellules endothéliales, appelé endothélium, en contact direct avec le sang. La media, qui est séparée de l'intima par la limitante élastique interne, est composée essentiellement de plusieurs couches de cellules musculaires lisses (SMC) à l'intérieur d'une matrice riche en élastine et en collagène [1]. La limitante élastique externe délimite la media de l'adventice, la couche la plus externe du vaisseau qui est faite majoritairement de collagène et de fibroblastes.

Pendant longtemps, l'athérosclérose a été vue comme un processus simple dont la physiopathologie était prédominée par l'accumulation de lipides dans les parois vasculaires, ce qui finissait par obstruer la lumière artérielle et résulter en des MCV. Il a maintenant été décrit que l'endothélium possède des fonctions endocrines, paracrines et autocrines, lesquelles ont un impact direct sur le développement de l'athérosclérose. Ainsi, le processus d'athérosclérose est maintenant considéré comme un processus complexe et dynamique impliquant de nombreux type de cellules : les cellules endothéliales et les cellules immunitaires ont un rôle actif dans le développement de l'athérosclérose. L'inflammation joue un rôle prédominant autant dans la genèse de l'athérosclérose que ses complications. En effet, des évidences récentes suggèrent que l'inflammation joue un rôle très important à chacune des étapes de la formation de la plaque athéromateuse : de la strie lipidique jusqu'à la rupture de la plaque [1].

## **1.1 Initiation de l'athérosclérose : la dysfonction endothéliale**

L'endothélium artériel normal est une barrière semi-perméable qui permet des échanges entre le sang et les cellules et qui sécrète des substances vasoactives/vasomotrices, notamment l'oxyde nitrique (NO). Le NO dérivé de l'endothélium, produit principalement

par la synthétase d'oxyde nitrique endothéliale (eNOS), est indispensable au bon fonctionnement des vaisseaux sanguins puisqu'il inhibe plusieurs composantes du processus athérosclérotique : le NO provoque une relaxation vasculaire, inhibe l'agrégation plaquettaire, inhibe la prolifération des SMC au niveau des vaisseaux et inhibe les interactions endothélium-leucocyte [15]. De plus, le NO est un puissant antioxydant qui élimine les espèces réactives d'oxygène (ROS), dont le superoxyde et les radicaux hydroxy, lesquels endommagent l'endothélium vasculaire.

Ainsi, le NO contribue à la vasodilatation du vaisseau sanguin, alors que d'autres substances ont un effet antagoniste pour favoriser une vasoconstriction, notamment l'endothéline-1 (ET-1) et l'angiotensine II. À l'état normal physiologique, le tonus vasculaire est maintenu en équilibre grâce à une balance parfaite entre la vasodilatation et la vasoconstriction. Au contraire, dans les états pathologiques, le déséquilibre favorise habituellement une prédominance de la vasoconstriction. Spécifiquement, la dysfonction endothéliale, l'une des premières manifestations du processus d'athérosclérose, provoque une vasoconstriction paradoxale du vaisseau sanguin secondaire à une carence relative en NO provenant de l'endothélium [16]. Puisque le NO a des effets au niveau de plusieurs facettes du processus athérosclérotique, une diminution de sa biodisponibilité a des conséquences importantes sur la santé vasculaire.

## **1.2 Progression de l'athérosclérose et complications : importance de l'inflammation**

La formation d'athérosclérose est favorisée aux endroits où les conditions hémodynamiques et mécaniques causent une turbulence du flot sanguin, ce qui provoque des microlésions de l'endothélium vasculaire. La turbulence du flot sanguin est particulièrement importante aux sites de bifurcations des vaisseaux sanguins majeurs. Les bris de l'endothélium augmentent l'inflammation locale, ce qui augmente la perméabilité vasculaire et favorise la migration de lipoprotéines et de cellules inflammatoires à l'intérieur de l'espace sous-endothélial.

L'endothélium vasculaire normal ne favorise pas les contacts prolongés avec les leucocytes, incluant les monocytes sanguins. Toutefois, les stimuli inflammatoires, tels que les cytokines inflammatoires, augmentent la perméabilité vasculaire et activent les cellules endothéliales qui augmentent leur expression de différentes molécules d'adhésion cellulaires. Les molécules vasculaires d'adhésion cellulaire-1 (VCAM-1) favorisent l'attachement spécifique de deux classes de leucocytes : les monocytes et les lymphocytes T [1]. Ainsi, les VCAM-1 semblent jouer un rôle majeur dans le recrutement des monocytes aux sites d'initiation de l'athérome [1]. Une fois adhérents à la paroi endothéliale activée, les monocytes migrent par diapédèse entre les jonctions des cellules endothéliales vers l'intima, c'est-à-dire la tunique la plus interne de la paroi vasculaire. Ce processus se déroule sous l'influence de substances chimiotactiques comme monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1) [1]. Une fois dans l'intima, les monocytes se transforment en macrophage, lesquels expriment des récepteurs scavenger qui promeuvent la phagocytose des lipoprotéines modifiées, par exemple, par oxydation [1]. Cela donne naissance aux cellules spumeuses, caractéristiques des lésions artérielles athérosclérotiques de type strie lipidique, qui sont facilement identifiables au microscope par les gouttelettes lipidiques contenues dans leur cytoplasme [1]. Les cellules macrophages spumeuses dérivées des monocytes sanguins sont au centre de la pathogenèse de l'athérosclérose puisqu'elles sont responsables de la sécrétion des ROS et des cytokines pro-inflammatoires, responsables de l'amplification du processus inflammatoire local avec le recrutement subséquent d'autres cellules inflammatoires au niveau de l'athérome [1]. Une fois que la réaction inflammatoire est amorcée au niveau de l'endothélium vasculaire, elle a tendance à s'amplifier d'elle-même. Bref, les monocytes sanguins jouent un rôle prépondérant dans le processus athérosclérotique, bien que d'autres cellules immunitaires, notamment les lymphocytes T et les mastocytes, soient également impliquées, quoique ayant un rôle davantage secondaire.

Une plaque athérosclérotique mature est composée de deux éléments : d'un cœur lipidique et de la matrice. Le centre de la plaque, appelé cœur lipidique, est composé de gouttelettes lipidiques et de cellules spumeuses dérivées des macrophages. La matrice est formée de SMC qui proviennent de la média et qui migrent vers l'intima, où elles prolifèrent afin de former une capsule fibreuse au-dessus du cœur lipidique. Éventuellement, l'apoptose et la mort cellulaire des macrophages du cœur lipidique stimulent encore davantage le processus

inflammatoire local. Les macrophages activés sont aussi impliqués dans la genèse des complications de l'athérosclérose par leur production de métalloprotéinases de matrice (MMP). Les MMP dégradent la matrice extracellulaire de la plaque, ce qui réduit la résistance de sa capsule fibreuse et rend ainsi la plaque plus susceptible à la rupture [17]. Les lésions vulnérables sont caractérisées par un mince cap fibreux et par un cœur riche en lipides avec une accumulation importante de cellules inflammatoires, notamment des macrophages [17]. La rupture d'une plaque d'athérosclérose vulnérable est la cause majeure des syndromes coronariens aigus [15, 18]. Lors de la rupture d'une plaque, le facteur tissulaire (TF), un puissant facteur pro-coagulant sécrété par les macrophages activés, est exposé au sang et favorise la formation de thrombus [1]. Les plaquettes jouent également un rôle critique dans le développement des syndromes coronariens aigus, puisque les plaquettes circulantes sont associées à la formation de thrombus muraux aux sites de lésions vasculaires et de rupture de plaques [15]. En plus de la rupture d'une plaque, deux autres mécanismes peuvent mener à une disruption de la plaque ayant des conséquences cliniques : l'érosion superficielle et la disruption de néovaisseaux sanguins [1]. À mesure que la lumière du vaisseau sanguin rétrécit en raison de la plaque d'athérosclérose, la turbulence du flot sanguin augmente, ce qui provoque de nouveau des érosions de l'endothélium vasculaire, perpétuant ce cercle vicieux dommageable. Cela expose le facteur de von Willebrand et du collagène sous-endothélial, lesquels augmentent l'adhésion et l'activation plaquettaire, ce qui favorise la formation d'un thrombus [1]. L'augmentation de turbulence du flot sanguin favorise également la libération d'embolus à partir de tels thrombus associés aux plaques, résultant en des maladies vasculaires ischémiques. Finalement, les nouveaux vaisseaux sanguins au niveau de la plaque générés par la néoangiogenèse seraient particulièrement fragiles et auraient davantage tendance à former des microhémorragies [1]. Ainsi, l'occlusion du vaisseau par le thrombus conduira à de l'ischémie de la région irriguée par ce vaisseau. Le thrombus peut aussi se résorber en réponse à la thrombolyse endogène ou thérapeutique, mais le processus cicatriciel réduira davantage la lumière du vaisseau. À défaut de se fissurer, la plaque vulnérable peut aussi se solidifier via la prolifération des SMC, la production de collagène et la diminution du cœur lipidique, ce qui augmentera la résistance du cap fibreux et stabilisera la plaque. Il est intéressant de noter que la majorité des épisodes de rupture de plaque sont asymptomatiques, les répercussions cliniques

dépendant de la balance entre les facteurs pro-coagulants et les capacités fibrinolytiques de l'organisme [1].

### **1.3 Facteurs de risque et biomarqueurs cardiovasculaires traditionnels**

Les facteurs de risque traditionnels des MCV se divisent généralement en facteurs de risque modifiables et non modifiables. Les facteurs de risque traditionnels réfèrent aux facteurs de risque des MCV utilisés depuis plusieurs années et dont la valeur prédictive est incontestable. Avec les années, des études ont suggéré de nouveaux facteurs de risque de MCV, appelés non traditionnels.

Les facteurs de risque traditionnels des MCV sont à la base du Framingham Risk Score, un algorithme prédisant le risque sur 10 ans de développer des MCV. Les principaux facteurs de risque traditionnels non modifiables sont l'âge, le sexe et l'hérédité. Ensuite, les principaux facteurs de risque cardiovasculaires traditionnels modifiables sont l'hypertension artérielle (HTA), un cholestérol sanguin élevé (cholestérol total et LDL-C élevés), le tabagisme, l'obésité, le diabète et le stress. Finalement, les principaux facteurs protecteurs cardiovasculaires sont un HDL-C élevé, l'exercice physique régulier, les estrogènes et une consommation modérée d'alcool.

Un biomarqueur est défini comme une mesure dans le sang de molécules, de protéines ou d'enzymes qui confèrent une valeur diagnostique ou pronostique en reflétant le processus pathophysiologique sous-jacent [19]. Ainsi, un biomarqueur cardiovasculaire témoigne de la biologie vasculaire sous-jacente, plus précisément du processus athérosclérotique et/ou de ses conséquences [19]. L'utilité clinique d'un biomarqueur dépend de certains facteurs ; un biomarqueur idéal doit ajouter de façon indépendante de l'information sur le risque ou le pronostic, doit expliquer une large proportion du risque associé à la maladie, doit être reproductible, sensible, spécifique, avoir une valeur prédictive élevée s'il s'agit d'un test diagnostique, et finalement un test pour le biomarqueur doit être largement disponible [20].

Le cholestérol des lipoprotéines, particulièrement le LDL-C, est le prototype des biomarqueurs cardiovasculaires. Le LDL-C a été démontré comme un facteur de risque majeur des MCV et est à la base du traitement avec les statines [21]. Par ailleurs, plus de la moitié des événements cardiovasculaires surviennent chez des personnes ayant des niveaux de cholestérol relativement normaux [1, 19]. Les évidences les plus récentes suggèrent que l'apolipoprotéine B (apoB), la lipoprotéine associée aux LDL, est un meilleur marqueur du risque cardiovasculaire que le LDL-C et le dosage de l'apoB est maintenant disponible et accessible en clinique [22]. Beaucoup d'efforts sont consentis à identifier de nouveaux biomarqueurs qui permettraient de mieux caractériser le risque cardiovasculaire chez les individus autrement identifiés comme étant à faible risque sur la base de leur bilan lipidique.

## **1.4 Facteurs de risque non traditionnels et biomarqueurs cardiovasculaires émergents**

Selon le Framingham Heart Study, l'ajout de facteurs de risque non traditionnels, tels que l'obésité abdominale, les concentrations de TG et la glycémie à jeun, à l'algorithme Framingham Risk Score n'augmente pas sa puissance de prédiction [23]. Toutefois, dans les dernières années, plusieurs nouveaux marqueurs cardiovasculaires ont été proposés afin de mieux caractériser le risque cardiovasculaire chez les individus autrement identifiés comme étant à faible risque sur la base de leur bilan lipidique. De nouvelles recherches s'avèrent toutefois nécessaires afin de mieux caractériser le rôle de ces différents marqueurs dans le processus athérosclérotique et leur apport potentiel comme complément au bilan traditionnel des facteurs de risque cardiovasculaire.

### **1.4.1 CRP comme marqueur des maladies cardiovasculaires**

Les marqueurs inflammatoires tels que le CRP pourraient devenir des biomarqueurs cardiovasculaires intéressants. En effet, tel que mentionné précédemment, l'inflammation joue un rôle très important à chacune des étapes de la formation de la plaque athéromateuse : de la dysfonction endothéliale jusqu'à la rupture de la plaque [1]. Le CRP est une protéine

non spécifique de la phase aiguë de l'inflammation. Produite majoritairement au foie, sa synthèse est stimulée principalement par l'interleukine-6 (Il-6), une cytokine inflammatoire [24, 25]. Son rôle physiologique primaire serait de participer à l'immunité : une fois agrégé ou lié, le CRP est reconnu par C1q, ce qui active fortement la voie classique du complément [25]. Le CRP se lie avec le plus d'affinité aux résidus de phosphocholine, mais plusieurs autres ligands existent, autant intrinsèques qu'extrinsèques [25]. Le CRP se lie notamment aux LDL, particulièrement les LDL endommagées tels que les LDL oxydées (LDLox) [25]. L'absence de polymorphismes ou de déficience de CRP et la conservation phylogénétique de sa structure suggèrent que le CRP soit très important pour la survie des individus [25].

Le CRP est libéré en très grande quantité dans divers états inflammatoires, notamment dans les infections, les néoplasies et les traumatismes [25]. Cependant, à des niveaux beaucoup plus faibles, le CRP témoignerait de l'inflammation systémique chronique associée à l'athérosclérose et à ses complications [2]. Un débat existe quant au rôle exact du CRP dans le processus d'athérosclérose, comme simple témoin ou comme agent actif. Toutefois, il a récemment été suggéré que le CRP jouerait un rôle pro-athérogénique *in vivo*, avec des implications directes au niveau de la progression de l'athérosclérose [26]. Du CRP est d'ailleurs retrouvé dans la majorité des plaques d'athérosclérose [25], un site secondaire potentiel de production de CRP [26]. De plus, du CRP et du complément activé se retrouvent dans les lésions aiguës d'infarctus du myocarde, et cela augmenterait la taille finale de l'infarctus dans des modèles expérimentaux [25]. Les niveaux plasmatiques de base de CRP prédisent de façon indépendante la survenue future d'infarctus du myocarde, d'accidents vasculaires cérébraux (AVC), de mortalité cardiovasculaire et la progression des maladies vasculaires périphériques [25, 27, 28]. En effet, les individus montrant des concentrations plasmatiques élevées de CRP ( $> 3.0$  mg/L) sont davantage à risque de développer des MCV que les individus montrant des concentrations constitutives de CRP inférieures à 1.0 mg/L, et ce, pour tous les niveaux de LDL-C et de catégories de risque de Framingham [2]. Plus précisément, le risque relatif d'événements coronariens est de 2.0 lorsque les concentrations de CRP sont  $> 2.4$  mg/L, comparé à  $< 1$  mg/L [25]. Il a été démontré que la probabilité de survie sans événement cardiovasculaire chez les femmes était plus élevée chez celles avec des niveaux faibles de CRP *et* des niveaux faibles de LDL-C [2]. Les résultats de l'étude REVERSAL pourraient expliquer ce phénomène : Nissen *et al.*

ont en effet démontré qu'un traitement intensif avec une statine pouvait réduire la progression de l'athérosclérose, jusqu'à même faire régresser les lésions, comparativement à un traitement modéré de statine [29]. Plus spécifiquement, la plus grande régression du volume de plaque athéromateuse était retrouvée chez les individus ayant des niveaux diminués de CRP *et* de LDL-C après traitement (réduction médiane significative du volume total de la plaque athéromateuse de  $1.98\text{mm}^3$  vs  $+8.21\text{mm}^3$ ) [29].

Plusieurs caractéristiques permettraient au CRP d'être un marqueur cardiovasculaire intéressant. Les concentrations plasmatiques de CRP sont stables dans le temps pour un même individu et il a même été démontré que le coefficient de corrélation entre des mesures répétées à des années d'intervalle était comparable à celui du cholestérol [25]. Excluant les pics isolés habituellement infectieux, les concentrations de CRP n'ont pas de variation diurne ni post-prandiale [25]. Des études de jumeaux ont démontré une composante hautement héréditaire dans les valeurs de base de CRP, qui est indépendante de l'âge et de l'indice de masse corporelle (IMC) [25]. Une insuffisance hépatique modifie la production de CRP, mais aucune autre pathologie concomitante et très peu de médicaments diminuent les concentrations de CRP, sans également affecter la pathologie sous-jacente donnant naissance au stimulus inflammatoire [25], ce qui en fait un bon marqueur. L'intérêt aussi important pour le CRP vient partiellement du fait qu'un essai ELISA robuste, bien standardisé, reproductible, peu coûteux et facilement disponible existe déjà pour mesurer les concentrations très faibles de CRP (hsCRP, high sensitivity CRP) [25].

En somme, une déclaration conjointe de *American Heart Association* et *Centers for Disease Control and Prevention* (AHA-CDC) a émis des recommandations pour les professionnels de la santé quant aux marqueurs de l'inflammation en relation avec les MCV (Tableau 1-1) [30]. Il a été proposé de séparer les concentrations plasmatiques de CRP en 3 catégories de risque cardiovasculaire :  $< 1$  mg/L (faible risque),  $1.0$  à  $3.0$  mg/L (risque modéré),  $> 3$  mg/L (risque élevé) [30]. Une valeur de CRP plasmatique  $> 10$  mg/L devrait toutefois être éliminée et répétée deux semaines plus tard, car cela témoigne plutôt d'un état infectieux aigu [30]. Ainsi, AHA-CDC a conclu que la mesure des concentrations plasmatiques de CRP peut être utilisée, à la discrétion des cliniciens, chez les personnes avec un risque cardiovasculaire global intermédiaire (risque de MCV de 10 à 20% sur 10 ans), afin de

mieux qualifier le risque et l'intensité conséquente du traitement en prévention primaire des MCV [30]. Les bénéfices d'un traitement basé sur une telle approche demeurent toutefois incertains [30].

TABLEAU 1-1 : Recommandations de AHA-CDC pour les mesures des concentrations plasmatiques de CRP chez les personnes avec un risque cardiovasculaire intermédiaire tel qu'évalué par les algorithmes traditionnels (Adapté de [31]).

<i>Essai hsCRP</i>	<i>Valeur (moyenne des résultats des deux tests)</i>	<i>Interprétation du risque cardiovasculaire</i>	
2 tests, réalisés à 2 semaines d'intervalle (à jeun ou non)	> 10 mg/L	Éliminer les résultats, rechercher une source d'infection et répéter les tests 2 semaines plus tard	
	< 10 mg/L	> 3 mg/L	Risque élevé
		1-3 mg/L	Risque modéré
		< 1 mg/L	Risque faible

hsCRP, high sensitivity C-reactive protein.

### 1.4.2 Autres facteurs de risque et biomarqueurs cardiovasculaires émergents

#### *Phospholipase A<sub>2</sub> associée aux lipoprotéines (Lp-PLA<sub>2</sub>)*

La phospholipase A<sub>2</sub> associée aux lipoprotéines (Lp-PLA<sub>2</sub>) est transportée par les lipoprotéines, pour lesquelles elle a une grande affinité et elle est sécrétée par diverses cellules inflammatoires, dont les monocytes, macrophages, cellules T et mastocytes [19]. La Lp-PLA<sub>2</sub> a comme rôle de détruire les phospholipides oxydés au niveau des lipoprotéines où elle réside [19]. Présente sur les LDL et en plus petites quantités sur les HDL, elle aurait une prédilection particulière pour la lipoprotéine (a) [19]. Des études suggèrent que Lp-PLA<sub>2</sub> prédirait la survenue de MCV, mais il n'est pas clair si cette association est indépendante du LDL-C [32-35].

#### *Myeloperoxydase (MPO)*

La myeloperoxydase (MPO) est une peroxydase de l'hème qui est sécrétée par les phagocytes activés aux sites d'inflammation [19]. Les réactifs qu'elle génère induisent des dommages oxydatifs aux cellules et tissus avoisinants. Les HDL seraient particulièrement susceptibles au stress oxydatif de MPO et de tels HDL modifiés sont présents dans les lésions athérosclérotiques et diminuent l'efflux de cholestérol vers l'extérieur des cellules, ce qui favoriserait l'athérogenèse [36]. La MPO pourrait également jouer un rôle causal dans la vulnérabilité de la plaque [37, 38]. Les polymorphismes génétiques résultant en une déficience en MPO ou en une activité réduite sont associés à un risque cardiovasculaire plus faible, ce qui est consistant avec l'hypothèse que MPO participe au processus athérosclérotique [39, 40].

#### LDL oxydées (LDLox)

L'oxydation des LDL se fait principalement au niveau de la paroi des vaisseaux sanguins, ce qui active plusieurs voies inflammatoires et athérogènes [19]. Les LDLox ne sont pas présentes dans les artères normales, mais elles sont retrouvées dans les lésions athérosclérotiques, où elles joueraient un rôle causal dans la pathogenèse de l'athérosclérose [41]. Les LDLox provoquent une diminution de la biodisponibilité de NO, ce qui est associé à des changements indésirables au niveau vasculaire [42]. En plus de la diminution drastique du LDL-C plasmatique, les traitements avec les statines s'accompagnent d'une réduction marquée des LDLox au niveau de la plaque athéromateuse [43].

#### Lipoprotéine (a) (Lp(a))

La lipoprotéine (a) (Lp(a)), dont le rôle physiologique est inconnu, se compose d'une apolipoprotéine (apo) (a) attachée à une apoB-100 [19]. Son association aux MCV semble être plus forte chez les patients avec hypercholestérolémie, particulièrement chez les jeunes patients avec athérosclérose prématurée, puisque seulement de très hauts taux de Lp(a) sont associés à un risque cardiovasculaire accru [19].

#### Taille des particules LDL (LDL petites et denses)

Il a été proposé que les LDL petites et denses soient pro-athérogéniques comparativement aux LDL plus gros, en raison de leur susceptibilité à l'oxydation et leur facilité à traverser la

paroi vasculaire jusqu'à l'espace sous-endothélial où elles restent emprisonnées [44]. Les LDL petites et denses sont générées lorsque les TG en excès sur les lipoprotéines de très faible densité (VLDL) sont échangés pour des esters de cholestérol sur les LDL par la protéine de transfert des esters de cholestérol (CETP) [19]. Les LDL riches en TG ainsi produits sont hydrolysées par la lipase hépatique (LH) pour produire des particules LDL plus petites et plus denses [19]. Les LDL petites et denses augmentent significativement le risque cardiovasculaire [44] et sont également associées aux MetS et aux diètes riches en glucides. Cependant, la mesure du diamètre des particules LDL n'est pas pour l'instant facilement accessible en clinique et est plutôt réservée à des fins de recherche.

En somme, si plusieurs facteurs de risque, modifiables ou non modifiables, traditionnels ou non traditionnels, s'accumulent chez une même personne, un clinicien cherchera à diminuer le risque cardiovasculaire à l'aide de thérapies modifiant le mode de vie et, si nécessaire, à l'aide de traitements pharmacologiques. Les traitements des MCV et des facteurs de risque cardiovasculaires seront abordés plus en détails dans un chapitre subséquent.

## **CHAPITRE 2 : CRP dans le syndrome métabolique et le diabète de type 2**

### **2.1 CRP dans le syndrome métabolique**

Le syndrome métabolique (MetS) correspond à un regroupement de divers facteurs de risque métabolique, incluant l'obésité abdominale, la dyslipidémie, l'HTA et l'hyperglycémie. Même si la physiopathologie du MetS est encore débattue, il est maintenant clair que le MetS est associé à un risque accru de développer le diabète de type 2 et une MCV. L'augmentation importante de la prévalence du MetS au cours de la dernière décennie est intimement liée à la progression substantielle de l'obésité et du diabète de type 2. L'augmentation de la prévalence du MetS est source de préoccupation importante pour la santé publique, compte tenu du risque associé de MCV et de diabète de type 2. Au cours des années, plusieurs associations ont proposé différentes définitions pour le MetS. Les différentes définitions se distinguent légèrement au niveau de leurs critères et valeurs seuil, mais elles partagent toutes le même objectif, soit d'identifier les individus ayant un risque élevé à long terme, lesquels pourraient bénéficier d'un traitement préventif. Le diagnostic de MetS doit être utilisé parallèlement aux algorithmes de risque standard, comme le Framingham Risk Score et Diabetes Predicting Model, puisque ceux-ci prédisent plus précisément les risques à court terme de développer la MCV et le diabète de type 2, respectivement. En effet, il a été suggéré que le MetS confère au contraire un risque élevé à long terme. La gestion du MetS devrait d'abord mettre l'emphase sur les modifications des habitudes de vie, c'est-à-dire la perte de poids, l'augmentation de l'activité physique et une diète saine. Si le risque à court terme de MCV ou de diabète est élevé, l'utilisation d'un traitement pharmacologique peut s'avérer nécessaire, en suivant les recommandations spécifiques aux facteurs de risque individuels.

Même s'il ne s'agit pas d'un critère dans la plupart des définitions du MetS, le MetS est souvent accompagné d'un état pro-inflammatoire, caractérisé par des niveaux augmentés de cytokines inflammatoires (facteur de nécrose tumorale- $\alpha$  ou TNF- $\alpha$ , Il-6) et de protéines de

la phase aiguë de l'inflammation (CRP, fibrinogène) [45]. Des niveaux augmentés de CRP sont statistiquement associés à plusieurs composantes du MetS [5, 6]. D'ailleurs, les concentrations plasmatiques de CRP s'élèvent à mesure que le nombre de critères du MetS augmente aussi [5, 6]. Cela pourrait être expliqué par le fait que le tissu adipeux, particulièrement celui d'origine viscérale, sécrète de nombreuses cytokines inflammatoires, incluant Il-6 [24]. Les concentrations de Il-6 corréleraient d'ailleurs significativement avec les niveaux de tissu adipeux viscéral [46, 47]. Le risque relatif de MCV est significativement plus élevé lorsque les concentrations plasmatiques de CRP sont  $> 3$  mg/L, et ce, pour tous les niveaux de sévérité du MetS [5]. Bref, la mesure des concentrations de CRP chez des patients avec le MetS ajoute significativement plus d'information sur le pronostic cardiovasculaire, à tous les niveaux de sévérité du MetS [5], suggérant que l'ajout du CRP aux critères diagnostiques actuels du MetS devrait être considéré. Davantage de recherche sur ce sujet est nécessaire.

Un article de synthèse sur le MetS rédigé dans le cadre de cette maîtrise est inséré en annexe (*Journal of Nutrigenetics and Nutrigenomics* 2008;1:100-108). Le but cet article était de présenter un résumé des différentes définitions du MetS, en mettant l'accent sur l'augmentation de sa prévalence et sur sa prise en charge. Le lecteur est invité à le consulter pour plus d'informations sur ce sujet en particulier.

## **2.2 CRP dans le diabète de type 2**

La classification du diabète inclut le diabète de type 1, le diabète de type 2, le diabète gestationnel, ainsi que d'autres types spécifiques relativement peu fréquents qui sont associés à d'autres maladies ou à l'utilisation de certains médicaments. Se développant généralement avant l'âge adulte, le diabète de type 1 est la conséquence d'une destruction d'origine inconnue des cellules bêta du pancréas, lesquelles produisent normalement l'insuline. Le diabète de type 2 est un désordre métabolique caractérisé par la présence d'hyperglycémie secondaire à un déficit relatif en insuline, par une production insuffisante et/ou par la présence de résistance des tissus périphériques à l'insuline. L'incidence du diabète de type 2 est en augmentation fulgurante dans les pays occidentaux et l'âge moyen

au diagnostic tend à diminuer. De façon analogue au MetS, les principaux facteurs responsables de cette incidence accrue du diabète de type 2 seraient de mauvaises habitudes de vie et l'obésité abdominale, combinées à une forte prédisposition génétique. La présence d'hyperglycémie chronique est associée au développement à long terme de complications macro- et microvasculaires. Bien que les complications d'origine cardiovasculaires soient les plus fréquentes et les plus mortelles, la néphropathie, la rétinopathie et les neuropathies périphériques causent également une morbidité significative. Le diagnostic du diabète de type 2 nécessite la présence d'une hyperglycémie à jeun  $\geq 7.0$  mmol/L, d'une hyperglycémie aléatoire  $\geq 11.1$  mmol/L avec symptômes de diabète (classiquement, polyurie, polydipsie, polyphagie, perte de poids) ou finalement, d'une hyperglycémie 2 heures post 75g de glucose  $\geq 11.1$  mmol/L. En l'absence d'hyperglycémie non équivoque avec décompensation métabolique aiguë, ces tests de laboratoire doivent être confirmés à deux reprises. Les critères de glycémie dans les stades précoces d'anomalie jusqu'au diabète sont présentés au Tableau 2-1. Les conséquences multi-systémiques du diabète de type 2 justifient un dépistage précoce et un traitement agressif. Les traitements seront discutés dans le prochain chapitre, mais de façon générale, le traitement vise un contrôle glycémique optimal, soit une normalisation des glycémies et une diminution des facteurs de risque cardiovasculaires. Le contrôle glycémique au cours des 3 derniers mois s'évalue à l'aide de l'hémoglobine glyquée (HbA1c), dont la cible est  $< 7.0\%$ .

Plusieurs facteurs confèrent aux diabétiques de type 2 ce risque cardiovasculaire accru. Le diabète de type 2 est associé à une dyslipidémie athérogène [3] et à un état pro-inflammatoire [4]. Des concentrations élevées de CRP prédiraient le développement du diabète de type 2 indépendamment des facteurs de risque traditionnels, incluant l'IMC, les concentrations plasmatiques de TG à jeun et les concentrations de glucose [48]. Des personnes en santé avec des concentrations normales de glucose à jeun ont les concentrations les plus faibles de CRP (moyenne 2.8 mg/L), les individus avec un glucose à jeun détérioré ont des concentrations de CRP supérieures (moyenne 3.2 mg/L) et, finalement, ceux chez qui le diabète de type 2 a été diagnostiqué ont les concentrations de CRP les plus élevées (moyenne 4.6 mg/L) [7]. Même s'il a été suggéré que les concentrations de CRP soient un puissant prédicteur du développement du diabète de type 2, il est important de se rappeler qu'il est également plausible que le diabète lui-même

cause de l'inflammation vasculaire, avec une augmentation conséquente des concentrations de CRP [31].

TABLEAU 2-1 : Seuils de glycémies plasmatiques utilisés pour le diagnostic d'anomalie de la glycémie à jeun, d'intolérance au glucose et de diabète. (Adapté de Canadian Diabetes Association 2008, Clinical Practice Guidelines for the Prevention and Management of Diabetes in Canada).

	<i>Glycémie plasmatique à jeun (mmol/L)</i>		<i>Glycémie plasmatique 2h après HGOP 75g (mmol/L)</i>
Anomalie de la glycémie à jeun (isolée)	6.1 – 6.9	et	< 7.8
Intolérance au glucose (isolée)	< 6.1	et	7.8 – 11.0
Anomalie de la glycémie à jeun et intolérance au glucose	6.1 – 6.9	et	7.8 – 11.0
Diabète	≥ 7.0	ou	≥ 11.1

HGOP, hyperglycémie orale provoquée.

## **CHAPITRE 3 : Traitements des facteurs de risque cardiovasculaires**

La prévention primaire des MCV et du diabète de type 2 devient de plus en plus importante dans notre système de santé, puisqu'une meilleure prévention de ces deux maladies diminue significativement le fardeau de la société en termes de coûts de santé publique. Tels que discuté précédemment, les algorithmes Framingham Risk Score et Diabetes Predicting Model permettent d'identifier les individus à risque élevé de développer des MCV et le diabète de type 2, respectivement, ce qui déterminera l'agressivité des mesures employées pour contrôler les facteurs de risque. Le MetS prédispose au diabète de type 2 et aux MCV, le diabète de type 2 lui-même prédispose aussi aux MCV et à un état pro-inflammatoire avec augmentation des concentrations de CRP s'associe également au développement de ces pathologies. Ainsi les facteurs de risque respectifs du MetS, des MCV et du diabète de type 2 se recoupent et les traitements de ces facteurs de risque s'appliquent autant pour chacune de ces maladies. C'est pourquoi cette section sur les traitements aborde de façon générale la prévention des principaux facteurs de risque du MetS, des MCV et du diabète de type 2.

### **3.1 Modifications des habitudes de vie**

La première étape dans la prise en charge du risque cardiovasculaire est le contrôle des facteurs de risque modifiables sous-jacents, tels que l'obésité, la sédentarité et l'alimentation athérogène [45]. D'autres modifications du mode de vie incluent l'arrêt du tabagisme et une meilleure gestion du stress. Une modification des habitudes de vie devrait toujours précéder, ou du moins accompagner, l'instauration d'un traitement pharmacologique, autant en prévention primaire que secondaire des MCV, incluant chez les diabétiques. En effet, les modifications du mode de vie améliorent significativement la sévérité des facteurs de risque métaboliques, tels que la dyslipidémie athérogène, l'HTA et l'hyperglycémie; c'est pourquoi les modifications du mode de vie devraient avoir préséance

[45]. De plus, à l'inverse, les médicaments n'ont qu'une faible portée lorsqu'ils ne sont pas accompagnés d'un mode de vie sain, comprenant de l'activité physique et une saine alimentation. En fait, les modifications des habitudes de vie sont des directives générales recommandées pour toute la population indépendamment de leur risque cardiovasculaire, puisqu'il s'agit essentiellement d'habitudes de vie saines et équilibrées.

#### Surplus de poids et obésité

L'obésité abdominale est associée au MetS et à ses complications cardiovasculaires et de diabète de type 2 [21]. Les recommandations concernant l'obésité [49] insistent sur une réduction du poids via des changements au niveau du comportement pour parvenir à réduire l'apport calorique et augmenter l'activité physique. L'objectif recommandé de perte de poids est 7-10% en 6-12 mois, ce qui représente une perte de poids relativement modeste, mais l'accent est mis sur la perte de poids à long terme et le maintien de cette perte de poids. Puisque les diètes extrêmes ne sont habituellement pas efficaces pour une perte de poids à long terme, la meilleure stratégie pour une perte de poids efficace a été démontrée être une réduction modeste de 500 à 1000 calories par jour [49].

#### Inactivité physique / Mode de vie sédentaire

Les recommandations pour l'exercice physique sont de 30 minutes d'activité d'intensité modérée quotidiennement [50]. Le maintien de la perte de poids à long terme est d'autant plus efficace si une augmentation de l'exercice physique accompagne la perte de poids [49]. L'exercice est bénéfique autant chez les sujets avec MCV que chez les diabétiques. Chez les sujets avec MCV, l'exercice physique améliore la fonction cardio-vasculaire et favorise ainsi une meilleure perfusion des tissus. Chez les diabétiques, l'exercice physique améliore la résistance à l'insuline [50], ce qui a des répercussions favorables sur le contrôle glycémique.

#### Diète athérogène et modifications alimentaires

Les principes généraux suivants sont suggérés : un apport faible en gras saturés, gras trans et cholestérol, une consommation réduite en sucres simples, et une augmentation de la consommation de fruits, légumes et grains entiers [21]. Cependant, les proportions relatives

en glucides et en graisses (diètes low fat/high carbs vs. low carbs/high fat) pour un contrôle optimal du risque cardiovasculaire demeurent un sujet très controversé [45]. Que le but visé soit un meilleur contrôle glycémique chez les diabétiques ou une diminution de l'athérosclérose chez les sujets avec MCV, les recommandations de l'alimentation varient légèrement, mais une alimentation saine et équilibrée est essentiellement l'objectif final.

### **3.1.1 Modifications des habitudes de vie et CRP**

Des niveaux élevés de CRP ont été associés à l'obésité [7, 51] et au tabagisme [52, 53], deux des facteurs de risque bien établis des MCV. À l'inverse, plusieurs modifications du mode de vie, visant une amélioration des composantes du MetS et une réduction des MCV, favorisent une diminution des concentrations plasmatiques de CRP. La perte de poids [51] et l'arrêt du tabagisme [53] provoquent une diminution des concentrations de CRP. Il a également été démontré que l'exercice physique [54] et la consommation modérée d'alcool [55] ont été associés à des niveaux réduits de CRP. Un article de synthèse récent a conclu que la perte de poids se traduisait par des réductions de CRP allant de 7 à 48% [56]. Finalement, la nutrition peut également avoir des répercussions sur les concentrations de CRP. Par exemple, la diète Portfolio, qui sera discutée subséquemment, entraîne des réductions des concentrations plasmatiques de CRP significatives [57]. En somme, il est intéressant de noter que plusieurs méthodes bien établies pour diminuer le profil de risque cardiovasculaire réduisent également les concentrations plasmatiques de CRP, un marqueur potentiel des MCV.

## **3.2 Traitements pharmacologiques**

Alors que les modifications du mode de vie parviennent habituellement à contrôler un profil de risque cardiovasculaire faible et même parfois modéré, il arrive que ce soit insuffisant. En effet, la compliance à ces changements est difficile à maintenir à long terme. Ainsi, éventuellement, une combinaison avec une approche pharmacologique est souvent nécessaire pour parvenir à contrôler l'ensemble des facteurs de risque des MCV, du bilan

lipidique jusqu'au contrôle glycémique. Par exemple, l'HTA, le diabète de type 2 et une dyslipidémie (LDL-C, TG et HDL-C) peuvent être significativement améliorés à l'aide de traitements pharmacologiques. Un agent pharmacologique nommé rimonabant, un bloqueur des récepteurs cannabinoïde (CB<sub>1</sub>) sous investigation, a produit en un an des réductions du poids corporel ( $-6.7 \pm 0.5$  kg) et de la circonférence de taille ( $-5.8 \pm 0.5$  cm), de même qu'une amélioration d'un profil de risque métabolique défavorable, comparativement à un placebo, chez des personnes obèses avec une dyslipidémie athérogène [58]. Les niveaux plasmatiques de CRP ont été réduits significativement de 0.9 mg/L par le rimonabant [58]. Cependant, en attendant que son efficacité soit plus amplement confirmée, les facteurs de risque doivent être adressés individuellement en suivant les recommandations établies pour chacun d'entre eux. Bien que plusieurs médicaments existent pour la prévention primaire et secondaire des MCV et de ses facteurs de risque, seulement un survol des traitements des différents facteurs de risque métaboliques sera fait. Parmi les différentes alternatives pharmacologiques disponibles, ce mémoire insistera principalement sur les statines et les fibrates puisqu'ils étaient les médicaments utilisés dans l'étude. De plus, un intérêt particulier sera porté sur les statines puisque, en plus d'être les médicaments les plus prescrits à travers le monde, il s'agit du traitement qui a eu l'impact le plus significatif sur le CRP.

### Dyslipidémie athérogène

Comme mentionné précédemment, la dyslipidémie athérogène est caractérisée par des taux élevés de TG et d'apoB, des particules LDL petites et denses et des taux faibles de HDL-C [45]. Puisque la dyslipidémie athérogène prédispose fortement aux MCV, un contrôle agressif de la dyslipidémie est visé et les médicaments hypolipémiants seront habituellement nécessaires pour atteindre cet objectif. Les statines sont bien connues pour réduire le risque d'événements cardiovasculaires, autant par leurs effets hypolipémiants que par leurs effets pléiotropes [15]. D'un autre côté, les fibrates ciblent de façon plus spécifique la dyslipidémie athérogène en réduisant significativement les concentrations plasmatiques de TG et en augmentant modérément les concentrations de HDL-C (Tableau 3-1) [21]. Toutefois, l'usage combiné de statine et fibrate produit des effets très bénéfiques sur l'ensemble du bilan lipidique et améliore significativement le statut de risque

cardiovasculaire [59]. Malgré le risque augmenté de myopathies, il s'agit d'une avenue intéressante, surtout si de faibles doses sont utilisées [45]. Les statines et les fibrates seront abordés plus amplement dans des sections ultérieures. Le Tableau 3-1 résume les différents médicaments hypolipémiants utilisés dans le traitement des dyslipidémies et leurs effets sur les concentrations plasmatiques de CRP.

### Hypertension artérielle (HTA)

Une réduction de la tension artérielle (TA) améliore significativement la santé cardiovasculaire, particulièrement chez les diabétiques de type 2 [60, 61]. La TA est légèrement diminuée par une modification des habitudes de vie, comme une perte de poids, une augmentation de l'activité physique, une consommation modérée d'alcool, réduite de sel et augmentée de fruits, légumes et produits laitiers faibles en gras [62]. Lorsqu'un traitement pharmacologique est nécessaire pour atteindre les valeurs cibles de TA, les inhibiteurs de l'enzyme de conversion de l'angiotensine (IECA) et les bloqueurs du récepteur de l'angiotensine (BRA) sont habituellement les choix de première ligne [63].

### Résistance à l'insuline et hyperglycémie

La metformin, les thiazolidinediones (TZD) et l'acarbose sont utilisés dans le traitement du diabète de type 2. Des études ont démontré que ces médicaments permettaient de retarder l'apparition du diabète de type 2 chez des individus avec intolérance au glucose et chez des individus avec un glucose à jeun détérioré [64-66]. Puisque le diabète de type 2 est étroitement lié au développement de MCV, il a été suggéré que ces médicaments antidiabétiques réduiraient et préviendraient également les MCV [66, 67]. Il faut toutefois noter que certains agents hypolipémiants, antihypertenseurs et hypoglycémisants ont parfois des effets délétères sur le poids corporel et sur la sensibilité à l'insuline [45]. Les cliniciens doivent donc gérer le risque cardiovasculaire en visant une amélioration de la majorité des facteurs de risque.

### État pro-thrombotique

Des états pro-thrombotique et pro-inflammatoire sont souvent présents chez les individus avec un risque cardiovasculaire accru. Un état pro-thrombotique est caractérisé par une

élévation des facteurs de coagulation, incluant le fibrinogène et l'inhibiteur 1 de l'activateur du plasminogène (PAI-1), et cet état augmente le risque de thrombose artérielle [45]. Une faible dose d'aspirine et autres agents antiplaquettaires sont recommandés pour la prévention secondaire des MCV [45], en prévention primaire des MCV chez les diabétiques de type 2 [45] et également en prévention primaire chez les individus avec MetS et un risque cardiovasculaire élevé [68].

### **Traitements pharmacologiques et CRP**

#### **État pro-inflammatoire**

Un état pro-inflammatoire, fréquemment présent chez les individus avec un risque cardiovasculaire élevé, est caractérisé par une élévation des cytokines inflammatoires (TNF- $\alpha$ , Il-6) et des réactifs de la phase aiguë de l'inflammation (CRP, fibrinogène) [45]. Aucun médicament spécifique anti-inflammatoire n'existe pour l'instant. Cependant, en raison de l'intérêt grandissant pour l'inflammation et particulièrement pour le CRP, des propriétés anti-inflammatoires sont découvertes parmi plusieurs médicaments déjà utilisés pour traiter différents facteurs de risque cardiovasculaires. Par exemple, un article de synthèse de Prasad [9] a conclu que les concentrations plasmatiques de CRP sont réduites par les agents hypolipémifiants (statines [8], ezetimibe [69], fenofibrate [12, 70, 71], niacin, diètes), les IECA, les BRA, les agents antidiabétiques (TZD – PPAR $\gamma$  [71-73]), les agents antiplaquettaires, la vitamine E et les  $\beta$ -bloqueurs. Tous ces médicaments ne sont toutefois pas recommandés uniquement pour réduire un état pro-inflammatoire indépendamment des autres facteurs de risque [45].

### **3.2.1 PPARs**

Les PPARs (peroxisome proliferator activated receptors) agissent en activant des récepteurs nucléaires, ce qui mène à la formation de complexes de transcription induisant l'expression ou l'inhibition d'un nombre important de gènes impliqués dans le métabolisme des lipides. Il existe trois classes de PPARs, classifiées en PPAR $\alpha$ , PPAR $\gamma$  et PPAR $\beta/\delta$ , et chaque classe se distingue par le type de récepteur PPAR qui est activé. Les récepteurs PPAR $\beta/\delta$ ,

les moins étudiés des PPARs, ont une distribution ubiquitaire, ce qui est reflété par leurs actions variées dans l'organisme. Les récepteurs PPAR $\beta/\delta$  sont notamment impliqués dans le métabolisme des lipides au niveau du cerveau, l'homéostasie du cholestérol des macrophages, la prolifération pré-adipocytaire et l'adipogenèse [71].

### **3.2.1.1 PPAR-gamma (Thiazolidinediones)**

Les récepteurs PPAR $\gamma$  sont exprimés au niveau du tissu adipeux blanc et brun, au niveau du côlon, au niveau des lésions athérosclérotiques humaines et sur différents types de cellules vasculaires et immunitaires, incluant les macrophages, les cellules endothéliales et musculaires lisses et les lymphocytes [71]. Les récepteurs PPAR $\gamma$  sont notamment impliqués dans la différenciation cellulaire, le stockage des graisses, la modulation de la réponse à l'insuline, et ils ont des activités anti-inflammatoires au niveau des systèmes inflammatoire et cardiovasculaire [71]. Des agonistes des PPAR $\gamma$ , une classe de médicaments appelée TZD, peuvent être utilisés dans le traitement du diabète de type 2, afin de diminuer la résistance à l'insuline et ainsi favoriser un meilleur métabolisme du glucose. Toutefois, les TZD sont de moins en moins utilisés en clinique en raison des données récentes suggérant que les diabétiques traités avec la rosiglitazone ont un risque cardiovasculaire accru et ce, malgré l'amélioration du contrôle glycémique [74]. Les TZD disponibles sur le marché sont la rosiglitazone et la pioglitazone.

#### *PPAR-gamma et CRP*

Des études récentes ont proposé des effets anti-inflammatoires aux PPAR $\gamma$ . Un traitement avec la rosiglitazone chez des patients avec diabète de type 2 a diminué les concentrations plasmatiques de CRP et la réduction en CRP était supérieure lorsque la rosiglitazone était combinée avec une statine [75]. L'addition de la rosiglitazone chez des patients avec diabète de type 2 déjà traités avec une statine a également provoqué une diminution significative des concentrations de CRP [76]. Enfin, la rosiglitazone améliore aussi les niveaux de CRP chez des individus avec le MetS [77, 78].

### 3.2.1.2 PPAR-alpha (Fibrates)

Les fibrates, dérivés de l'acide fibrique, sont des agonistes synthétiques des PPAR $\alpha$ . Leur impact sur le métabolisme des lipides, particulièrement celui des TG, se fait via l'activation de ces récepteurs nucléaires PPAR $\alpha$ . Les récepteurs PPAR $\alpha$  sont exprimés dans les tissus ayant un taux élevé de catabolisme des acides gras, c'est-à-dire au niveau du foie, du rein, du muscle squelettique et du cœur [71]. Les récepteurs PPAR $\alpha$  sont également exprimés dans les lésions athérosclérotiques humaines et sur différents types de cellules vasculaires et immunitaires, soit les monocytes, les macrophages, les cellules endothéliales et musculaires lisses et les lymphocytes [71]. Les récepteurs PPAR $\alpha$  sont notamment impliqués dans le métabolisme des lipides et des lipoprotéines, dans l'homéostasie des lipides des macrophages et ont des activités anti-inflammatoires [71]. Les fibrates disponibles sur le marché sont énumérés dans le Tableau 3-1. De plus, la Figure 4-1 résume les effets anti-athérosclérotiques du fenofibrate.

#### *Fibrates et bénéfices cardiovasculaires dépendants des lipides*

Les fibrates sont utilisés dans le traitement des MCV, plus spécifiquement dans le traitement de l'hypertriglycéridémie. Les fibrates peuvent être combinés aux statines, mais une augmentation marquée des effets secondaires diminue l'utilisation de cette combinaison. Au niveau des lipides sanguins, les traitements avec des fibrates ciblent plus spécifiquement la dyslipidémie athérogène en réduisant de façon importante les concentrations de TG (20-50%) et en augmentant modérément les concentrations de HDL-C (10-20%) (Tableau 3-1) [21]. De plus, les fibrates peuvent provoquer une légère diminution des taux de LDL-C plasmatiques (5-20%), mais ceux-ci peuvent légèrement augmenter chez les individus avec des TG élevés [21], comme chez les diabétiques de type 2. Le fenofibrate peut également corriger certaines anomalies des sous-fractions des LDL, en favorisant une diminution des particules LDL petites et denses [11, 79]. Un catabolisme plus élevé des LDL après traitement avec le fenofibrate [80] est probablement expliqué par la taille augmentée des particules LDL après traitement avec le fenofibrate [79]. La diminution des concentrations plasmatiques des TRL pourrait expliquer l'activité réduite de la CETP observée après un traitement avec le fenofibrate, ce qui se traduit par une

augmentation des niveaux de HDL-C et une diminution des particules LDL petites et denses [80, 81].

L'étude Veterans Affairs High-Density Lipoprotein Intervention Trial (VA-HIT) a montré l'impact bénéfique d'un traitement avec un fibrate, gemfibrozil, sur le risque de développer des MCV, où la réduction significative d'événements cardiovasculaires était associée à l'augmentation des niveaux de HDL-C [82]. Une analyse secondaire de l'étude VA-HIT a démontré que gemfibrozil avait réduit le risque de MCV le plus significativement chez les individus avec résistance à l'insuline à l'état basal [83]. L'étude Fenofibrate Intervention and Event Lowering in Diabetes (FIELD) a révélé que le traitement avec le fenofibrate n'avait pas réduit le risque de MCV, chez des diabétiques de type 2 ne prenant pas de statines [84]. Le fenofibrate avait cependant réduit le nombre total d'événements cardiovasculaires, s'expliquant par une diminution du nombre total d'infarctus du myocarde non fatal et par une diminution des procédures de revascularisation [84].

#### **Fibrates et bénéfices cardiovasculaires indépendants des lipides : effets pléiotropes**

Les effets pléiotropes d'un médicament sont des actions autres que celles pour lesquelles cet agent a été spécifiquement conçu [16]. Les fibrates et particulièrement le fenofibrate ont démontré, en plus de leurs actions bénéfiques bien établies sur les lipides sanguins, des effets anti-athérogéniques indépendants, qualifiés d'effets pléiotropes. Le fenofibrate aurait notamment un impact bénéfique sur la fonction endothéliale, sur l'oxydation, sur la thrombogénicité et sur l'inflammation [11].

#### **Fibrates et amélioration de la fonction endothéliale**

Des études ont démontré que le fenofibrate améliorait significativement la fonction endothéliale de patients hypertriglycéridémiques, à jeun et en post-prandial [85, 86]. L'amélioration des lipides sanguins, incluant la réduction des TG et des LDL petites et denses et l'augmentation des HDL-C, pourrait partiellement expliquer l'effet du fenofibrate sur la réactivité vasculaire [87]. Cependant, la fonction endothéliale pourrait aussi être améliorée par le biais des autres effets pléiotropes du fenofibrate, comme la diminution de la résistance à l'insuline et les effets anti-inflammatoires [87].

### Fibrates et effets antioxydants

Les effets antioxydants du fenofibrate sont partiellement dus à ses effets sur le métabolisme des lipoprotéines. En effet, le fenofibrate augmente les concentrations de HDL, lesquelles ont des activités antioxydantes et anti-inflammatoires [11]. En réduisant le nombre de particules LDL petites et denses et en augmentant la taille des particules LDL [79], le fenofibrate diminue la susceptibilité des LDL à être oxydées et cela se traduit par une diminution significative des taux de LDLox en réponse au traitement [70]. Les LDLox provoquent une diminution de la biodisponibilité de NO, ce qui est associé à des changements indésirables au niveau vasculaire [42]. Des études ont suggéré que le fenofibrate diminue la production de ROS [88] et réduisait les concentrations des produits de peroxydation des lipides [89].

### Fibrates et effets anti-thrombotiques

Les fibrates ont plusieurs actions anti-thrombotiques bénéfiques. Plusieurs études ont démontré que le fenofibrate diminue significativement les niveaux plasmatiques de fibrinogène [87, 90] et de PAI-1 [70]. Ces effets seraient associés à une diminution de la viscosité du plasma de même qu'une diminution de l'agrégation des globules rouges [91]. Les agonistes PPAR $\alpha$  inhibent l'expression et l'activité du facteur tissulaire (TF) dans les monocytes et macrophages humains [92]. Finalement, les fibrates inhibent aussi l'activation plaquettaire [93].

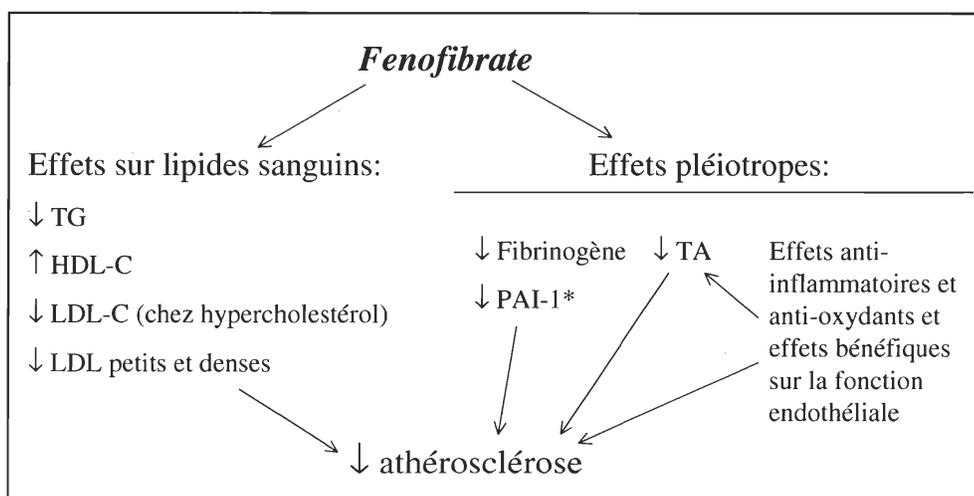
### Fibrates et effets anti-inflammatoires

Chez des patients avec dyslipidémie, le fenofibrate diminue les concentrations plasmatiques d'interféron- $\gamma$  (INF- $\gamma$ ) et de TNF- $\alpha$  [94], de même que celles de Il-6 [95], trois cytokines qui induisent l'expression par le foie de protéines de la phase aiguë de l'inflammation. Le fenofibrate inhibe également *in vitro* l'induction médiée par TNF- $\alpha$  des VCAM-1 au niveau des cellules endothéliales [96], ces molécules d'adhésion jouant un rôle dans le recrutement des leucocytes et des monocytes au niveau des lésions d'athérosclérose. De plus, le fenofibrate réduit la sécrétion de MMP-9, ce qui supporte non seulement la

présence d'effets anti-inflammatoires mais également des effets favorisant une stabilisation de la plaque d'athérosclérose [97].

#### *Fibrates et diminution des concentrations de CRP*

Des résultats inconsistants ont été obtenus quant aux propriétés anti-inflammatoires des fibrates, plus spécifiquement par rapport à leurs effets sur les concentrations de CRP. D'un côté, certaines études n'ont pu mettre en évidence une réduction des concentrations plasmatiques de CRP. Par exemple, les niveaux de CRP n'ont pas changé après traitement avec le fenofibrate chez des diabétiques de type 2 avec des niveaux normaux de lipides plasmatiques [98]. Cependant, des études récentes ont démontré que le fenofibrate réduisait les concentrations plasmatiques de CRP [70, 87, 99-103], même chez des sujets hypertriglycéridémiques [79, 104] et des sujets avec une dyslipidémie athérogène [105], chez des porteurs du MetS sans diabète [59], chez des sujets intolérants au glucose [12] et chez des diabétiques de type 2 [13]. Certaines études ont suggéré que les concentrations plasmatiques de CRP étaient davantage réduites par le fenofibrate chez les personnes avec des concentrations élevées à l'état de base, incluant chez des diabétiques de type 2 ( $> 2$  mg/L) [13] et des sujets hypertriglycéridémiques ( $\geq 3$  mg/L) [106]. La diminution de CRP a été associée aux changements observés dans la réactivité vasculaire, ce qui suggère que les effets anti-inflammatoires des fibrates expliquent en partie leurs bénéfices sur la fonction endothéliale [87].



**FIGURE 3-1 : Effets anti-athérosclérotiques du fenofibrate, incluant ses effets sur les lipides sanguins et ses effets pléiotropes** (Adaptée de [11]).

TG, triglycérides ; HDL-C, cholestérol des lipoprotéines de densité élevée ; LDL-C, cholestérol des lipoprotéines de faible densité ; PAI-1, inhibiteur 1 de l'activateur du plasminogène ; TA, tension artérielle. \* Dans quelques études.

### 3.2.2 Statines

Les médicaments les plus utilisés pour faire diminuer les taux de LDL-C sont les inhibiteurs de la  $\beta$ -hydroxy- $\beta$ -methylglutaryl coenzyme A (HMG-CoA) réductase, couramment appelés les statines. L'HMG-CoA réductase est l'enzyme limitante dans la synthèse endogène du cholestérol et, en inhibant cette enzyme, les statines parviennent à faire diminuer drastiquement les niveaux de LDL-C. De nombreuses études ont maintenant établi les bénéfices non équivoques du traitement avec les statines dans la prévention primaire et secondaire des MCV, autant en termes de diminution de mortalité que de morbidité, ce qui fait des statines l'un des médicaments les plus prescrits à travers le monde. D'ailleurs, les bénéfices des statines sont particulièrement frappants en comparaison aux bénéfices moindres des autres classes de médicaments hypolipémiants sur la diminution de mortalité [107]. Les bénéfices cardiovasculaires des statines seraient produits en partie par leurs puissants effets hypocholestérolémiants, mais également par des effets pléiotropes indépendants de cette réduction des lipides sanguins. Les principaux effets pléiotropes des statines sont une amélioration de la fonction endothéliale avec

augmentation de la biodisponibilité de NO, des effets antioxydants, anti-inflammatoires et anti-thrombotiques et une stabilisation de la plaque d'athérosclérose.

### **3.2.2.1 Statines et bénéfices cardiovasculaires dépendants des lipides**

Plusieurs des bénéfices des statines sur le système cardiovasculaire sont directement reliés à leur effet hypocholestérolémiant primaire. Premièrement, les statines sont des médicaments puissants provoquant une diminution du LDL-C plasmatique pouvant atteindre jusqu'à 55% (Tableau 3-1) [21]. Cette diminution du LDL-C plasmatique est associée à une réduction des LDL, et particulièrement des LDLox, au niveau de la plaque athéromateuse [43], et les LDLox sont associées à des changements indésirables au niveau vasculaire en provoquant une diminution de la biodisponibilité de NO [42]. Deuxièmement, en plus de leurs effets sur les LDL, les statines augmentent les concentrations de HDL-C de 5 à 15% et les statines puissantes diminuent les concentrations de TG jusqu'à 30%, proportionnellement aux concentrations de TG initiales (Tableau 3-1) [21]. Même si ces changements sont minimes en comparaison aux diminutions spectaculaires de LDL-C, les résultats d'études cliniques suggèrent tout de même qu'une telle augmentation des HDL réduirait le risque cardiovasculaire [21, 82]. En effet, de petits changements en HDL sont associés à d'importants changements au niveau de la fonction artérielle et au niveau du risque cardiovasculaire [108]. Puisque les HDL sont responsables entre autres du transport inverse du cholestérol, c'est-à-dire des tissus périphériques vers le foie, une augmentation des HDL symbolise une augmentation de l'excrétion du cholestérol périphérique excédentaire. De plus, les HDL contiennent un certain nombre de molécules antioxydantes qui aident à prévenir l'oxydation de la paroi artérielle [42]. Finalement, l'utilisation d'ultrasons intravasculaires a permis de démontrer qu'un traitement intensif avec une statine réduisait davantage la progression de l'athérosclérose, pouvant même jusqu'à faire régresser les lésions, comparativement à un traitement modéré de statine [29]. En somme, simplement en améliorant les lipides plasmatiques, les statines améliorent de façon substantielle la santé cardiovasculaire.

### **3.2.2.2 Statines et bénéfices cardiovasculaires indépendants des lipides : effets pléiotropes**

Les bénéfices cliniques des statines apparaissent plus précocement et avec une plus grande ampleur que ce qui serait prédit en tenant seulement compte de la diminution des lipides sanguins, ce qui suggère que les statines auraient des effets pléiotropes indépendamment de leur action hypocholestérolémiante [15]. Globalement bénéfiques pour le système cardiovasculaire, ces effets pléiotropes des statines semblent être indépendants des réductions en LDL-C, débutent hâtivement et sont rapidement réversibles lors de la discontinuation du médicament [16]. Pour un même niveau de cholestérol plasmatique, les individus traités avec une statine ont un risque plus faible de MCV que les individus prenant un placebo et également un risque plus faible que les individus traités avec un autre agent hypocholestérolémiant [15, 107]. Cela suggère donc la présence d'autres effets bénéfiques des statines au-delà de la réduction des lipides. Un débat existe toutefois pour déterminer si ces effets pléiotropes sont entièrement indépendants de la diminution significative des lipides engendrée par les statines. En inhibant l'HMG-CoA réductase, les statines préviennent la formation du mévalonate, qui non seulement intervient dans la synthèse endogène du cholestérol mais qui est également nécessaire à la formation des isoprénoïdes [107]. Les isoprénoïdes servent d'attachement lipidique pour certaines des molécules de signalisation intracellulaire comme Rho, Ras et Rac, lesquelles affectent plusieurs fonctions critiques de la cellule, et plusieurs des effets pléiotropes des statines découlent de ce mécanisme d'inhibition [15, 18, 107]. Les effets pléiotropes des statines sont possiblement donc indépendants des réductions en cholestérol, mais découlent du mécanisme même d'action des statines, soit l'inhibition de l'HMG-CoA réductase. En inhibant ces molécules de signalisation intracellulaire et leurs actions subséquentes, le spectre des effets des statines inclut une diminution de l'inflammation, une amélioration de la vasodilatation et une diminution de la thrombogénicité (susceptibilité à former des thrombus) [15]. Les effets hypocholestérolémiants des statines sont déjà bien décrits, mais une meilleure connaissance des effets pléiotropes des statines permettrait une utilisation optimale de ces médicaments et ainsi une meilleure gestion du risque cardiovasculaire.

### Statines et amélioration de la fonction endothéliale

La dysfonction endothéliale, une des premières manifestations du processus d'athérosclérose, provoque une vasoconstriction paradoxale du vaisseau sanguin secondaire à une carence relative en NO provenant de l'endothélium et favorise plusieurs composantes du processus athérosclérotique qui sont normalement inhibées par le NO [16]. Le traitement avec l'atorvastatin améliore la fonction endothéliale et la réactivité vasculaire, et ce, aussi tôt que deux semaines après le début du traitement [109]. Seulement une faible corrélation a été observée entre les taux de réduction de cholestérol et l'amélioration de la vasoréactivité/vasomotricité [109], suggérant que les bénéfices des statines sur la fonction endothéliale ne sont pas complètement expliqués par le degré de réduction des lipides plasmatiques. Les statines améliorent la fonction endothéliale en stimulant la eNOS, ce qui augmente la production du NO par l'endothélium [110]. En augmentant la biodisponibilité du NO et en inhibant Rho, les statines inhibent également la prolifération des SMC vasculaires [15], lesquelles jouent un rôle central dans la pathogenèse des lésions vasculaires, notamment dans la resténose post-angioplastie et dans l'athérosclérose des greffes veineuses [111].

### Statines et effets antioxydants

Les statines amélioreraient également la fonction endothéliale via leurs effets antioxydants. La diminution du LDL-C plasmatique par les statines s'accompagne d'une réduction marquée des LDLox au niveau de la plaque athéromateuse [43]. En effet, la simple réduction des lipides peut en soi améliorer le stress oxydatif [112], mais d'autres mécanismes indépendants du cholestérol contribueraient également aux effets antioxydants des statines [15]. Chez le lapin, les statines inhibent la production de ROS, comme le superoxyde et les radicaux hydroxy, lesquels détruisent le NO [113]. L'effet final des propriétés antioxydantes des statines est une augmentation de la biodisponibilité du NO avec une amélioration conséquente de la fonction endothéliale.

### *Statines et effets anti-inflammatoires*

Puisque l'inflammation joue un rôle crucial à chacune des étapes de l'athérosclérose [1], la mise en évidence de propriétés inflammatoires associées aux statines est d'un intérêt particulier. Les statines réduisent de façon marquée certaines protéines inflammatoires, comme le CRP et les molécules d'adhésion cellulaire, et elles provoquent une modification du contenu des plaques athéromateuses, soit une diminution des cellules T inflammatoires, en réponse aux traitements avec les statines [43].

### *Statines et diminution des concentrations de CRP*

Via leurs propriétés anti-inflammatoires, les statines réduisent les taux sanguins de CRP et ces changements ne sont pas corrélés aux réductions en LDL-C [8]. D'ailleurs, une étude a démontré que la réduction en CRP débutait après seulement deux semaines de traitement avec le simvastatin, indépendamment des réductions en LDL-C [114], ce qui reflète les bénéfices cardiovasculaires précoces du traitement avec une statine. L'étude REVERSAL a démontré qu'un traitement agressif avec l'atorvastatin provoque une réduction plus importante de CRP comparativement à un traitement modéré plus conventionnel, et que la diminution de progression de l'athérosclérose avec un tel traitement intensif était corrélée aux réductions plus importantes des niveaux des lipoprotéines athérogènes et de CRP [29]. Ensuite, l'étude PROVE IT-TIMI22 a démontré qu'un meilleur résultat clinique est prédit chez les individus avec des niveaux réduits de CRP, peu importe le niveau de LDL-C, et que le plus faible risque d'événement cardiovasculaire se retrouvait chez les individus avec des niveaux simultanément diminués de LDL-C et de CRP après traitement avec une statine [115]. Certains suggèrent donc que l'efficacité des traitements avec les statines puisse éventuellement être évaluée par la diminution en CRP en plus de celle en LDL-C [115]. Une thérapie intensive avec une statine pourrait ainsi s'avérer nécessaire afin d'atteindre de tels niveaux diminués pour ces deux paramètres.

### *Statines et diminution des molécules d'adhésion cellulaires*

Les molécules d'adhésion et les substances chimiotactiques jouent un rôle important dans le processus athérosclérotique, puisqu'ils provoquent l'adhésion et la migration des

leucocytes dans l'espace sous-endothélial avec établissement de la réponse inflammatoire [16]. Chez le rat, la simvastatin a diminué les molécules d'adhésion endothéliales, l'adhésion et la transmigration des leucocytes au niveau des cellules endothéliales, en l'absence de réduction des lipides [116].

### Statines et stabilisation de la plaque

La cause majeure des syndromes coronariens aigus est la rupture d'une plaque d'athérosclérose vulnérable, laquelle est caractérisée par un cœur riche en lipides avec une accumulation importante de cellules inflammatoires, notamment des macrophages [15, 17, 18]. Les macrophages activés produisent des MMP qui dégradent la matrice de la plaque et son cap fibreux, ce qui rend la plaque plus susceptible à la rupture [17]. Les plaques athéromateuses prélevées chez des individus traités avec une statine contenaient moins de lipides et de LDLox, moins de macrophages et de MMP et avaient un contenu plus élevé en collagène [43]; ce sont toutes des actions qui stabilisent la plaque. La simple diminution des lipides au niveau de la plaque d'athérosclérose pourrait en réduire légèrement la taille ou modifier les propriétés de son cœur lipidique, mais de tels changements s'échelonnent sur une longue période de temps et l'augmentation de la lumière du vaisseau est négligeable [29] ; cela suggère que d'autres mécanismes sont responsables des bénéfices précoces observés avec les statines. D'ailleurs, l'administration d'une statine dans les 24 premières heures d'hospitalisation après un infarctus aigu du myocarde s'est traduite par significativement moins de complications précoces et de mortalité à l'hôpital [117]. Puisque les réductions lipidiques ne surviennent que beaucoup plus tard, il est suggéré que l'augmentation de la survie résulte, au moins en partie, de l'effet stabilisateur des statines sur la plaque instable ayant causé l'infarctus aigu du myocarde. En somme, la diminution de l'accumulation des macrophages dans les lésions d'athérosclérose, l'inhibition des propriétés oxydatives des macrophages et l'inhibition de la production de MMP par les macrophages activés seraient les mécanismes responsables de la stabilisation de la plaque par les statines et donc de la réduction du risque de syndrome coronarien aigu [15, 16].

### Statines et effets anti-thrombotiques

Les plaquettes jouent un rôle critique dans le développement des syndromes coronariens aigus, puisque les plaquettes circulantes sont associées à la formation de thrombus muraux aux sites de rupture de plaque et de lésions vasculaires [15]. Plusieurs mécanismes contribuent à diminuer le potentiel thrombotique lors du traitement avec une statine. L'hypercholestérolémie est associée à une hyperréactivité plaquettaire [118], conférant un état pro-thrombotique à l'individu hypercholestérolémique. Les statines diminuent l'hyperréactivité plaquettaire et, en augmentant la biodisponibilité de NO provenant de l'endothélium, elles diminuent aussi l'agrégation plaquettaire [15]. Un autre mécanisme potentiel induit par les statines est la diminution de la production de thromboxane A<sub>2</sub> (TXA<sub>2</sub>) [15], une substance produite par les plaquettes activées qui a des propriétés pro-thrombotiques.

### Statines et stimulation du recrutement des progéniteurs des cellules endothéliales

Les progéniteurs des cellules endothéliales jouent un rôle important dans la réparation d'une lésion ischémique, en augmentant la néovascularisation, ce qui accélère la formation d'un nouvel endothélium après une lésion et améliore la fonction cardiaque post-ischémique [15]. Les statines augmentent les niveaux circulants de progéniteurs des cellules endothéliales et les mobilisent vers les régions ischémiques [119], ce qui a comme effet final de promouvoir l'angiogenèse et la réparation des tissus endommagés, et ces effets sont indépendants du cholestérol [15].

### Statines et immunomodulation

En lien étroit avec les processus inflammatoires, les mécanismes immunitaires sont également importants dans le processus d'athérosclérose [16]. Les statines inhibent des voies de signalisation immunomodulatoires en prévenant l'activation des lymphocytes T et en interférant dans les interactions entre les leucocytes et les cellules présentatrices d'antigènes, lesquelles dépendent des intégrines [120, 121]. Des évidences *in vitro* suggèrent que les statines pourraient être utilisées pour l'immunomodulation dans la greffe d'organes ou toute autre situation nécessitant une immunosuppression [120]. Dans la

transplantation cardiaque par exemple, l'ajout d'une statine aux médicaments anti-rejets habituels a significativement diminué l'incidence de rejet et a augmenté la survie [122].

#### Statines et inhibition de l'hypertrophie myocardique

L'hypertrophie ventriculaire gauche est un facteur de risque pour la maladie coronarienne et pour l'insuffisance cardiaque congestive [16]. Chez le rat, l'hypertrophie myocardique induite *in vivo* par l'angiotensine II est abolie par la prise d'une statine [123].

#### Exemple récapitulatif des effets pléiotropes des statines : réduction du risque d'accident vasculaire cérébral ischémique

De vastes études cliniques avec des statines ont démontré une réduction du risque des AVC ischémiques [124]. Puisqu'aucune corrélation n'a été trouvée entre l'AVC ischémique et les niveaux plasmatiques de cholestérol, les bienfaits du traitement avec les statines proviennent probablement de la combinaison de plusieurs effets pléiotropes des statines, en particulier l'augmentation de la stabilité de la plaque et la diminution de l'agrégation plaquettaire [15, 124]. De plus, les propriétés de mobilisation des progéniteurs des cellules endothéliales et les propriétés anti-inflammatoires des statines pourraient être neuroprotectrices [15].

### **3.2.2.3 Influence de la nutrition dans la réponse aux statines**

La combinaison des statines avec certains aliments de la nutrition peut provoquer un effet additif et synergique sur l'amélioration du profil lipidique. Cependant, des interactions néfastes entre les statines et certains aliments ont aussi été documentées. Certaines combinaisons des statines avec l'alimentation sont présentées.

#### Statines et stérols ou stanols provenant des plantes

L'ingestion de stérols ou stanol provenant des plantes peut engendrer des diminutions de LDL-C, de l'ordre de 10 à 15% [125, 126]. Le mécanisme d'action est une diminution de l'absorption du cholestérol alimentaire et biliaire, mais une augmentation compensatoire de

la synthèse du cholestérol par l'HMG-CoA réductase s'ensuit [127], ce qui pourrait être bloqué sélectivement par l'ajout d'une statine. En effet, plusieurs études ont démontré que la combinaison des statines avec les stérols/stanols engendrait une diminution du LDL-C additive et indépendante, sans augmentation significative des effets secondaires majeurs [125, 126, 128, 129]. L'addition de margarine enrichie en esters de stérol à une statine offrirait des réductions en LDL-C équivalent à doubler la dose de statine [125]. Chez la souris, la combinaison d'atorvastatin avec des stérols ou stanols inhibe fortement la progression de la plaque, pouvant même jusqu'à faire régresser des lésions existantes [129].

#### Statines et acides gras oméga-3

Bien que des réductions substantielles en LDL-C soit obtenues, les statines n'ont qu'une faible portée sur l'amélioration des concentrations de HDL-C et de TG (Tableau 3-1). L'ajout d'un supplément d'oméga-3 à une statine produit une plus grande diminution des niveaux de TG, que la statine seule, ce qui représente une avenue intéressante dans le traitement de la dyslipidémie athérogène [130]. Cette combinaison est bien tolérée, sécuritaire et n'augmente pas les effets secondaires [131].

#### Statines et jus de pamplemousse

Des effets sur les enzymes du cytochrome P450 (CYP450) sont les causes les plus fréquentes d'interactions médicamenteuses documentées [132]. Ces enzymes, présentes principalement au niveau du foie et de la paroi intestinale, sont responsables de la dégradation de plusieurs substances exogènes et médicaments, notamment les statines [133]. Une inhibition du CYP450 diminue le métabolisme du médicament et provoque une augmentation des concentrations plasmatiques, ce qui augmente la probabilité d'effets indésirables et de conséquences parfois graves [132]. Au contraire, l'induction du CYP450 augmente l'élimination du médicament et entraîne une diminution de ses concentrations plasmatiques, ce qui diminue et même élimine l'effet pharmacologique recherché [132]. Un ajustement des doses des médicaments peut ainsi être nécessaire. Plusieurs substances peuvent interagir avec le CYP450, mais le jus de pamplemousse est responsable d'une interaction fréquente avec les statines. En effet, le jus de pamplemousse augmente la biodisponibilité des statines, en inhibant le CYP450 3A4 du petit intestin [134], ce qui

réduit le catabolisme de la statine, avant même qu'elle ne soit absorbée dans la circulation systémique. Les substances du jus de pamplemousse responsables de ce phénomène d'inhibition n'ont pas encore été identifiées avec certitude, mais le flavonoïde naringin, d'autres flavonoïdes et les furanocoumarins ont été proposés [133]. À défaut d'exclure le pamplemousse de l'alimentation, les fibrates, l'acide nicotinique et les séquestrants biliaires sont des thérapies alternatives aux statines pour prévenir les MCV [21] qui n'interagissent pas avec le jus de pamplemousse [134].

#### Statines et diète de type méditerranéenne

La combinaison d'une diète de type méditerranéenne, c'est-à-dire riche en acides gras oméga-3, fruits et légumes et fibres alimentaires, avec une statine a démontré avoir des effets indépendants et additifs sur l'amélioration du profil lipidique, particulièrement en termes de diminution des concentrations de LDL-C [135].

#### Statines et diète Portfolio

La diète Portfolio, développée par l'équipe de Jenkins *et al.* de l'Université de Toronto, est essentiellement végétarienne et est basée sur quatre constituants principaux qui ont des propriétés hypocholestérolémiantes : stérols des plantes, protéine de soya, fibres solubles et amandes [57, 136]. Ces quatre composantes de la diète Portfolio auraient des mécanismes d'action complémentaires pour faire diminuer le cholestérol, ce qui amplifierait leur efficacité [57, 136]. La diète Portfolio provoque non seulement des réductions du cholestérol plasmatique, mais également des réductions des concentrations plasmatiques de CRP [57, 136]. Ces réductions de cholestérol et de CRP sont comparables à celles observées avec une dose de départ de statine de première génération [57, 136]. Cependant, même si cette diète est très intéressante et génère des résultats relativement impressionnants, elle est difficile à appliquer en pratique. La diète Portfolio est donc vouée à des fins de recherche ou à des personnes prêtes à faire des modifications drastiques de leur régime alimentaire.

En conclusion, il peut être intéressant pour un professionnel de la santé de connaître de telles propriétés de l'alimentation puisque l'approche nutritionnelle offre une voie

alternative ou complémentaire aux statines pour obtenir un effet hypolipémiant maximal et ainsi obtenir un bilan lipidique optimal.

#### **3.2.2.4 Influence de la génétique dans la réponse aux statines**

Plusieurs facteurs sont associés à la réponse au traitement par un médicament : l'état de santé général du patient, la sévérité de sa maladie, son observance du traitement prescrit et *son profil génétique* [137]. Il existe une importante variabilité interindividuelle dans la réponse aux statines, autant en termes de diminution du LDL-C que de diminution des événements cardiovasculaires [138]. En effet, en mesurant les concentrations sériques de cholestanol, une étude a démontré la présence d'un sous-groupe de patients chez qui le traitement avec la simvastatin ne diminuait pas la fréquence d'événements coronariens [139]. Plus précisément, les patients avec une absorption augmentée de cholestérol et avec une synthèse diminuée de cholestérol sont ceux qui bénéficieraient le moins d'un traitement avec une statine [139]. Au contraire, les patients avec une synthèse basale augmentée de cholestérol seraient des bons répondants aux statines [139]. Une hypothèse est que les variations dans la réponse aux statines sont basées sur des variations génétiques [140, 141]. L'approche des gènes candidats a orienté les recherches principalement vers les gènes impliqués dans le métabolisme des lipides et dans le métabolisme des statines. Les résultats des recherches sont pour l'instant limités et parfois contradictoires, mais cela pourrait possiblement refléter un manque de puissance des études individuelles, en raison de tailles d'échantillon trop petites. Certaines des associations significatives répertoriées dans la littérature entre certains polymorphismes et la réponse aux statines sont présentées dans le Tableau 3-2.

En résumé, la pharmacogénomique est un domaine émergent en plein développement et les résultats sont pour l'instant limités. Il est clair que des études avec de très grandes tailles d'échantillons ( $n > 1500$ ) seront nécessaires pour trouver des associations significatives et reproductibles, tout en utilisant des critères statistiques conservateurs [141]. Jusqu'à maintenant aucun polymorphisme n'a été identifié qui rendrait inefficace le traitement avec les statines, donc l'utilisation d'analyse génétique n'est pas encore justifiée et aucun patient

ne devrait être exclu d'un traitement avec une statine [137, 140]. L'ampleur et la pertinence clinique de la diminution d'efficacité des statines produite par chaque polymorphisme devront aussi être plus amplement étudiées. Même si davantage de recherche sur le sujet est nécessaire, il peut tout de même être intéressant pour un professionnel de la santé de savoir que certains patients répondent moins bien aux statines et qu'une thérapie intensive ou combinée peut s'avérer nécessaire pour parvenir à un bilan lipidique acceptable. Lorsqu'elle sera au point, la pharmacogénétique des statines pourrait éventuellement permettre une individualisation du traitement des MCV.

TABLEAU 3-1 : Différents médicaments hypolipémiants utilisés dans le traitement des dyslipidémies et leurs effets sur les concentrations plasmatiques de CRP (Adapté de [21]).

<i>Classe de médicaments, agents et dose quotidienne</i>	<i>Effets sur les lipides/ lipoprotéines</i>	<i>Effets sur les concentrations de CRP</i>	<i>Effets secondaires</i>	<i>Contre-indications</i>	<i>Résultats d'essais cliniques</i>
Inhibiteurs de l'HMG-CoA réductase (statines) *	LDL ↓ 18-55% HDL ↑ 5-15% TG ↓ 7-30%	↓ 13-50% (Combinaison avec ezetimibe ◇ : ↓ 25-62%) [9]	Myopathies, augmentation des enzymes hépatiques	Absolue : maladie hépatique active ou chronique Relative : usage concomitant de certains médicaments §	Diminution des événements coronariens majeurs, de la mortalité cardiovasculaire, des procédures coronariennes, des AVC et de la mortalité totale
Séquestrants d'acides biliaires †	LDL ↓ 15-30% HDL ↑ 3-5% TG Pas de changement ou augmentation	↓ 15.9% [142] (Combinaison avec statine : ↓ 23% [143])	Troubles gastro-intestinaux, constipation, diminution de l'absorption d'autres médicaments	Absolue : dysbetalipoprotéinémie, TG > 4.5 mmol/L Relative : TG > 2.3 mmol/L	Diminution des événements coronariens majeurs et de la mortalité cardiovasculaire
Acide nicotinique ‡	LDL ↓ 5-25% HDL ↑ 15-35% TG ↓ 20-50%	Combinaison avec statine : ↓ 24% [9]	Flushing, hyperglycémie, hyperuricémie (ou goutte), troubles gastro-intestinaux supérieurs, toxicité hépatique	Absolue : maladie hépatique chronique, goutte sévère Relative : diabète, hyperuricémie, ulcère peptique	Diminution des événements coronariens majeurs et possiblement de la mortalité cardiovasculaire
Fibrates	LDL ↓ 5-20% (peuvent augmenter chez patients avec TG élevés) HDL ↑ 10-20% TG ↓ 20-50%	Résultats inconsistants, mais le fenofibrate pourrait ↓ CRP 30-84% [9]	Dyspepsie, calculs biliaires, myopathies, mortalité non-cardiovasculaire inexplicée dans l'étude WHO, pancréatite et embolie pulmonaire avec fenofibrate dans l'étude FIELD	Absolue : maladie rénale sévère, maladie hépatique sévère	Diminution des événements coronariens majeurs

LDL, lipoprotéine de faible densité ; HDL, lipoprotéine de haute densité ; TG, triglycérides ; ↓, diminue ; ↑, augmente ; MCV, maladies cardiovasculaires.

\* Lovastatin (20-80 mg), pravastatin (20-40 mg), simvastatin (20-80 mg), fluvastatin (20-80 mg), atorvastatin (10-80 mg) et cerivastatin (0.4-0.8 mg).

◇ Ezetimibe (10 mg) est un inhibiteur de l'absorption du cholestérol, prévenant l'absorption du cholestérol alimentaire et biliaire

§ Cyclosporine, antibiotiques macrolide, divers agents antifongiques et inhibiteurs du cytochrome P-450 (fibrates et niacin devraient être utilisés avec prudence).

† Cholestyramine (4-16 g), colestipol (5-20 g) et colesevelam (2.6-3.8 g).

‡ Acide nicotinique à action immédiate (immediate-release) (cristalline) (1.5-3 g), acide nicotinique à action prolongée (extended-release) (1-2 g) et acide nicotinique à action soutenue (sustained-release) (1-2 g).

|| Gemfibrozil (600 mg bid), fenofibrate (200 mg) et bezafibrate (400 mg id)

TABLEAU 3-2 : Résumé de différents polymorphismes génétiques proposés qui affecteraient l'efficacité des statines.

<i>Gène</i>	<i>Fonction du gène</i>	<i>Polymorphisme</i>	<i>Effet du polymorphisme sur efficacité des statines</i>
<b>CETP</b> [144]	Rôle central dans le transport inverse du cholestérol en faisant des échanges entre les lipoprotéines	Génotype B1B1  Génotype B2B2 (16% des caucasiens)	[CETP] plus élevées, [HDL-C] plus faibles et progression plus rapide de l'athérosclérose coronarienne, pravastatin ralentit progression athérosclérose [CETP] plus faibles, [HDL-C] plus élevées, mais ne répondent pas à pravastatin
<b>apoE</b> (allèles E2 et E4) [137, 141, 145]	Impliquée dans absorption intestinale du cholestérol, sert de ligand au LDLR et rôle dans transport inverse du cholestérol via son association aux HDL [140], fréquences des allèles E2, E3 et E4 sont respectivement 8, 78 et 14% [137]	ApoE4 (effet hypercholestérolémiant) ApoE2 (effet hypocholestérolémiant)	Statine moins efficace, car LDLR diminués et activité de HMGCR déjà réduite Meilleure réponse aux statines, car activité de HMGCR plus élevée à l'état basal (ces effets sont seulement observés chez les hommes)
<b>ACE</b> [146]	Convertit angiotensine I en angiotensine II, ce qui favorise processus d'athérosclérose [137, 146]	Polymorphisme insertion/délétion : génotype DD	Traitement avec pravastatin moins efficace, avec taux plus élevé d'événements cardiovasculaires ischémiques
<b>LH</b> [147]	Hydrolyse TG des lipoprotéines des IDL et grosses LDL, hydrolyse HDL <sub>2</sub> en HDL <sub>3</sub> [137]	-514(C/T) : Génotype CC Génotype CT Génotype TT	Traitement incluant lovastatin : Amélioration de sténose coronarienne Moins d'amélioration sténose coronarienne Progression de la sténose coronarienne
<b>CYP3A4</b> [148]	Métabolise plusieurs statines (lovastatin, simvastatin et atorvastatin) au niveau des entérocytes du petit intestin [140], variation jusqu'à un facteur 10 dans l'activité de CYP3A4 [149]	Variant A290G  Variant M445T	Niveaux plus élevés de LDL-C après traitement avec atorvastatin Niveaux plus faibles de LDL-C avant et après traitement avec atorvastatin
<b>ABCG8</b> [150]	Absorption du cholestérol au niveau de l'intestin [140] (augmentation compensatoire de l'absorption de cholestérol via ABCG8 pourrait expliquer des niveaux élevés de LDL-C persistant après traitement avec statine)	ABCG8 H19	Plus grande sensibilité aux statines (réduction plus importante de LDL-C avec atorvastatin), car [cholestérol] intracellulaire plus faible et synthèse augmentée de cholestérol
<b>HMGCR</b> [141]	Synthèse endogène du cholestérol, cible d'action des statines	SNPs (12 et 29)	Moins bonne efficacité des statines

CETP, protéine de transfert du cholestérol estérifié; apoE, apolipoprotéine E; LDLR, récepteur des lipoprotéines de faible densité; HDL, lipoprotéines de haute densité; HMGCR, HMG-CoA réductase; ACE, enzyme de conversion de l'angiotensine; LH, lipase hépatique; TG, triglycérides; IDL, lipoprotéines de densité intermédiaire; LDL, lipoprotéines de faible densité; CYP3A4, sous-famille 3A du cytochrome P450; LDL-C, cholestérol des lipoprotéines de faible densité; ABCG8, ATP binding cassette sous-famille G8; SNP, polymorphisme nucléotidique.

## CHAPITRE 4 : Étude de la cinétique des protéines

L'étude de la cinétique *in vivo* d'une protéine implique l'administration d'un traceur, généralement une protéine ou un acide aminé, lequel doit être identique à son homologue, appelé tracé, mais diffère de celui-ci par son marquage à l'aide d'un isotope stable ou radioactif. Le marquage peut s'effectuer de façon endogène ou exogène.

L'isolation et le marquage de la protéine d'intérêt qui est ensuite réinjectée dans l'organisme étudié constituent le marquage exogène. Le taux de catabolisme de la protéine d'intérêt est calculé en mesurant la quantité de rayonnement radioactif émis par des échantillons physiologiques prélevés à des temps de plus en plus distants de l'injection de départ. La diminution du rayonnement dans le temps s'explique par la dégradation et l'élimination de la protéine étudiée par l'organisme.

Le marquage endogène implique le marquage de la protéine au moment de sa biosynthèse à l'intérieur de l'organisme étudié. L'utilisation d'isotopomères d'acides aminés, stables ou radioactifs, comme traceurs est une méthode fort intéressante puisque ces acides aminés marqués sont incorporés au même titre que les acides aminés naturels lors de la synthèse de toutes les protéines de l'organisme. Les techniques les plus couramment utilisées sont le marquage au carbone-13, au deutérium, à l'azote-15 et à l'oxygène-18. Le ratio traceur/tracé évolue en fonction du temps selon la disponibilité en acide aminé marqué. L'augmentation du ratio traceur/tracé est associée au taux de synthèse de la protéine alors que la diminution du ratio traceur/tracé reflète son taux de catabolisme. Pour l'utilisation d'isotopomères stables, la mesure du ratio traceur/tracé est généralement obtenue en utilisant un appareil de chromatographie en phase gazeuse couplé à un spectromètre de masse, lequel est capable de discriminer et de mesurer séparément l'abondance du traceur et du tracé à l'intérieur d'un même échantillon.

Pour la présente étude, un isotopomère de l'acide aminé leucine triplement marqué au deutérium, la [5, 5, 5,<sup>-2</sup>H<sub>3</sub>]-L-leucine, a été utilisé comme traceur. Après son injection dans la circulation sanguine, la leucine marquée devient disponible pour la biosynthèse protéique

à l'intérieur de toutes les cellules de l'organisme. Des prélèvements sanguins permettent d'isoler les protéines intravasculaires et d'en étudier leur métabolisme. Cette technique a été largement utilisée pour étudier le métabolisme *in vivo* des différentes lipoprotéines plasmatiques, mais nous avons élargi l'utilisation de cette technique à une autre protéine plasmatique, le CRP. Ainsi, l'enrichissement progressif en leucine deutérée permet de calculer les taux de production (PR) et de catabolisme (FCR) du CRP à la suite de chacun des traitements de l'étude.

## 4.1 Cinétique du CRP

Nos connaissances générales du métabolisme *in vivo* du CRP chez l'humain sont limitées. Avant cette présente étude, seulement deux études étaient disponibles au sujet de la cinétique du CRP. Réalisée par l'équipe de Vigushin, la première étude cinétique du CRP date de plus de dix ans [151]. Ils avaient utilisé du CRP marqué de façon exogène qui était ensuite réinjecté chez des sujets présentant diverses pathologies inflammatoires. Les résultats de cette étude suggéraient que la clairance du CRP n'était pas modifiée par les maladies étudiées et que le FCR était indépendant de la concentration plasmatique de CRP [151]. Ainsi, il a été conclu que le taux de synthèse du CRP était le seul déterminant de sa concentration plasmatique. Notre laboratoire a développé une nouvelle technique basée sur le marquage *endogène* du CRP. La deuxième étude disponible sur la cinétique du CRP provient d'un membre de notre équipe de recherche qui, à l'aide de cette nouvelle méthode, est parvenu à étudier pour la toute première fois le métabolisme *in vivo* du CRP, chez des hommes et des femmes en santé [152]. En somme, ces deux études suggèrent que le PR de CRP est un meilleur déterminant des concentrations plasmatiques de CRP que ne l'est son FCR.

## 4.2 Objectifs des travaux de recherche

Dans cette présente étude, nous avons utilisé la même technique de marquage endogène afin d'étudier la cinétique du CRP en réponse à un traitement pharmacologique. Spécifiquement, cela nous a permis de mieux comprendre les mécanismes qui déterminent les concentrations de CRP après un traitement avec le fenofibrate ou l'atorvastatin. Au meilleur de nos connaissances, il s'agissait de la première étude portant sur le métabolisme *in vivo* du CRP en réponse à un traitement pharmacologique chez des diabétiques de type 2.

Le chapitre suivant présente les résultats générés dans le cadre de ces travaux de maîtrise, sous la supervision de Dr Benoît Lamarche et Dr Patrick Couture. L'objectif de recherche était de comparer l'impact d'un traitement avec une statine vs. un fibrate (atorvastatin vs. fenofibrate) sur le métabolisme *in vivo* du CRP chez des hommes avec diabète de type 2 et, plus spécifiquement, d'identifier le mécanisme par lequel l'atorvastatin avait réduit les concentrations plasmatiques de CRP. L'hypothèse de recherche était que la baisse de CRP induite par l'atorvastatin serait en grande partie attribuable à une baisse de production endogène de CRP par le foie, plutôt qu'à une augmentation de sa clairance. Le chapitre est présenté sous forme de manuscrit qui sera soumis sous peu pour publication à la revue *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology* (ATVB).

## **CHAPITRE 5 : Cinétique *in vivo* de la protéine C-réactive chez des hommes avec diabète de type 2 : Réponse à un traitement avec fenofibrate ou atorvastatin**

L'article qui compose ce chapitre s'intitule :

***In Vivo* Kinetics of C-Reactive Protein in Men with Type 2 Diabetes: Response to Treatment with Fenofibrate or Atorvastatin**

Josée Levesque, Jean-François Mauger, Jean-Charles Hogue, Patrick Couture, Benoît Lamarche

Sera soumis sous peu pour publication à la revue *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology* (ATVB).

## Résumé

La protéine C-réactive, une protéine de la phase aiguë de l'inflammation, a été proposée comme nouveau marqueur cardiovasculaire spécifique. L'état pro-inflammatoire associé au diabète de type 2 contribue probablement au risque cardiovasculaire accru qui est également associé à cette maladie. Les statines ont démontré de puissantes propriétés anti-inflammatoires, dont une diminution significative des marqueurs d'inflammation incluant le CRP, alors que les traitements avec fibrates ont montré des résultats inconsistants quant à leurs effets sur les concentrations de CRP. L'objectif était d'étudier le métabolisme *in vivo* du CRP en réponse à un traitement avec l'atorvastatin ou le fenofibrate chez des diabétiques. Une étude parallèle à double insu a été réalisée chez 11 hommes avec diabète de type 2 ( $54 \pm 7$  (SD) ans, IMC  $29.3 \pm 3.7$  kg/m<sup>2</sup>) assignés aléatoirement à un traitement avec soit atorvastatin 20 mg/d (n=6) ou fenofibrate 200 mg/d (n=5). La cinétique du CRP a été mesurée à l'état basal et à la fin des traitements de 6 semaines par infusion constante (12h) de L-[5,5,5-D<sup>3</sup>]-leucine précédée d'un bolus. Les paramètres cinétiques ont été déterminés par modélisation multicompartimentale. L'atorvastatin (-18.1%, p=0.12) et le fenofibrate (-18.3%, p=0.34) ont réduit les concentrations plasmatiques de CRP, mais ces changements n'étaient pas statistiquement significatifs. Un changement du PR de CRP était fortement corrélé aux réductions de CRP induites (données combinées : R=0.745, p=0.0085; fenofibrate : R=0.900; p=0.037; atorvastatin : R=0.829, p=0.042), alors qu'un changement du FCR n'était pas significativement corrélé à celles-ci (R=-0.009, p=0.98). Un changement des concentrations de Il-6 était associé à un changement du PR de CRP (R=0.718, p=0.013) et moins fortement avec le FCR (R=0.527, p=0.096). Chez des hommes diabétiques, un changement de l'hémoglobine glyquée était corrélé à des changements des concentrations de CRP (R=0.609, p=0.047) et des changements de PR (R=0.745, p=0.0085), lors de l'analyse de tous les sujets ensemble. Il s'agit de la première étude du métabolisme *in vivo* du CRP en réponse à un traitement pharmacologique. Nos données suggèrent qu'une réduction des concentrations plasmatiques de CRP avec le fenofibrate ou l'atorvastatin, chez des diabétiques de type 2, se produit via une réduction de la production du CRP par le foie et non une augmentation de sa clairance. De plus larges études seront nécessaires pour confirmer ces résultats.

***IN VIVO KINETICS OF C-REACTIVE PROTEIN IN MEN WITH TYPE 2 DIABETES:  
RESPONSE TO TREATMENT WITH FENOFIBRATE OR ATORVASTATIN***

**Short Title: CRP kinetics, fenofibrate vs. atorvastatin**

**Authors:**

Josée Levesque<sup>1</sup>, Jean-François Mauger<sup>1</sup>, Jean-Charles Hogue<sup>2</sup>, André J. Tremblay<sup>2</sup>, Patrick Couture<sup>2</sup> and Benoît Lamarche<sup>1</sup>

**From the:**

<sup>1</sup> Institute on Nutraceuticals and Functional Foods, Laval University, Quebec City, Canada, G1K 7P4

<sup>2</sup> Lipid Research Center, Laval University Medical Center, Quebec City, Canada, G1V 4G2

**Address of correspondence:**

Benoît Lamarche, PhD. Institute on Nutraceuticals and Functional Foods, Pavillon des services, Laval University. 2440, Hochelaga Blvd, Québec, Canada, G1K 7P4. Tel: (418) 656-3527. Fax: (418) 656-5877. E-mail: [Benoit.Lamarche@inaf.ulaval.ca](mailto:Benoit.Lamarche@inaf.ulaval.ca)

**Word count of body (including references, figure legends and tables): 4960**

**Word count of abstract: 192**

**Total number of figures and tables: 2 figures and 3 tables**

## ABSTRACT

**Objective** – The objective of this study was to investigate the in vivo kinetics of CRP in response to treatment with atorvastatin or fenofibrate in men with type 2 diabetes.

**Methods** – This was a double-blind, parallel study in which 11 male with type 2 diabetes (mean age  $54 \pm 7$  (SD) yrs, body mass index  $29.3 \pm 3.7$  kg/m<sup>2</sup>) were randomized to treatment with either atorvastatin 20 mg/d (n=6) or fenofibrate 200 mg/d (n=5). Plasma CRP kinetics were assessed at baseline and at the end of the 6-week treatments using a primed-constant infusion of L-[5,5,5-D<sup>3</sup>]-leucine for 12h and multicompartmental modeling.

**Results** – Both atorvastatin (-18.1%, p=0.12) and fenofibrate (-18.3%, p=0.34) reduced plasma CRP concentrations. Change in CRP production rate (PR) was a strong correlate of treatment-induced reductions in plasma CRP concentrations (pooled data: R=0.75, p=0.009; fenofibrate: R=0.90, p=0.04; atorvastatin: R=0.83, p=0.04), while FCR was not (pooled data: R=-0.009, p=0.98). Change in interleukin-6 (Il-6) concentrations were associated with changes in CRP PR (R=0.72, p=0.01).

**Conclusions** –The reduction in plasma CRP concentrations with either fenofibrate or atorvastatin in type 2 diabetics occurs through a reduction in the production rate of CRP, rather than by an increase in its clearance rate.

**Keywords:** C-reactive protein (CRP), kinetic, type 2 diabetes, atorvastatin, fenofibrate

## CONDENSED ABSTRACT

Our data suggest that, in men with type 2 diabetes, the reduction in plasma CRP concentrations in response to treatment with atorvastatin or fenofibrate mainly occurs through a reduction in the production rate of CRP, rather than by an increase in its clearance rate.

## INTRODUCTION

Inflammation is now thought to be a keystone component in every step of the development of the atherosclerosis plaque, from fatty streak to plaque rupture.[1] C-reactive protein (CRP), a non-specific protein of the acute inflammation phase, has been proposed to be a new cardiovascular biomarker of atherosclerosis and its complications.[2] CRP is produced mainly by the liver, where its synthesis by hepatocytes is stimulated by interleukin-6 (Il-6), an inflammatory cytokine.[3]

Type 2 diabetes has been associated with an atherogenic dyslipidemia, characterized by elevated plasma triglycerides (TG), low HDL-cholesterol (HDL-C) and small, dense low-density lipoprotein (LDL) particles.[4] Type 2 diabetes has also been associated with a pro-inflammatory state.[5] Elevated plasma CRP concentrations have been shown to predict the development of type 2 diabetes independent of traditional risk factors such as body mass index (BMI) and glucose concentrations.[6]

HMG-CoA reductase inhibitors (statins) and fibrates are two drugs frequently used for the treatment of the diabetic dyslipidemia. Statin therapy has demonstrated undeniable cardiovascular benefits, a consequence of their lipid-lowering properties but also of many pleiotropic effects.[7] Several studies have shown that statins drastically reduce CRP concentrations, most likely through anti-inflammatory properties, and this reduction is independent of the reduction in cholesterol of low-density lipoprotein (LDL-C).[8] Fibrates are activators of peroxisome proliferator-activated receptors  $\alpha$  (PPAR $\alpha$ ) and promote triglyceride-rich lipoproteins (TRL) catabolism.[9] Recent studies have demonstrated that fenofibrate decreases plasma CRP concentrations in patients with various dyslipidemias and clinical status.[10-12] It must be stressed that no study has yet investigated how changes in plasma CRP occur after treatment with statins or fibrates.

The aim of the present study was to investigate for the first time CRP in vivo metabolism in response to treatment with atorvastatin or fenofibrate in men with type 2 diabetes. We hypothesized that the reduction in plasma CRP with treatment would be mainly attributable to a reduction of endogenous CRP production by the liver, rather than to an increase of its clearance.

## **METHODS**

### **Subjects**

This study consists of a secondary analysis of a study designed to evaluate the impact of atorvastatin and fenofibrate on plasma inflammation, adhesion and oxidation markers in type 2 diabetic subjects.[13] Of the 40 participants from the original study sample, 12 (6 atorvastatin and 6 fenofibrate) agreed to participate in the kinetic substudy to evaluate in vivo kinetics of CRP and various lipoproteins. One of the kinetic subjects from the fenofibrate group was excluded for poor compliance to treatment and to study protocol. All study subjects were diagnosed with type 2 diabetes according to the American Diabetes Association criteria.[14] Exclusion criteria were previously described.[13] All subjects had to receive stable doses of diabetes-controlling pharmacotherapy for at least three months prior to the study to achieve glycosylated hemoglobin values (HbA1c) less than 9%. All patients were treated with either metformin or a combination of metformin and a sulfonylurea. Three subjects received a thiazolidinedione (TZD). All subjects had to withdraw lipid-lowering medication for at least 6 weeks before the study. The research protocol was approved by the Laval University Medical Center review committee and written informed consent was obtained from each subject.

### **Study Design**

Patients were randomly assigned to receive in a double-blind fashion either atorvastatin 20 mg/d or micronized fenofibrate 200 mg/d for 6 weeks after a 6-week run-in/wash-out period.[13] Blood sampling and kinetic studies were performed at baseline and after the treatment period. Compliance was assessed by pill counting.

### **Lipid and CRP Measurements**

At each visit, 12-hour fasting venous blood samples were obtained from antecubital vein into Vacutainer tubes (Becton Dickinson, Franklin Lakes, NJ) containing EDTA (0.1% final concentration). Samples were then immediately centrifuged at 4°C for 10 minutes at 3000 rpm to obtain plasma and were stored at 4°C until processed. Plasma lipoprotein-lipid levels were measured as described previously.[13] Plasma CRP concentrations were measured in all subjects using the Dade BN ProSpect autoanalyzer (Deerfield, IL) and reagents and calibrators provided

by the manufacturer. For patients who participated in the kinetic study, plasma CRP concentrations were determined from the  $d > 1.25$  g/ml fraction using a commercial high sensitivity C-reactive protein (hsCRP) enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) (BioCheck inc, Foster City, California), see below. Plasma Il-6 concentrations were also measured using a commercial high sensitivity immunosorbent assay (R&D Systems, Minneapolis, MN).

### **Kinetic Study**

To determine CRP kinetics, subjects underwent a primed-constant infusion of L-[5,5,5-D3] leucine while they were in a constantly fed state. Starting at 7:00 am, the subjects received 30 identical small cookies every half hour for 15 hours, each equivalent to one-thirtieth of their estimated daily food intake based on the Harris-Benedict equation,[15] with 15% of calories as protein, 45% carbohydrate, 40% fat (7% saturated, 26% monounsaturated, 7% polyunsaturated), and 85 mg of cholesterol/1000 kcal. At 10:00 am, with 2 intravenous lines in place, one for the infusate and one for blood sampling, L-[5,5,5-D3] leucine ( $10 \mu\text{mol/kg}$  body weight) was injected as a bolus intravenously and then by continuous infusion ( $10 \mu\text{mol}\cdot\text{kg}$  body weight $\cdot\text{h}^{-1}$ ) over a 12-hour period. Blood samples (20 ml) were collected at hours 0, 0.5, 1, 1.5, 2, 3, 4, 5, 6, 8, 10, and 12.

### **CRP Isolation**

CRP was purified by affinity chromatography from the  $d > 1.25$  mg/l plasma fraction obtained by ultracentrifugation as previously described.[16] Briefly, EDTA was first removed from samples by an overnight dialysis step against Tris-buffered saline. The EDTA-free  $\rho > 1.25$  g/ml plasma protein fraction was then incubated with 75  $\mu\text{l}$  of phosphoethanolamine covalently immobilized on activated CH-Sepharose beads (activated CH Sepharose 4B; GE Healthcare Bio-Sciences Corp., Piscataway, NJ) in a Tris-calcium buffer [140 mM NaCl, 10 mM Tris, 10 mM  $\text{CaCl}_2$  (pH 8)] for 45 min at room temperature. Afterward, beads were washed thoroughly with Tris-calcium buffer (2 ml) and CRP was specifically eluted using 10 mM phosphocholine in Tris-calcium buffer. Recovered proteins were then subjected to electrophoresis on SDS-polyacrylamide gel (16%) for 3 h at 150V. Coomassie blue staining and pure human CRP (Fitzgerald Industries International, Concord, MA) in a control lane on the gel were used to identify the band corresponding to isolated CRP monomers. As previously reported,[16] CRP immunoblotting and peptide mass fingerprint analyses were used to respectively confirm the

absence of CRP in other plasma density fractions and the purity of isolated CRP. Assuming that the loss in recovery from the  $\rho > 1.25$  g/ml was not related to a loss of a specific intravascular pool of CRP, a linear regression equation was used to adjust values from the  $\rho > 1.25$  g/ml fraction back to plasma concentrations: corrected CRP<sub>plasma</sub> (mg/L) = (CRP <sub>$\rho > 1.25$</sub>  + 0.2078) / 0.6352, where 0.2078 and 0.6352 represent respectively the intercept and slope of the regression between CRP measured in the plasma and in the  $\rho > 1.25$  g/ml density fraction. Corrected CRP concentrations were used for all statistical analyses.

### **Isotopic enrichment measurements**

Gel bands containing CRP were hydrolyzed in HCl 6 N at 110 C for 24 h. Recovered amino acids were derivatized using trifluoroacetic acid/ trifluoroacetic acid anhydride and leucine isotopic ratio was determined at each kinetic time point by gas chromatography/mass spectrometry using single ion monitoring (m/z 209 and 212).

### **Determination of CRP kinetics**

By fitting the CRP tracer enrichment data [m/z 212/(209+212)] over time from each individual to a monoexponential function using the SAAMII software (Department of Bioengineering, University of Washington, Seattle, WA),[17] an estimate of the fractional catabolic rate (FCR) of CRP was derived for each study participant. Enrichment data were fitted to the mathematical function  $Z(t) = Z_p(1 - e^{-k(t-d)})$  where  $Z(t)$  is the enrichment ratio at time  $t$ ,  $Z_p$  is the enrichment ratio corresponding to the plateau of the curve representing the precursor amino acid pool,  $d$  is the delay time in hours, and  $k$  is the FCR in pools per hour. The enrichment plateau of VLDL apoB-100 with deuterium-labeled leucine was used as the forcing function for precursor pool enrichment because CRP synthesis is believed to occur mostly in the liver. VLDL apo B100 enrichment plateau values were extrapolated using SAAMII or estimated using the regression equation between VLDL apo B100 enrichment plateau values and the plasma free amino acid enrichment in patients who had not reached plateau after 12h hours.[18] The constant feeding protocol was shown to generate steady state plasma CRP concentrations over the 12 h of the tracer infusion (data not shown).[16] Absolute production rate (PR) was calculated (in milligrams per day) using the formula:  $PR = FCR$  (pools per day)  $\times$  pool size (milligrams per pool). Pool size was calculated as the plasma concentration of CRP (milligrams per liter) multiplied by the estimated plasma volume (value fixed at 0.045 liter per kilogram body weight).

## Statistical Analysis

All statistical analyses were performed using SAS (version 8; SAS Institute Inc., Cary, NC, USA). CRP PS, PR and FCR as well as TG, CRP and Il-6 concentrations were log transformed to normalize their distributions. Paired t-tests were used to compare the effects of fenofibrate and atorvastatin on the lipid–lipoprotein profile and kinetic parameters within each group. The between-treatment differences were investigated by unpaired t-test. Spearman's correlation analyses were used to assess relationship between CRP kinetic parameters and biochemical, metabolic and anthropometric variables.

## RESULTS

Subjects demographic, anthropometric and biochemical characteristics at baseline are presented in **Table 1** and characteristics of kinetics subjects are compared with those of the 38 participants from the original study. With a few exceptions, the subsamples of patients who participated in the kinetic studies were comparable to their comparative treatment groups. Baseline values for the lipids, HbA1c, CRP and Il-6 concentrations were not significantly different between the two kinetic groups (data not shown).

In general, the magnitude changes in plasma lipids after fenofibrate and atorvastatin in the entire study groups and in the kinetic subgroups were also comparable (**Table 2**). However, plasma CRP concentrations were lowered to a greater extent in the 5 fenofibrate kinetic subjects as a group, compared with the whole fenofibrate group.

**Table 3** shows the individual and mean pre and post treatment CRP kinetic data in the fenofibrate and atorvastatin groups. The mean reduction in plasma CRP concentration with fenofibrate was largely attributable to important reductions in 2 out of the 5 fenofibrate subjects (#2 and #5). Only changes in plasma CRP concentrations and CRP PS tended to be lower in the atorvastatin kinetic group ( $p=0.08$ ). CRP concentrations, PS, FCR and PR were not significantly different between the 2 kinetic groups for baseline and treated values.

**Figure 1 (Panel 1)** shows that there was no significant association between change in plasma CRP concentrations with treatment and change in the FCR of CRP in all subjects combined ( $R=-0.009$ ,  $p=0.98$ ). That was also true when both treatment groups were analyzed

independently. On the other hand, a strong positive association between change in plasma CRP concentrations and change in CRP PR was observed ( $R=0.75$ ,  $p=0.009$ , **Figure 1, Panel 2**). This correlation remained significant when the two groups were analyzed individually (fenofibrate:  $R=0.90$ ,  $p=0.04$ ; atorvastatin:  $R=0.83$ ,  $p=0.04$ ). Figure 1 clearly shows that one subject (identified by a circled dot) differentiated himself from the others by a drastic decrease in CRP FCR with only minor changes in CRP PS and PR. When this patient was excluded from the analysis, the positive associations between change in plasma CRP concentrations and change in CRP PR became even stronger (pooled data:  $R=0.92$ ,  $p=0.0002$ ; fenofibrate:  $R=1.0$ ,  $p<0.0001$ ). As shown in **Figure 2**, pooled data for both treatments suggested that change in HbA1c correlated with change in plasma CRP concentrations (**Panel 1**,  $R=0.61$ ,  $p=0.047$ ) as well as with change in the PR of CRP (**Panel 2**,  $R=0.75$ ,  $p=0.0085$ ). Finally, pooled data analyses revealed that change in plasma IL-6 concentrations strongly correlated with CRP PR ( $R=0.72$ ,  $p=0.013$ ). This relationship was relatively similar for both treatments.

## DISCUSSION

The aim of the present study was to investigate the *in vivo* kinetics of CRP in response to treatment with atorvastatin and fenofibrate in men with type 2 diabetes. To the best of our knowledge, this was the first investigation of the *in vivo* kinetics of plasma CRP in response to any pharmacological intervention. As evidenced by the individual kinetic data, there were some untrivial interindividual differences in the response to fenofibrate in terms of changes in CRP concentrations as well as in CRP kinetic parameters, while variations in response to atorvastatin were of lesser importance.

Prior to this study, CRP kinetics had been the subject of only two published articles. The first CRP kinetic study, published by Vigushin et al. over a decade ago, used exogenously radio-labeled CRP.[19] We have more recently developed a new method using stable isotopes to investigate the *in vivo* kinetics in human subjects.[16] Our results are consistent with both of these previous studies by showing that the change in plasma CRP concentrations in response to pharmacological treatment is strongly predicted by a change in endogenous CRP PR, rather than a change in its clearance rate, thereby confirming our research hypothesis.

Our results have also emphasized important differences from these two previous studies on a few aspects. The mean FCR of plasma CRP reported by Vigushin et al. ( $0.94\pm 0.22$  pool/d) was substantially higher than what we measured at baseline in our pooled 11 diabetic men ( $0.56\pm 0.48$  pool/d) using prime constant infusion of stable isotope in the fed state.[19] Our mean baseline CRP FCR was, however, closer to values we reported earlier in healthy men ( $0.49\pm 1.83$  pool/d), using the same endogenous-labeling method.[16] On the other hand, the mean baseline CRP PS and PR were higher in diabetic men than in healthy men (PS= $8.01\pm 7.31$ mg vs. 6.05mg; PR= $5.53\pm 6.93$ mg/d vs. 2.92mg/d).[16] This finding is consistent with published literature, because it has been well documented that type 2 diabetes is associated with a pro-inflammatory state and higher plasma CRP concentration.[20]

As indicated above, one patient on fenofibrate showed a markedly different response compared to others. While the CRP FCR of most subjects were not radically modified by treatment with either fenofibrate or atorvastatin ( $\Delta$ FCR ranging from -0.03 to +0.21 pool/d), this patient showed a drastic reduction in the FCR of CRP with only minor changes in CRP PS and PR. For unknown reasons, this subject had an elevated baseline FCR of 1.86 pool/d, which was lowered to 0.75 pool/d after treatment with fenofibrate, a value that remained higher than any other FCR values post treatment. This patient showed the highest baseline blood pressure values of all participants. Although his blood pressure values were lowered by the treatment (pre 178/103, post 160/93), they still remained the highest post treatment. Correlation analyses revealed positive associations between baseline CRP FCR and baseline blood pressure values, the strongest association being with diastolic values ( $R=0.60$   $p=0.053$ ) but this association was no longer significant when this subject was excluded ( $R=0.46$ ,  $p=0.18$ ). When correlation analyses for kinetic parameters were performed again excluding this atypical subject, the positive association between change in plasma CRP concentrations and change in CRP PR became even stronger. This reinforces the concept that the production rate of CRP is the main determinant of plasma CRP concentrations, even in response to treatment. Interestingly, the slopes of the correlation lines for each individual treatment became almost identical when this subject was excluded. Based on this, we hypothesize that the reduction in the PR of CRP with any treatment in patients with dyslipidemias and type 2 diabetes is mainly unspecific and rather due to an overall attenuation of the physiological stress imposed by their condition.

The drastic response in the PR of CRP in another patient is also worth discussing. This

patient was not excluded from statistical correlation analyses because his response to the treatment did not qualitatively differ from the others, although just greater in magnitude. This patient was the only one with very high baseline CRP concentrations (6.73 mg/L) and he responded very well to fenofibrate, both in terms of reductions in plasma CRP (-62.82%) and TG concentrations (-51.5%). Some studies have suggested that anti-inflammatory effects of treatment with a fibrate or a statin would be most pronounced among patients with elevated baseline inflammation levels, including patients with type 2 diabetes [12] and in hypertriglyceridemic patients.[21] In fact, in our study, change in CRP concentrations and change in CRP PR – but not in CRP FCR – tended to be partially predicted by baseline CRP values, with a stronger association within the fenofibrate group (data not shown).

Pooled data analyses revealed strong associations between change in HbA1c and changes in plasma CRP concentrations and in CRP PR. HbA1c is an indicator of glycemic control as it reflects the mean glycemia over the preceding 3 months. Among all kinetic subjects, a mean reduction from 7.38% to 7.25% HbA1c ( $\Delta\%$  -1.55±6.14, NS) was observed after only 6 weeks of treatment, with post treatment values approaching the HbA1c target of < 7% suggested by the American Diabetes Association.[22] It had already been documented that CRP and HbA1c concentrations were positively correlated in men with type 2 diabetes.[23] It was very interesting to note that change in CRP concentrations and its PR with fenofibrate and atorvastatin were also correlated with change HbA1c concentrations. These associations are also consistent with our hypothesis that reducing the overall physiological stress attributable to type 2 diabetes induces non specific reduction in the production of CRP.

A significant association between treatment-induced change in CRP PR and change in Il-6 concentrations was also observed. We have previously reported such correlation among healthy men and women.[16] This association is consistent with the concept that type 2 diabetes is associated with an increased secretion of several pro-inflammatory cytokines,[5] and that Il-6 may be one of the key variable upregulating CRP synthesis by the liver.

One of the major limitations of the study is the limited sample size within each treatment. Relatively important interindividual variations and one subject differentiating himself from others yielded limited statistical power. Nevertheless, our results combined with those from previous studies provide convincing evidence that PR is the key factor determining plasma CRP concentrations and that this may also be true in response to pharmacological treatment with

statins and fibrates. Our observations also support an association between plasma CRP reductions and an improvement of the glycemic control, emphasizing the importance of inflammation in the development of diabetes and its complications. We re-emphasize that this is the first study of CRP in vivo metabolism in response to a pharmacological treatment. Additional studies are clearly warranted to validate these observations.

## **ACKNOWLEDGMENTS**

This study was supported by an unrestricted medical research grant from Pfizer (Canada). The authors are grateful to the participants for their invaluable contribution. Josée Levesque is recipient of a MD/MSc Research Award from the Fonds de la Recherche en Santé du Québec (FRSQ). Jean-François Mauger is recipient of a Doctoral Research Award from the Canadian Institute for Health Research. Jean-Charles Hogue is recipient of a Doctoral Research Award from the Heart and Stroke Foundation of Canada (HSFC). Patrick Couture is recipient of a Research Award from the Fonds de la Recherche en Santé du Québec (FRSQ). Benoît Lamarche is Chair Professor in Nutrition and Cardiovascular Health from the Canada Research Chair Program.

## REFERENCES

1. Libby, P., Inflammation in atherosclerosis. *Nature*, 2002. 420(6917): p. 868-74.
2. Ridker, P.M., et al., Comparison of C-reactive protein and low-density lipoprotein cholesterol levels in the prediction of first cardiovascular events. *N Engl J Med*, 2002. 347(20): p. 1557-65.
3. Wilson, A.M., M.C. Ryan, and A.J. Boyle, The novel role of C-reactive protein in cardiovascular disease: risk marker or pathogen. *Int J Cardiol*, 2006. 106(3): p. 291-7.
4. Krentz, A.J., Lipoprotein abnormalities and their consequences for patients with type 2 diabetes. *Diabetes Obes Metab*, 2003. 5 Suppl 1: p. S19-27.
5. Biondi-Zoccai, G.G., et al., Atherothrombosis, inflammation, and diabetes. *J Am Coll Cardiol*, 2003. 41(7): p. 1071-7.
6. Freeman, D.J., et al., C-Reactive Protein Is an Independent Predictor of Risk for the Development of Diabetes in the West of Scotland Coronary Prevention Study. 2002. p. 1596-1600.
7. Davignon, J., Beneficial cardiovascular pleiotropic effects of statins. *Circulation*, 2004. 109(23 Suppl 1): p. III39-43.
8. Jain, M.K. and P.M. Ridker, Anti-inflammatory effects of statins: clinical evidence and basic mechanisms. *Nat Rev Drug Discov*, 2005. 4(12): p. 977-87.
9. Staels, B., et al., Mechanism of action of fibrates on lipid and lipoprotein metabolism. *Circulation*, 1998. 98(19): p. 2088-93.
10. Athyros, V.G., et al., Targeting vascular risk in patients with metabolic syndrome but without diabetes. *Metabolism*, 2005. 54(8): p. 1065-74.
11. Okopien, B., R. Krysiak, and Z.S. Herman, Effects of short-term fenofibrate treatment on circulating markers of inflammation and hemostasis in patients with impaired glucose tolerance. *J Clin Endocrinol Metab*, 2006. 91(5): p. 1770-8.
12. Muhlestein, J.B., et al., The reduction of inflammatory biomarkers by statin, fibrate, and combination therapy among diabetic patients with mixed dyslipidemia: the DIACOR (Diabetes and Combined Lipid Therapy Regimen) study. *J Am Coll Cardiol*, 2006. 48(2): p. 396-401.
13. Hogue, J.C., et al., Differential effect of atorvastatin and fenofibrate on plasma oxidized

- low-density lipoprotein, inflammation markers, and cell adhesion molecules in patients with type 2 diabetes mellitus. *Metabolism*, 2008. 57(3): p. 380-6.
14. Diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care*, 2004. 27 Suppl 1: p. S5-S10.
  15. Harris, J. and F. Benedict, A biometric study of basal metabolism in man. Washington, DC: Carnegie Institution, 1919.
  16. Mauger, J.F., et al., Intravascular kinetics of C-reactive protein and their relationships with features of the metabolic syndrome. *J Clin Endocrinol Metab*, 2008. 93(8): p. 3158-64.
  17. Ramakrishnan, R., Studying apolipoprotein turnover with stable isotope tracers: correct analysis is by modeling enrichments. *J Lipid Res*, 2006. 47(12): p. 2738-53.
  18. Tremblay, A.J., et al., Effects of fenofibrate on apolipoprotein kinetics in patients with coexisting dysbetalipoproteinemia and heterozygous familial hypercholesterolemia. *Atherosclerosis*, 2006. 188(1): p. 203-12.
  19. Vigushin, D.M., M.B. Pepys, and P.N. Hawkins, Metabolic and scintigraphic studies of radioiodinated human C-reactive protein in health and disease. *J Clin Invest*, 1993. 91(4): p. 1351-7.
  20. Xu, Y. and K. Whitmer, C-reactive protein and cardiovascular disease in people with diabetes: high-sensitivity CRP testing can help assess risk for future cardiovascular disease events in this population. *Am J Nurs*, 2006. 106(8): p. 66-72.
  21. Kim, C.J., Effects of fenofibrate on C-reactive protein levels in hypertriglyceridemic patients. *J Cardiovasc Pharmacol*, 2006. 47(6): p. 758-63.
  22. American Diabetes, A., Standards of Medical Care in Diabetes--2007. 2007. p. S4-41.
  23. Bahceci, M., et al., Is serum C-reactive protein concentration correlated with HbA1c and insulin resistance in Type 2 diabetic men with or without coronary heart disease? *J Endocrinol Invest*, 2005. 28(2): p. 145-50.

## FIGURES LEGEND

### Figure 1

Relationships between change in plasma CRP concentrations and change in CRP kinetic parameters on fenofibrate (open dots) and on atorvastatin (gray dots). The circled symbols represents a patient with an atypically high FCR of CRP at baseline (see text), who was excluded from analysis in Panel 3.

### Figure 2

Relationships between change in glycosylated hemoglobin (HbA1c) and changes in CRP concentration and PR on fenofibrate (open dots) and on atorvastatin (gray dots).

**Table 1: Characteristics at baseline of kinetics participants and those of the whole study**

	Fenofibrate			Atorvastatin		
	Kinetic study	Whole study	<i>p</i>	Kinetic study	Whole study	<i>p</i>
	Mean ± SD	Mean ± SD		Mean ± SD	Mean ± SD	
N	5	19		6	19	
Gender						
Men	5	16		6	16	
Women	0	3		0	3	
Age (years)	55.1 ± 4.5	55.0 ± 7.8	0.97	53.2 ± 9.7	55.1 ± 8.6	0.67
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	29.3 ± 3.7	30.7 ± 4.2	0.38	29.4 ± 4.0	29.9 ± 3.8	0.79
Waist circumference (cm)	96.2 ± 3.8	100 ± 9	0.03	98.8 ± 6.6	101 ± 9	0.56
Systolic blood pressure (mmHg)	142.4 ± 22.1	139.4 ± 14.9	0.61	145.7 ± 15.9	140.2 ± 12.3	0.38
Diastolic blood pressure (mmHg)	86.6 ± 12.0	85.3 ± 7.1	0.64	83.7 ± 6.8	83.7 ± 5.4	0.98
Fasting blood glucose (mmol/L)	9.1 ± 2.6	8.0 ± 1.9	0.13	8.4 ± 1.5	7.5 ± 1.2	0.19
Glycosylated hemoglobin (%)	7.4 ± 0.0	7.0 ± 1.1	0.46	7.4 ± 0.0	7.0 ± 0.9	0.34
µalbumin (mg/L)	15.8 ± 17.5	16.7 ± 13.5	0.87	120.7 ± 225.8	54.8 ± 133.0	0.39
Creatinin (µmol/L)	80.8 ± 12.3	80.6 ± 12.0	0.96	82.8 ± 10.3	78.1 ± 10.5	0.34
µalbumin/creatinin (mg/mmol)	3.36 ± 5.95	1.71 ± 3.10	0.17	7.28 ± 10.06	3.54 ± 6.2	0.29

Values are presented as means ± SD

BMI, Body mass index; µalbumin, microalbumin

No significant difference at  $p < 0.05$  between the 2 kinetic groups

**Table 2: Changes in lipid profiles and in CRP, IL-6 and HbA1c concentration after treatment with fenofibrate or atorvastatin of kinetics participants and those of the whole study**

	Fenofibrate					Atorvastatin				
	Kinetic study (N=5)		Whole study (N=19)		<i>p</i> between Δ%	Kinetic study (N=6)		Whole study (N=19)		<i>p</i> between Δ%
	Mean Δ% ± SD	<i>p</i>	Mean Δ% ± SD	<i>p</i>		Mean Δ% ± SD	<i>p</i>	Mean Δ% ± SD	<i>p</i>	
Total C (mmol/L)	-9.9 ± 11.9	0.14	-10.9 ± 10.0	0.0001	0.86	-30.3 ± 5.1	<	-37.7 ± 9.2	<	0.02
LDL-C (mmol/L)	18.7 ± 49.8	0.45	15.9 ± 49.4	0.04	0.51	-41.8 ± 12.9	0.0005	-43.0 ± 17.1	<	0.68
HDL-C (mmol/L)	14.0 ± 19.4	0.18	8.9 ± 23.8	0.05	0.82	24.1 ± 22.4	0.05	17.9 ± 23.4	0.001	0.58
Triglycer ides (mmol/L)	-37.6 ± 26.7	0.03	-41.4 ± 25.5	0.0002	0.92	-28.7 ± 18.6	0.01	-37.6 ± 19.3	<	0.24
HbA1c (%)	-0.9 ± 8.9	0.83	1.9 ± 6.1	0.15	0.24	-2.1 ± 3.3	0.19	-2.6 ± 3.6	0.01	0.67
Plasma CRP (mg/L)	-18.3 ± 37.7	0.34	-3.7 ± 92.2	0.44	0.60	-18.1 ± 23.2	0.12	-26.9 ± 31.4	0.004	0.58
Plasma IL-6 (pg/ml)	320.8 ± 621.8	0.31	---			303.6 ± 572.7	0.25	---		

Values are presented as Δ% ± SD, where Δ% represents the change in percentage between baseline and treated values

CRP, C-reactive protein; IL-6, interleukin-6 ; HbA1c, glycosylated hemoglobin.

TG, CRP and IL-6 concentrations were log transformed for statistical comparison analyses.

CRP concentrations presented were measured in plasma to allow comparison with the whole study values.

P value in the last column is for the unpaired comparison of the change in the fenofibrate and the atorvastatin kinetics groups and the entire respective group.

**Table 3: Individual changes in CRP concentrations and in CRP kinetic parameters for the kinetic study participants after treatment with fenofibrate or atorvastatin**

	CRP Pre mg/L	CRP Post mg/L	$\Delta$ CRP mg/L	PS Pre mg	PS Post mg	$\Delta$ PS mg	FCR Pre pool/d	FCR Post pool/d	$\Delta$ FCR pool/d	PR Pre mg/d	PR Post mg/d	$\Delta$ PR mg/d	
Fenofibrate	1	0.49	0.54	0.05	1.68	1.84	0.16	0.19	0.23	0.05	0.32	0.43	0.11
	2	6.73	2.50	-4.23	27.55	10.24	-17.31	0.77	0.87	0.10	21.18	8.87	-12.31
	3	2.27	2.52	0.25	9.09	10.08	0.99	0.35	0.57	0.21	3.20	5.71	2.51
	4	2.44	2.61	0.18	8.19	8.78	0.59	1.86	0.75	-1.11	15.24	6.60	-8.64
	5	2.34	1.02	-1.31	9.46	4.14	-5.32	0.48	0.64	0.15	4.56	2.63	-1.93
	Mean $\pm$ SD	2.85 $\pm$ 2.31	1.84 $\pm$ 0.98	-1.01 <i>p</i> = 0.27	11.20 $\pm$ 9.68	7.02 $\pm$ 3.81	-4.18 <i>p</i> = 0.27	0.73 $\pm$ 0.67	0.61 $\pm$ 0.24	-0.12 <i>p</i> = 0.89	8.90 $\pm$ 8.89	4.85 $\pm$ 3.33	-4.05 <i>p</i> = 0.41
Statin	1	3.65	2.81	-0.84	12.47	9.61	-2.86	0.77	0.78	0.00	9.64	7.45	-2.19
	2	0.94	0.58	-0.36	3.27	2.01	-1.26	0.22	0.19	-0.03	0.72	0.39	-0.33
	3	0.65	0.82	0.17	2.95	3.71	0.75	0.35	0.36	0.02	1.02	1.34	0.32
	4	1.01	0.72	-0.29	4.89	3.49	-1.40	0.23	0.31	0.08	1.13	1.09	-0.04
	5	0.79	0.53	-0.25	3.03	2.06	-0.97	0.47	0.49	0.03	1.41	1.01	-0.40
	6	1.49	1.31	-0.17	5.48	4.83	-0.64	0.43	0.42	-0.02	2.37	2.02	-0.35
	Mean $\pm$ SD	1.42 $\pm$ 1.13	1.13 $\pm$ 0.87	-0.29 <i>p</i> = 0.08	5.35 $\pm$ 3.64	4.29 $\pm$ 2.82	-1.06 <i>p</i> = 0.08	0.41 $\pm$ 0.20	0.43 $\pm$ 0.20	0.01 <i>p</i> = 0.53	2.71 $\pm$ 3.44	2.22 $\pm$ 2.62	-0.50 <i>p</i> = 0.18

Values are presented as means  $\pm$  SD and  $\Delta \pm$  SD, where  $\Delta$  represents the absolute change between baseline and treated values.

CRP, C-reactive protein; PS, pool size; FCR, fractional catabolic rate; PR, production rate.

CRP concentrations, PS, PR and FCR were log transformed for statistical comparison analyses.

CRP concentrations were measured in the  $d > 1.25$  g/ml plasma fraction used for kinetics and corrected back to plasma concentrations as described previously.

Figure 1

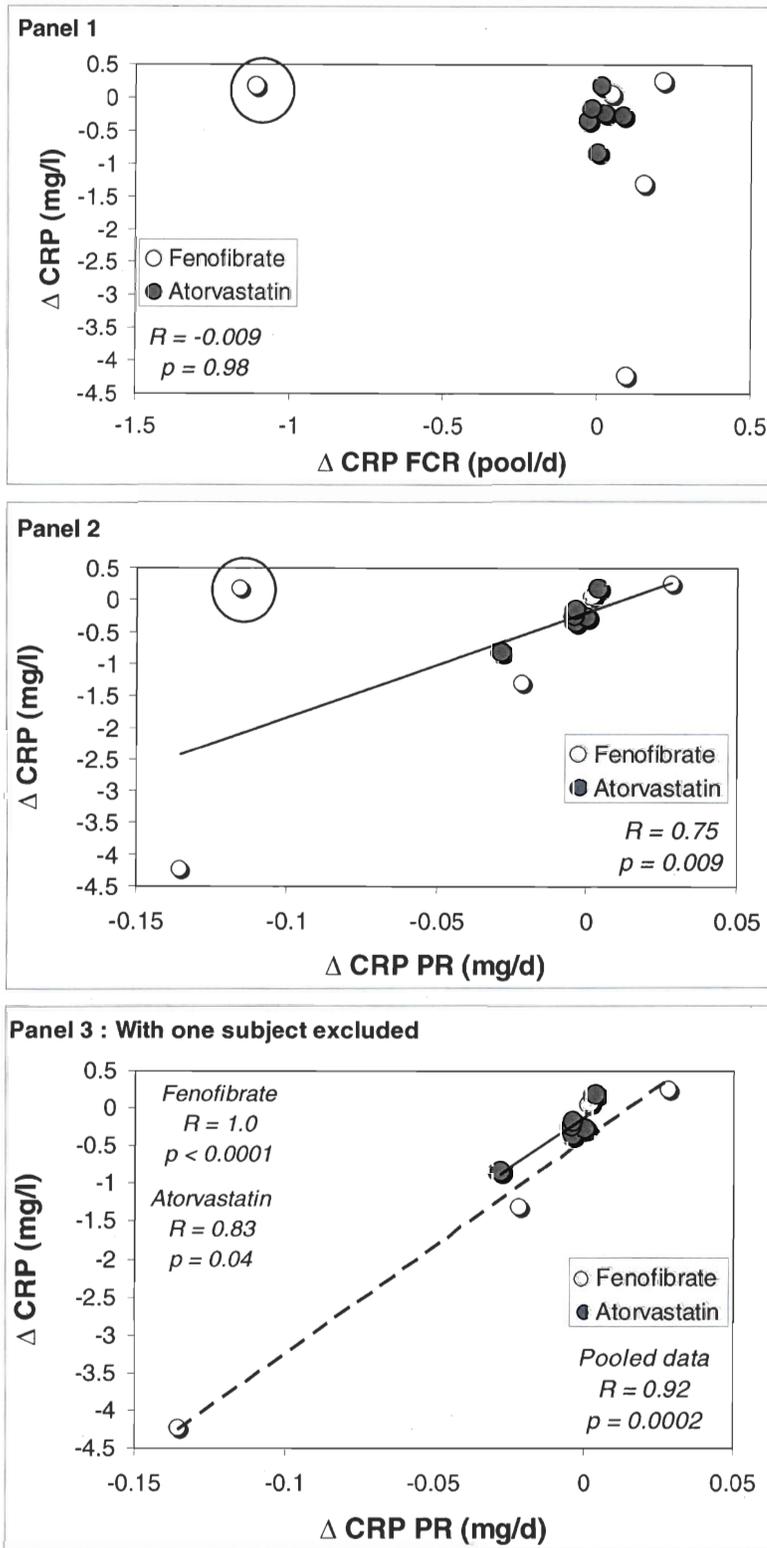
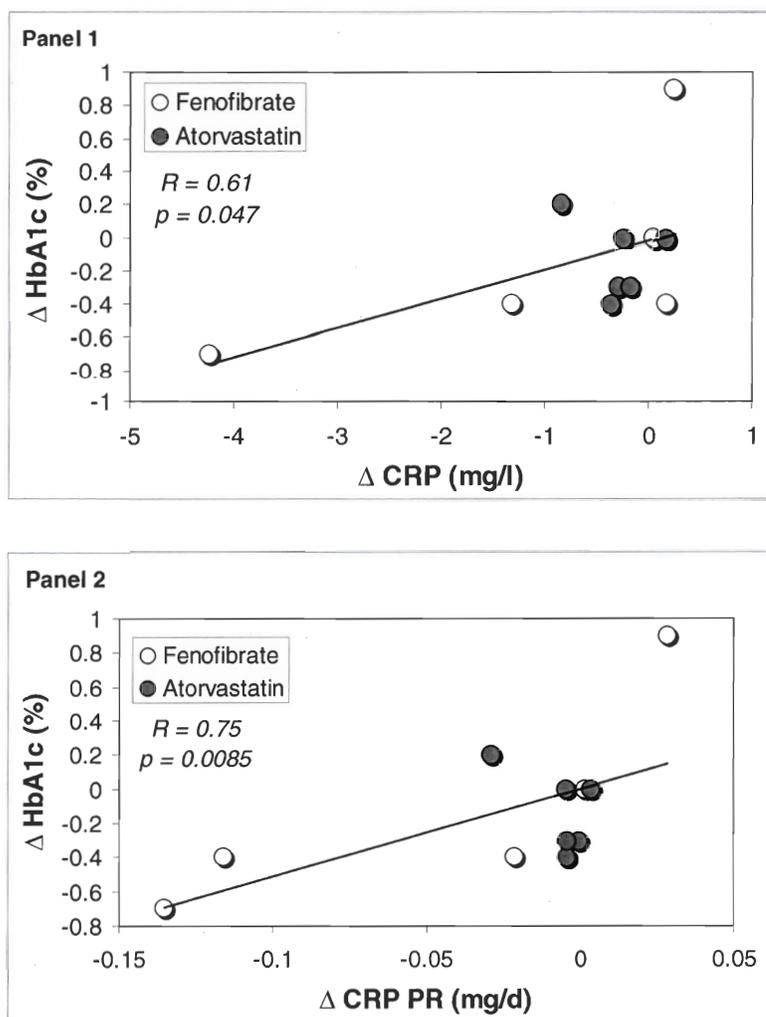


Figure 2



## CHAPITRE 6 : Conclusion générale

Le but de la présente étude était de déterminer les mécanismes physiologiques responsables de la diminution des concentrations plasmatiques de CRP, tout en comparant l'impact différentiel d'une statine et d'un fibrate sur le métabolisme *in vivo* du CRP, chez des diabétiques de type 2. Pour ce faire, le métabolisme *in vivo* du CRP a été étudié chez des hommes avec diabète de type 2 en réponse à un traitement de 6 semaines avec atorvastatin 20 mg/d (n=6) ou fenofibrate 200 mg/d (n=5). Dans l'étude entière (n=39), le traitement avec l'atorvastatin avait induit une réduction significative des concentrations plasmatiques de CRP de l'ordre de 27%, alors que les concentrations de CRP étaient demeurées inchangées suite au traitement avec le fenofibrate. En se basant sur les études précédentes, l'hypothèse de recherche était que la baisse de CRP induite par l'atorvastatin serait en grande partie attribuable à une baisse de production endogène de CRP par le foie, plutôt qu'à une augmentation de sa clairance. L'étude cinétique effectuée a permis de corroborer cette hypothèse de recherche.

Il est intéressant de noter que les résultats de cette étude sont en accord avec les deux seules études précédentes disponibles, dont les conclusions étaient également que le taux de synthèse du CRP avait beaucoup plus d'importance que son taux de clairance dans la détermination des concentrations plasmatiques de CRP. L'étude de Vigushin *et al.* avait étudié la clairance du CRP dans divers états pathologiques et les FCR de CRP n'étaient pas significativement différents entre les maladies étudiées [151]. Ensuite, l'étude récente réalisée par Mauger *et al.* avait été la première à déterminer le métabolisme *in vivo* basal du CRP avec un isotope stable et il avait été conclu que, à l'état basal, le taux de production était beaucoup plus fortement associé aux concentrations plasmatiques de CRP que son taux de catabolisme [152]. Au meilleur de nos connaissances, la présente recherche a été la première à étudier le métabolisme *in vivo* du CRP en réponse à un traitement pharmacologique et, au-delà des études précédentes, nous avons réussi à démontrer avec relativement de certitude qu'un changement dans les concentrations plasmatiques de CRP

est directement expliqué par un changement du taux de production du CRP, en réponse à une statine ou un fibrate.

La limite majeure de notre étude a été le nombre restreint de sujets dans chaque groupe de cinétique (n=11). Avec quelques sujets supplémentaires dans chaque groupe, cela aurait non seulement augmenté la puissance statistique des résultats mais aurait aussi permis de tirer des conclusions plus définitives. Cela est particulièrement vrai en considérant qu'un sujet se différenciait passablement des autres au niveau de son FCR basal du CRP (FCR avant traitement = 1.86). Un FCR aussi élevé est rarement observé dans les études cinétiques d'autres protéines au sein de notre laboratoire. Le nombre limité de sujets ne nous permettait pas d'exclure complètement ce sujet des analyses statistiques. Cependant, en excluant ce sujet, les résultats obtenus devenaient hautement plus significatifs, ce qui nous a portés à conclure que le PR de CRP était définitivement le paramètre cinétique prédisant les concentrations plasmatiques de CRP. De plus, le nombre limité de sujets ne nous a pas permis de comparer les deux traitements, soit atorvastatin et fenofibrate, de façon complètement indépendante. Nous avons toutefois été surpris de constater que, lorsqu'une réduction de CRP était induite par le traitement, les mêmes mécanismes régissaient les réductions plasmatiques de CPR qu'elles soient produites par une statine ou par un fibrate. Bref, le taux de production du CRP était le paramètre cinétique clé, peu importe le traitement. Selon les résultats obtenus, le groupe Atorvastatin aurait dû compter 26 participants et le groupe Fenofibrate 24 participants afin d'obtenir des différences significatives dans les PR. Il est intéressant de noter que les tailles d'échantillon nécessaires ne sont pas si élevées afin d'obtenir des résultats significatifs.

Certes, d'autres études feront suite à celle-ci et détermineront si nos conclusions sont reproductibles. Des avenues de recherche intéressantes dans ce domaine seraient d'étudier le métabolisme *in vivo* du CRP en réponse à d'autres traitements pharmacologiques démontrés pouvant réduire les concentrations plasmatiques de CRP. Des traitements antidiabétiques, comme la metformin, les TZD et l'acarbose, peuvent réduire l'incidence du diabète de type 2 chez des individus avec intolérance au glucose et un glucose à jeun détérioré [64-66], possiblement en modulant l'état pro-inflammatoire associé ; l'étude du

métabolisme du CRP pourrait être pertinente chez un tel groupe d'individus en réponse à ces médicaments. Ensuite, il a été démontré que la combinaison de divers agents pharmacologiques pouvait réduire davantage les concentrations de CRP que les agents individuels. En effet, l'ajout de l'ezetimibe à une statine diminue significativement les concentrations de CRP, comparé à la statine seule [69], et la combinaison du fenofibrate à une statine diminue significativement les concentrations de CRP, comparé au fenofibrate seul [59]. Les effets de combinaisons de médicaments sur le métabolisme *in vivo* du CRP pourraient également être des études intéressantes. La diète Portfolio réduit les concentrations de CRP de façon équivalente à la dose de départ d'une statine de première génération [57] et les changements des habitudes de vie (tels que la perte de poids, l'augmentation de l'activité physique et l'arrêt du tabagisme) produisent également des réductions du CRP [25, 31]. Ainsi, le métabolisme *in vivo* du CRP pourrait aussi être étudié en réponse à une intervention nutritionnelle ou en réponse à un changement d'autres habitudes de vie, comme l'exercice physique. Il est d'ailleurs intéressant de noter que certaines de ces avenues de recherche font l'objet de projets de recherche en cours au sein de notre équipe. Puisque nous avons démontré que deux traitements pharmacologiques différents produisaient des réductions des concentrations plasmatiques de CRP via une réduction de son taux de production, nous pourrions émettre l'hypothèse que les autres traitements décrits précédemment, pharmacologiques ou non, agissent également sur les concentrations de CRP en réduisant son taux de synthèse.

Il aurait été intéressant de trouver un lien entre une clairance diminuée et un paramètre altéré de fonction rénale, comme le ratio albumine/créatinine par exemple. En effet, on aurait alors pu supposer que le rein était un des sites d'excrétion du CRP. Le ratio albumine/créatinine est particulièrement utilisé chez les diabétiques de type 2, comme dépistage de la néphropathie diabétique. Une augmentation du ratio albumine/créatinine indique une détérioration de la fonction rénale et chez les hommes, un seuil élevé a été établi à  $> 2.0$  mg/mmol. Un résultat de la présente étude qui n'a pas été discuté dans l'article est la corrélation observée entre un changement du FCR de CRP et un changement du ratio albumine/créatinine ( $R=0.782$ ,  $p=0.0075$ ). Une corrélation positive indique qu'une augmentation de la clairance est associée à une augmentation du ratio, soit une détérioration

de la fonction rénale, ce qui n'est pas la relation attendue si le rein était le site d'excrétion du CRP.

L'étude de Vigushin *et al.* avait conclu que la demi-vie du CRP était de 19h et que son FCR était stable [151]. Ainsi, une fois libéré dans la circulation sanguine, le CRP a donc probablement une durée de vie limitée et fixe, ce qui implique que des concentrations plasmatiques de CRP demeurant élevées supposent la persistance du stimulus inflammatoire sous-jacent ayant donné naissance à la production de CRP. L'importance de l'inflammation commence à être évoquée dans la pathogenèse de divers processus, et non seulement dans le développement de l'athérosclérose. L'inflammation et les réactions d'immunité qu'elle génère, sont évidemment nécessaires à la survie puisque cela nous protège notamment des infections et des virus. D'ailleurs, le fait que la structure du CRP soit si hautement conservée à travers les espèces dans le temps suggère que son rôle soit essentiel à la survie de l'espèce. Trop d'inflammation semble toutefois dommageable pour l'organisme, puisqu'une fois que la réaction inflammatoire est amorcée, elle a tendance à s'amplifier d'elle-même. Bref, en créant un tel cercle vicieux, l'inflammation perdure et s'entretient. En fait, la pathogenèse de l'athérosclérose et ses facteurs de risque apparaissent tous, jusqu'à un certain point, intrinsèquement reliés, notamment le MetS, le diabète de type 2, les MCV, l'inflammation et le CRP. Il peut donc être difficile de clairement distinguer les causes des conséquences, d'où le débat sur le rôle controversé du CRP dans le processus d'athérosclérose, comme simple témoin du processus ou comme agent actif pro-athérogénique. Il est intéressant de remarquer que les traitements (mode de vie, traitements pharmacologiques) qui améliorent un des facteurs de risque se répercutent aussi généralement de façon positive sur les autres facteurs de risque. Ainsi, les interactions synergiques entre les différents facteurs de risque soulignent la nécessité d'avoir une approche globale dans le traitement des MCV et ses complications, comme gage de succès.

L'introduction des statines a sans contredit révolutionné le traitement des MCV et les statines jouent maintenant un rôle majeur autant dans la prévention primaire que secondaire des MCV. En effet, de par leurs effets hypocholestérolémiants et leurs effets pléiotropes, les statines ont un impact important sur plusieurs facettes du processus d'athérosclérose, ce

qui se traduit par une diminution significative de la mortalité et la morbidité cardiovasculaires. Les principaux effets pléiotropes des statines sont une amélioration de la fonction endothéliale avec augmentation de la biodisponibilité de NO, des effets antioxydants, anti-inflammatoires et anti-thrombotiques et une stabilisation de la plaque d'athérosclérose. De plus, les effets pléiotropes sont interdépendants et se répercutent les uns sur les autres, ce qui peut être symbolisé par une cascade d'effets bénéfiques. L'utilisation des statines pourrait devenir de plus en plus agressive dans la prévention primaire et secondaire des MCV, en raison de leurs propriétés anti-inflammatoires puissantes et de l'importance de l'inflammation dans le développement de l'athérosclérose. En effet, la réversibilité potentielle du processus d'athérosclérose au niveau de la plaque proposée par Nissen *et al.* [29] justifieraient une utilisation plus précoce et plus répandue des statines. Il sera important d'évaluer les rapports coûts-bénéfices d'une prévention plus agressive des MCV, mais une meilleure prévention est généralement rentable pour une société. Dans le but de maximiser les effets hypocholestérolémiants des statines, il est important de rappeler que la génétique influence probablement significativement la réponse aux statines et de savoir que des interactions avec l'alimentation peuvent avoir des effets bénéfiques ou néfastes sur la réponse aux statines. En résumé, la gestion clinique du risque cardiovasculaire évoluera probablement de façon considérable au cours des prochaines années.

Plusieurs études proposent que les fibrates aient, à l'image des statines, des propriétés anti-inflammatoires, mais des résultats inconsistants sont répertoriés dans la littérature quant à leurs effets sur les concentrations de CRP et sur le risque cardiovasculaire. Cette étude complète n'avait d'ailleurs pas réussi à mettre en évidence de telles capacités à réduire les concentrations plasmatiques de CRP dans le groupe fenofibrate entier. La variabilité des doses administrées, des durées de traitement, des médicaments concomitants et des populations à l'étude pourraient possiblement expliquer certaines des divergences entre les différentes études. En raison de l'engouement grandissant pour l'inflammation et particulièrement pour le CRP, des capacités à réduire les concentrations de CRP ont récemment été découvertes parmi plusieurs médicaments couramment utilisés dans le traitement des facteurs de risque cardiovasculaires. Par exemple, un article de synthèse a

conclu que les agents hypolipémiants (statines, ezetimibe, fenofibrate, niacin, diètes), les IECA, les ARA, les agents antidiabétiques, anti-inflammatoires et antiplaquettaires, la vitamine E et les  $\beta$ -bloqueurs réduiraient les concentrations plasmatiques de CRP [9].

L'utilisation du CRP dans l'évaluation du risque cardiovasculaire requiert davantage de recherche, notamment pour confirmer la valeur ajoutée de la mesure des concentrations de CRP par rapport aux autres facteurs de risque traditionnels et pour évaluer sa rentabilité en termes de coûts-bénéfices. Pour l'instant, la mesure des concentrations de CRP est suggérée uniquement chez les personnes avec un risque cardiovasculaire intermédiaire afin de mieux déterminer l'agressivité du traitement entrepris. Plusieurs études réitèrent que les changements de CRP ne corrèlent pas avec les changements des lipides plasmatiques, suggérant que ces effets soient indépendants. Ainsi, éventuellement, les lipides plasmatiques et les concentrations de CRP pourraient devenir des cibles thérapeutiques distinctes pour évaluer la réponse au traitement avec une statine ou un autre agent. Les résultats des travaux faits dans le cadre de cette maîtrise s'inscrivent dans un secteur de recherche en pleine ébullition et participeront peut-être éventuellement à faire avancer le paradigme clinique associé à la gestion du risque cardiovasculaire, particulièrement chez les diabétiques de type 2. En effet, la meilleure compréhension des mécanismes impliqués dans la réduction des niveaux sanguins de CRP en réponse à un traitement pharmacologique qui découle de ces travaux contribuera à alimenter le débat existant sur l'importance (ou non) de considérer le CRP comme nouveau marqueur de risque dans l'évaluation globale du risque cardiovasculaire.

Traditionnellement, les modifications de la diète précédaient la médication pour faire diminuer le risque cardiovasculaire. Toutefois, les diminutions de cholestérol obtenues par une modification de la diète sont faibles en comparaison à celles spectaculaires obtenues par les statines. Ainsi, au cours des dernières années, l'intérêt pour la diète a diminué au profit de la solution pharmacologique, considérée plus efficace et facile. Il importe toutefois de souligner l'importance du traitement des facteurs de risque cardiovasculaires sous-jacents, incluant le surplus de poids, l'inactivité physique et la diète athérogène, afin de régler le problème à la source. En effet, ces facteurs sous-jacents perpétuent le profil

cardiovasculaire néfaste et maintiennent un risque cardiovasculaire accru, même lorsqu'une thérapie pharmacologique agressive est entreprise. Dans notre société, l'environnement est souvent qualifié d'obésogène et la prévalence croissante de l'obésité, particulièrement chez les enfants et adolescents, est une source d'inquiétudes en santé publique. Des changements majeurs devront être instaurés si on désire parvenir à freiner cette épidémie de même que ses conséquences à long terme. D'ailleurs, un intérêt grandissant du public pour une alimentation et un régime de vie plus sains et équilibrés semble se faire sentir.

## **Conclusion**

En conclusion, au-delà de la simple diminution des lipides sanguins, les statines et les fibrates auraient d'autres effets, qualifiés de pléiotropes, qui sont bénéfiques pour le système cardiovasculaire. Parmi ces effets pléiotropes, les effets anti-inflammatoires semblent être particulièrement importants. Il n'est pas clair jusqu'à quel point ces effets pléiotropes sont *complètement* indépendants des diminutions des lipides engendrées. Cependant, d'un point de vue purement clinique, cela a peu d'importance pour le patient ou le clinicien, puisque les effets démontrés sur la biologie vasculaire et sur la diminution du risque cardiovasculaire justifient amplement l'utilisation des fibrates et, particulièrement, des statines dans le traitement et la prévention des MCV. Évidemment, plus de recherche dans ce domaine est nécessaire, puisqu'une meilleure connaissance des mécanismes régulant l'efficacité de ces deux médicaments permettrait une meilleure prévention primaire et secondaire des MCV. Plus de recherche sur les molécules de l'inflammation, tel que le CRP, permettront de déterminer s'il est justifié ou non d'inclure ce paramètre dans la gestion et le traitement des MCV.

## Références

1. Libby, P., *Inflammation in atherosclerosis*. Nature, 2002. **420**(6917): p. 868-74.
2. Ridker, P.M., et al., *Comparison of C-reactive protein and low-density lipoprotein cholesterol levels in the prediction of first cardiovascular events*. N Engl J Med, 2002. **347**(20): p. 1557-65.
3. Krentz, A.J., *Lipoprotein abnormalities and their consequences for patients with type 2 diabetes*. Diabetes Obes Metab, 2003. **5 Suppl 1**: p. S19-27.
4. Biondi-Zoccai, G.G., et al., *Atherothrombosis, inflammation, and diabetes*. J Am Coll Cardiol, 2003. **41**(7): p. 1071-7.
5. Ridker, P.M., et al., *C-reactive protein, the metabolic syndrome, and risk of incident cardiovascular events: an 8-year follow-up of 14 719 initially healthy American women*. Circulation, 2003. **107**(3): p. 391-7.
6. Lee, W.Y., et al., *C-reactive protein concentrations are related to insulin resistance and metabolic syndrome as defined by the ATP III report*. Int J Cardiol, 2004. **97**(1): p. 101-6.
7. Ford, E.S., *Body mass index, diabetes, and C-reactive protein among U.S. adults*. Diabetes Care, 1999. **22**(12): p. 1971-7.
8. Jain, M.K. and P.M. Ridker, *Anti-inflammatory effects of statins: clinical evidence and basic mechanisms*. Nat Rev Drug Discov, 2005. **4**(12): p. 977-87.
9. Prasad, K., *C-reactive protein (CRP)-lowering agents*. Cardiovasc Drug Rev, 2006. **24**(1): p. 33-50.
10. Staels, B., et al., *Mechanism of action of fibrates on lipid and lipoprotein metabolism*. Circulation, 1998. **98**(19): p. 2088-93.
11. Tsimihodimos, V., et al., *Fenofibrate: metabolic and pleiotropic effects*. Curr Vasc Pharmacol, 2005. **3**(1): p. 87-98.
12. Okopien, B., R. Krysiak, and Z.S. Herman, *Effects of short-term fenofibrate treatment on circulating markers of inflammation and hemostasis in patients with impaired glucose tolerance*. J Clin Endocrinol Metab, 2006. **91**(5): p. 1770-8.
13. Muhlestein, J.B., et al., *The reduction of inflammatory biomarkers by statin, fibrate, and combination therapy among diabetic patients with mixed dyslipidemia: the DIACOR (Diabetes and Combined Lipid Therapy Regimen) study*. J Am Coll Cardiol, 2006. **48**(2): p. 396-401.
14. Hogue, J.C., et al., *Differential effect of atorvastatin and fenofibrate on plasma oxidized low-density lipoprotein, inflammation markers, and cell adhesion molecules in patients with type 2 diabetes mellitus*. Metabolism, 2008. **57**(3): p. 380-6.
15. Liao, J.K., *Effects of statins on 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme a reductase inhibition beyond low-density lipoprotein cholesterol*. Am J Cardiol, 2005. **96**(5A): p. 24F-33F.
16. Davignon, J., *Beneficial cardiovascular pleiotropic effects of statins*. Circulation, 2004. **109**(23 Suppl 1): p. III39-43.
17. Tedgui, A. and Z. Mallat, *Anti-inflammatory mechanisms in the vascular wall*. Circ Res, 2001. **88**(9): p. 877-87.
18. McFarlane, S.I., et al., *Clinical review 145: Pleiotropic effects of statins: lipid reduction and beyond*. J Clin Endocrinol Metab, 2002. **87**(4): p. 1451-8.

19. Tsimikas, S., J.T. Willerson, and P.M. Ridker, *C-reactive protein and other emerging blood biomarkers to optimize risk stratification of vulnerable patients*. J Am Coll Cardiol, 2006. **47**(8 Suppl): p. C19-31.
20. Manolio, T., *Novel risk markers and clinical practice*. N Engl J Med, 2003. **349**(17): p. 1587-9.
21. *Executive Summary of The Third Report of The National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, And Treatment of High Blood Cholesterol In Adults (Adult Treatment Panel III)*. JAMA, 2001. **285**(19): p. 2486-97.
22. de Graaf, J., P. Couture, and A. Sniderman, *A diagnostic algorithm for the atherogenic apolipoprotein B dyslipoproteinemias*. Nat Clin Pract Endocrinol Metab, 2008. **4**(11): p. 608-18.
23. Wilson, P.W., *Estimating cardiovascular disease risk and the metabolic syndrome: a Framingham view*. Endocrinol Metab Clin North Am, 2004. **33**(3): p. 467-81, v.
24. Wilson, A.M., M.C. Ryan, and A.J. Boyle, *The novel role of C-reactive protein in cardiovascular disease: risk marker or pathogen*. Int J Cardiol, 2006. **106**(3): p. 291-7.
25. Pepys, M.B. and G.M. Hirschfield, *C-reactive protein: a critical update*. J Clin Invest, 2003. **111**(12): p. 1805-12.
26. Paul, A., E.T. Yeh, and L. Chan, *A proatherogenic role for C-reactive protein in vivo*. Curr Opin Lipidol, 2005. **16**(5): p. 512-7.
27. Ridker, P.M., *Clinical application of C-reactive protein for cardiovascular disease detection and prevention*. Circulation, 2003. **107**(3): p. 363-9.
28. Ridker, P.M., M.J. Stampfer, and N. Rifai, *Novel risk factors for systemic atherosclerosis: a comparison of C-reactive protein, fibrinogen, homocysteine, lipoprotein(a), and standard cholesterol screening as predictors of peripheral arterial disease*. JAMA, 2001. **285**(19): p. 2481-5.
29. Nissen, S.E., et al., *Statin therapy, LDL cholesterol, C-reactive protein, and coronary artery disease*. N Engl J Med, 2005. **352**(1): p. 29-38.
30. Pearson, T.A., et al., *Markers of inflammation and cardiovascular disease: application to clinical and public health practice: A statement for healthcare professionals from the Centers for Disease Control and Prevention and the American Heart Association*. Circulation, 2003. **107**(3): p. 499-511.
31. Xu, Y. and K. Whitmer, *C-reactive protein and cardiovascular disease in people with diabetes: high-sensitivity CRP testing can help assess risk for future cardiovascular disease events in this population*. Am J Nurs, 2006. **106**(8): p. 66-72.
32. Packard, C.J., et al., *Lipoprotein-associated phospholipase A2 as an independent predictor of coronary heart disease. West of Scotland Coronary Prevention Study Group*. N Engl J Med, 2000. **343**(16): p. 1148-55.
33. Koenig, W., et al., *Lipoprotein-associated phospholipase A2 adds to risk prediction of incident coronary events by C-reactive protein in apparently healthy middle-aged men from the general population: results from the 14-year follow-up of a large cohort from southern Germany*. Circulation, 2004. **110**(14): p. 1903-8.
34. Brilakis, E.S., et al., *Association of lipoprotein-associated phospholipase A2 levels with coronary artery disease risk factors, angiographic coronary artery disease, and major adverse events at follow-up*. Eur Heart J, 2005. **26**(2): p. 137-44.

35. Blake, G.J., et al., *A prospective evaluation of lipoprotein-associated phospholipase A(2) levels and the risk of future cardiovascular events in women.* J Am Coll Cardiol, 2001. **38**(5): p. 1302-6.
36. Bergt, C., et al., *The myeloperoxidase product hypochlorous acid oxidizes HDL in the human artery wall and impairs ABCA1-dependent cholesterol transport.* Proc Natl Acad Sci U S A, 2004. **101**(35): p. 13032-7.
37. Hazen, S.L., *Myeloperoxidase and plaque vulnerability.* Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2004. **24**(7): p. 1143-6.
38. Sugiyama, S., et al., *Macrophage myeloperoxidase regulation by granulocyte macrophage colony-stimulating factor in human atherosclerosis and implications in acute coronary syndromes.* Am J Pathol, 2001. **158**(3): p. 879-91.
39. Nikpoor, B., et al., *A functional myeloperoxidase polymorphic variant is associated with coronary artery disease in French-Canadians.* Am Heart J, 2001. **142**(2): p. 336-9.
40. Asselbergs, F.W., J.W. Tervaert, and R.A. Tio, *Prognostic value of myeloperoxidase in patients with chest pain.* N Engl J Med, 2004. **350**(5): p. 516-8; author reply 516-8.
41. Palinski, W. and C. Napoli, *The fetal origins of atherosclerosis: maternal hypercholesterolemia, and cholesterol-lowering or antioxidant treatment during pregnancy influence in utero programming and postnatal susceptibility to atherogenesis.* Faseb J, 2002. **16**(11): p. 1348-60.
42. Kinlay, S., *Potential vascular benefits of statins.* Am J Med, 2005. **118 Suppl 12A**: p. 62-7.
43. Crisby, M., et al., *Pravastatin treatment increases collagen content and decreases lipid content, inflammation, metalloproteinases, and cell death in human carotid plaques: implications for plaque stabilization.* Circulation, 2001. **103**(7): p. 926-33.
44. Berneis, K.K. and R.M. Krauss, *Metabolic origins and clinical significance of LDL heterogeneity.* J Lipid Res, 2002. **43**(9): p. 1363-79.
45. Eckel, R.H., S.M. Grundy, and P.Z. Zimmet, *The metabolic syndrome.* Lancet, 2005. **365**(9468): p. 1415-28.
46. Yudkin, J.S., et al., *C-reactive protein in healthy subjects: associations with obesity, insulin resistance, and endothelial dysfunction: a potential role for cytokines originating from adipose tissue?* Arterioscler Thromb Vasc Biol, 1999. **19**(4): p. 972-8.
47. Park, H.S., J.Y. Park, and R. Yu, *Relationship of obesity and visceral adiposity with serum concentrations of CRP, TNF-alpha and IL-6.* Diabetes Res Clin Pract, 2005. **69**(1): p. 29-35.
48. Freeman, D.J., et al., *C-Reactive Protein Is an Independent Predictor of Risk for the Development of Diabetes in the West of Scotland Coronary Prevention Study.* 2002. p. 1596-1600.
49. *Clinical Guidelines on the Identification, Evaluation, and Treatment of Overweight and Obesity in Adults--The Evidence Report.* National Institutes of Health. Obes Res, 1998. **6 Suppl 2**: p. 51S-209S.
50. Thompson, P.D., et al., *Exercise and physical activity in the prevention and treatment of atherosclerotic cardiovascular disease: a statement from the Council on Clinical Cardiology (Subcommittee on Exercise, Rehabilitation, and Prevention) and*

- the Council on Nutrition, Physical Activity, and Metabolism (Subcommittee on Physical Activity)*. *Circulation*, 2003. **107**(24): p. 3109-16.
51. Tchernof, A., et al., *Weight loss reduces C-reactive protein levels in obese postmenopausal women*. *Circulation*, 2002. **105**(5): p. 564-9.
  52. Koenig, W., et al., *C-Reactive Protein, a Sensitive Marker of Inflammation, Predicts Future Risk of Coronary Heart Disease in Initially Healthy Middle-Aged Men : Results From the MONICA (Monitoring Trends and Determinants in Cardiovascular Disease) Augsburg Cohort Study, 1984 to 1992*. 1999. p. 237-242.
  53. Ohsawa, M., et al., *CRP levels are elevated in smokers but unrelated to the number of cigarettes and are decreased by long-term smoking cessation in male smokers*. *Prev Med*, 2005. **41**(2): p. 651-6.
  54. Ford, E.S., *Does exercise reduce inflammation? Physical activity and C-reactive protein among U.S. adults*. *Epidemiology*, 2002. **13**(5): p. 561-8.
  55. Imhof, A., et al., *Effect of alcohol consumption on systemic markers of inflammation*. *Lancet*, 2001. **357**(9258): p. 763-7.
  56. Basu, A., S. Devaraj, and I. Jialal, *Dietary Factors That Promote or Retard Inflammation*. 2006. p. 995-1001.
  57. Jenkins, D.J., et al., *Direct comparison of dietary portfolio vs statin on C-reactive protein*. *Eur J Clin Nutr*, 2005. **59**(7): p. 851-60.
  58. Despres, J.P., A. Golay, and L. Sjostrom, *Effects of rimonabant on metabolic risk factors in overweight patients with dyslipidemia*. *N Engl J Med*, 2005. **353**(20): p. 2121-34.
  59. Athyros, V.G., et al., *Targeting vascular risk in patients with metabolic syndrome but without diabetes*. *Metabolism*, 2005. **54**(8): p. 1065-74.
  60. Chobanian, A.V., et al., *Seventh report of the Joint National Committee on Prevention, Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Pressure*. *Hypertension*, 2003. **42**(6): p. 1206-52.
  61. *Tight blood pressure control and risk of macrovascular and microvascular complications in type 2 diabetes: UKPDS 38*. *UK Prospective Diabetes Study Group*. *BMJ*, 1998. **317**(7160): p. 703-13.
  62. Grundy, S.M., et al., *Diagnosis and management of the metabolic syndrome: an American Heart Association/National Heart, Lung, and Blood Institute Scientific Statement*. *Circulation*, 2005. **112**(17): p. 2735-52.
  63. Julius, S., S. Majahalme, and P. Palatini, *Antihypertensive treatment of patients with diabetes and hypertension*. *Am J Hypertens*, 2001. **14**(11 Pt 2): p. 310S-316S.
  64. Knowler, W.C., et al., *Reduction in the incidence of type 2 diabetes with lifestyle intervention or metformin*. *N Engl J Med*, 2002. **346**(6): p. 393-403.
  65. Buchanan, T.A., et al., *Preservation of pancreatic beta-cell function and prevention of type 2 diabetes by pharmacological treatment of insulin resistance in high-risk hispanic women*. *Diabetes*, 2002. **51**(9): p. 2796-803.
  66. Chiasson, J.L., *Acarbose for the prevention of diabetes, hypertension, and cardiovascular disease in subjects with impaired glucose tolerance: the Study to Prevent Non-Insulin-Dependent Diabetes Mellitus (STOP-NIDDM) Trial*. *Endocr Pract*, 2006. **12 Suppl 1**: p. 25-30.

67. Ajjan, R.A. and P.J. Grant, *Cardiovascular disease prevention in patients with type 2 diabetes: The role of oral anti-diabetic agents*. *Diab Vasc Dis Res*, 2006. **3**(3): p. 147-58.
68. Pearson, T.A., et al., *AHA Guidelines for Primary Prevention of Cardiovascular Disease and Stroke: 2002 Update: Consensus Panel Guide to Comprehensive Risk Reduction for Adult Patients Without Coronary or Other Atherosclerotic Vascular Diseases*. *American Heart Association Science Advisory and Coordinating Committee*. *Circulation*, 2002. **106**(3): p. 388-91.
69. Sager, P.T., et al., *Effects of ezetimibe coadministered with simvastatin on C-reactive protein in a large cohort of hypercholesterolemic patients*. *Atherosclerosis*, 2005. **179**(2): p. 361-7.
70. Okopien, B., et al., *Extralipid effects of micronized fenofibrate in dyslipidemic patients*. *Pharmacol Rep*, 2006. **58**(5): p. 729-35.
71. Duval, C., et al., *The role of PPARs in atherosclerosis*. *Trends Mol Med*, 2002. **8**(9): p. 422-30.
72. Chu, C.S., et al., *Effects of rosiglitazone alone and in combination with atorvastatin on nontraditional markers of cardiovascular disease in patients with type 2 diabetes mellitus*. *Am J Cardiol*, 2006. **97**(5): p. 646-50.
73. Blaschke, F., et al., *Vascular effects of TZDs: new implications*. *Vascul Pharmacol*, 2006. **45**(1): p. 3-18.
74. Nissen, S.E. and K. Wolski, *Effect of rosiglitazone on the risk of myocardial infarction and death from cardiovascular causes*. *N Engl J Med*, 2007. **356**(24): p. 2457-71.
75. Stocker, D.J., et al., *A randomized trial of the effects of rosiglitazone and metformin on inflammation and subclinical atherosclerosis in patients with type 2 diabetes*. *Am Heart J*, 2007. **153**(3): p. 445 e1-6.
76. Yu, D., et al., *Rosiglitazone increases LDL particle size and buoyancy and decreases C-reactive protein in patients with type 2 diabetes on statin therapy*. *Diab Vasc Dis Res*, 2006. **3**(3): p. 189-96.
77. Bahia, L., et al., *Adiponectin is associated with improvement of endothelial function after rosiglitazone treatment in non-diabetic individuals with metabolic syndrome*. *Atherosclerosis*, 2006.
78. Esposito, K., et al., *Effect of rosiglitazone on endothelial function and inflammatory markers in patients with the metabolic syndrome*. *Diabetes Care*, 2006. **29**(5): p. 1071-6.
79. Ikewaki, K., et al., *Fenofibrate effectively reduces remnants, and small dense LDL, and increases HDL particle number in hypertriglyceridemic men - a nuclear magnetic resonance study*. *J Atheroscler Thromb*, 2004. **11**(5): p. 278-85.
80. Shepherd, J., et al., *Fenofibrate reduces low density lipoprotein catabolism in hypertriglyceridemic subjects*. *Arteriosclerosis*, 1985. **5**(2): p. 162-8.
81. Guerin, M., et al., *Fenofibrate reduces plasma cholesteryl ester transfer from HDL to VLDL and normalizes the atherogenic, dense LDL profile in combined hyperlipidemia*. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 1996. **16**(6): p. 763-72.
82. Robins, S.J., *Targeting low high-density lipoprotein cholesterol for therapy: lessons from the Veterans Affairs High-density Lipoprotein Intervention Trial*. *Am J Cardiol*, 2001. **88**(12A): p. 19N-23N.

83. Robins, S.J., et al., *Insulin resistance and cardiovascular events with low HDL cholesterol: the Veterans Affairs HDL Intervention Trial (VA-HIT)*. Diabetes Care, 2003. **26**(5): p. 1513-7.
84. Keech, A., et al., *Effects of long-term fenofibrate therapy on cardiovascular events in 9795 people with type 2 diabetes mellitus (the FIELD study): randomised controlled trial*. Lancet, 2005. **366**(9500): p. 1849-61.
85. Marchesi, S., et al., *Effects of fenofibrate on endothelial function and cell adhesion molecules during post-prandial lipemia in hypertriglyceridemia*. J Clin Pharm Ther, 2003. **28**(5): p. 419-24.
86. Capell, W.H., et al., *Short-term triglyceride lowering with fenofibrate improves vasodilator function in subjects with hypertriglyceridemia*. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2003. **23**(2): p. 307-13.
87. Malik, J., et al., *Both fenofibrate and atorvastatin improve vascular reactivity in combined hyperlipidaemia (fenofibrate versus atorvastatin trial--FAT)*. Cardiovasc Res, 2001. **52**(2): p. 290-8.
88. Iglarz, M., et al., *Effect of peroxisome proliferator-activated receptor-alpha and -gamma activators on vascular remodeling in endothelin-dependent hypertension*. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2003. **23**(1): p. 45-51.
89. Beltowski, J., et al., *The effect of peroxisome proliferator-activated receptors alpha (PPARalpha) agonist, fenofibrate, on lipid peroxidation, total antioxidant capacity, and plasma paraoxonase 1 (PON 1) activity*. J Physiol Pharmacol, 2002. **53**(3): p. 463-75.
90. Maison, P., et al., *A pharmacoepidemiological assessment of the effect of statins and fibrates on fibrinogen concentration*. Atherosclerosis, 2002. **160**(1): p. 155-60.
91. Frost, R.J., et al., *Effects of atorvastatin versus fenofibrate on lipoprotein profiles, low-density lipoprotein subfraction distribution, and hemorheologic parameters in type 2 diabetes mellitus with mixed hyperlipoproteinemia*. Am J Cardiol, 2001. **87**(1): p. 44-8.
92. Marx, N., et al., *PPARalpha activators inhibit tissue factor expression and activity in human monocytes*. Circulation, 2001. **103**(2): p. 213-9.
93. Milionis, H.J., M.S. Elisaf, and D.P. Mikhailidis, *The effects of lipid-regulating therapy on haemostatic parameters*. Curr Pharm Des, 2003. **9**(29): p. 2425-43.
94. Madej, A., et al., *Effects of fenofibrate on plasma cytokine concentrations in patients with atherosclerosis and hyperlipoproteinemia IIb*. Int J Clin Pharmacol Ther, 1998. **36**(6): p. 345-9.
95. Staels, B., et al., *Activation of human aortic smooth-muscle cells is inhibited by PPARalpha but not by PPARgamma activators*. Nature, 1998. **393**(6687): p. 790-3.
96. Marx, N., et al., *PPARalpha activators inhibit cytokine-induced vascular cell adhesion molecule-1 expression in human endothelial cells*. Circulation, 1999. **99**(24): p. 3125-31.
97. Shu, H., et al., *Activation of PPARalpha or gamma reduces secretion of matrix metalloproteinase 9 but not interleukin 8 from human monocytic THP-1 cells*. Biochem Biophys Res Commun, 2000. **267**(1): p. 345-9.
98. Fegan, P.G., et al., *Microvascular endothelial function in subjects with Type 2 diabetes and the effect of lipid-lowering therapy*. Diabet Med, 2005. **22**(12): p. 1670-6.

99. Sebestjen, M., et al., *Statin and fibrate treatment of combined hyperlipidemia: the effects on some novel risk factors*. *Thromb Haemost*, 2004. **92**(5): p. 1129-35.
100. Coban, E., et al., *The effect of fenofibrate on the levels of high sensitivity C-reactive protein in dyslipidaemic hypertensive patients*. *Int J Clin Pract*, 2005. **59**(4): p. 415-8.
101. Undas, A., et al., *Early antithrombotic and anti-inflammatory effects of simvastatin versus fenofibrate in patients with hypercholesterolemia*. *Thromb Haemost*, 2005. **94**(1): p. 193-9.
102. Yesilbursa, D., et al., *The effect of fenofibrate on serum paraoxonase activity and inflammatory markers in patients with combined hyperlipidemia*. *Kardiol Pol*, 2005. **62**(6): p. 526-30.
103. Wang, T.D., et al., *Efficacy of fenofibrate and simvastatin on endothelial function and inflammatory markers in patients with combined hyperlipidemia: relations with baseline lipid profiles*. *Atherosclerosis*, 2003. **170**(2): p. 315-23.
104. Tsimihodimos, V., et al., *Effect of fenofibrate on serum inflammatory markers in patients with high triglyceride values*. *J Cardiovasc Pharmacol Ther*, 2004. **9**(1): p. 27-33.
105. Broncel, M., et al., *[The anti-inflammatory and antioxidants effects of micronized fenofibrate in patients with visceral obesity and dyslipidemia]*. *Pol Merkur Lekarski*, 2006. **20**(119): p. 547-50.
106. Kim, C.J., *Effects of fenofibrate on C-reactive protein levels in hypertriglyceridemic patients*. *J Cardiovasc Pharmacol*, 2006. **47**(6): p. 758-63.
107. Beckman, J.A. and M.A. Creager, *The nonlipid effects of statins on endothelial function*. *Trends Cardiovasc Med*, 2006. **16**(5): p. 156-62.
108. Gordon, D.J., et al., *High-density lipoprotein cholesterol and cardiovascular disease. Four prospective American studies*. *Circulation*, 1989. **79**(1): p. 8-15.
109. Marchesi, S., et al., *Short-term atorvastatin treatment improves endothelial function in hypercholesterolemic women*. *J Cardiovasc Pharmacol*, 2000. **36**(5): p. 617-21.
110. Laufs, U., et al., *Upregulation of endothelial nitric oxide synthase by HMG CoA reductase inhibitors*. *Circulation*, 1998. **97**(12): p. 1129-35.
111. Braun-Dullaeus, R.C., M.J. Mann, and V.J. Dzau, *Cell cycle progression: new therapeutic target for vascular proliferative disease*. *Circulation*, 1998. **98**(1): p. 82-9.
112. Cai, H. and D.G. Harrison, *Endothelial dysfunction in cardiovascular diseases: the role of oxidant stress*. *Circ Res*, 2000. **87**(10): p. 840-4.
113. Rikitake, Y., et al., *Anti-oxidative properties of fluvastatin, an HMG-CoA reductase inhibitor, contribute to prevention of atherosclerosis in cholesterol-fed rabbits*. *Atherosclerosis*, 2001. **154**(1): p. 87-96.
114. Plenge, J.K., et al., *Simvastatin lowers C-reactive protein within 14 days: an effect independent of low-density lipoprotein cholesterol reduction*. *Circulation*, 2002. **106**(12): p. 1447-52.
115. Ridker, P.M., et al., *C-reactive protein levels and outcomes after statin therapy*. *N Engl J Med*, 2005. **352**(1): p. 20-8.
116. Pruefer, D., R. Scalia, and A.M. Lefer, *Simvastatin inhibits leukocyte-endothelial cell interactions and protects against inflammatory processes in normocholesterolemic rats*. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 1999. **19**(12): p. 2894-900.

117. Fonarow, G.C., et al., *Effect of statin use within the first 24 hours of admission for acute myocardial infarction on early morbidity and mortality.* Am J Cardiol, 2005. **96**(5): p. 611-6.
118. Opper, C., et al., *Increased number of high sensitive platelets in hypercholesterolemia, cardiovascular diseases, and after incubation with cholesterol.* Atherosclerosis, 1995. **113**(2): p. 211-7.
119. Dimmeler, S., et al., *HMG-CoA reductase inhibitors (statins) increase endothelial progenitor cells via the PI 3-kinase/Akt pathway.* J Clin Invest, 2001. **108**(3): p. 391-7.
120. Kwak, B., et al., *Statins as a newly recognized type of immunomodulator.* Nat Med, 2000. **6**(12): p. 1399-402.
121. Frenette, P.S., *Locking a leukocyte integrin with statins.* N Engl J Med, 2001. **345**(19): p. 1419-21.
122. Kobashigawa, J.A., et al., *Effect of pravastatin on outcomes after cardiac transplantation.* N Engl J Med, 1995. **333**(10): p. 621-7.
123. Takemoto, M., et al., *Statins as antioxidant therapy for preventing cardiac myocyte hypertrophy.* J Clin Invest, 2001. **108**(10): p. 1429-37.
124. Crouse, J.R., 3rd, R.P. Byington, and C.D. Furberg, *HMG-CoA reductase inhibitor therapy and stroke risk reduction: an analysis of clinical trials data.* Atherosclerosis, 1998. **138**(1): p. 11-24.
125. Blair, S.N., et al., *Incremental reduction of serum total cholesterol and low-density lipoprotein cholesterol with the addition of plant stanol ester-containing spread to statin therapy.* Am J Cardiol, 2000. **86**(1): p. 46-52.
126. Simons, L.A., *Additive effect of plant sterol-ester margarine and cerivastatin in lowering low-density lipoprotein cholesterol in primary hypercholesterolemia.* Am J Cardiol, 2002. **90**(7): p. 737-40.
127. Gylling, H. and T.A. Miettinen, *Effects of inhibiting cholesterol absorption and synthesis on cholesterol and lipoprotein metabolism in hypercholesterolemic non-insulin-dependent diabetic men.* J Lipid Res, 1996. **37**(8): p. 1776-85.
128. Thompson, G.R., *Additive effects of plant sterol and stanol esters to statin therapy.* Am J Cardiol, 2005. **96**(1A): p. 37D-39D.
129. Plat, J., et al., *Plant sterol or stanol esters retard lesion formation in LDL receptor-deficient mice independent of changes in serum plant sterols.* J Lipid Res, 2006. **47**(12): p. 2762-71.
130. Nambi, V. and C.M. Ballantyne, *Combination therapy with statins and omega-3 fatty acids.* Am J Cardiol, 2006. **98**(4A): p. 34i-38i.
131. McKenney, J.M., et al., *Study of the pharmacokinetic interaction between simvastatin and prescription omega-3-acid ethyl esters.* J Clin Pharmacol, 2006. **46**(7): p. 785-91.
132. Hollenberg, P.F., *Characteristics and common properties of inhibitors, inducers, and activators of CYP enzymes.* Drug Metab Rev, 2002. **34**(1-2): p. 17-35.
133. Dahan, A. and H. Altman, *Food-drug interaction: grapefruit juice augments drug bioavailability--mechanism, extent and relevance.* Eur J Clin Nutr, 2004. **58**(1): p. 1-9.
134. Stump, A.L., T. Mayo, and A. Blum, *Management of grapefruit-drug interactions.* Am Fam Physician, 2006. **74**(4): p. 605-8.

135. Jula, A., et al., *Effects of diet and simvastatin on serum lipids, insulin, and antioxidants in hypercholesterolemic men: a randomized controlled trial.* JAMA, 2002. **287**(5): p. 598-605.
136. Jenkins, D.J., et al., *Direct comparison of a dietary portfolio of cholesterol-lowering foods with a statin in hypercholesterolemic participants.* Am J Clin Nutr, 2005. **81**(2): p. 380-7.
137. Maitland-van der Zee, A.H., et al., *Genetic polymorphisms: importance for response to HMG-CoA reductase inhibitors.* Atherosclerosis, 2002. **163**(2): p. 213-22.
138. Kajinami, K., et al., *Statin pharmacogenomics: what have we learned, and what remains unanswered?* Curr Opin Lipidol, 2005. **16**(6): p. 606-13.
139. Miettinen, T.A., et al., *Baseline serum cholestanol as predictor of recurrent coronary events in subgroup of Scandinavian simvastatin survival study. Finnish 4S Investigators.* BMJ, 1998. **316**(7138): p. 1127-30.
140. Kajinami, K., et al., *Pharmacogenetics of HMG-CoA reductase inhibitors: exploring the potential for genotype-based individualization of coronary heart disease management.* Atherosclerosis, 2004. **177**(2): p. 219-34.
141. Chasman, D.I., et al., *Pharmacogenetic study of statin therapy and cholesterol reduction.* JAMA, 2004. **291**(23): p. 2821-7.
142. Devaraj, S., B. Autret, and I. Jialal, *Effects of colesvelam hydrochloride (WelChol) on biomarkers of inflammation in patients with mild hypercholesterolemia.* Am J Cardiol, 2006. **98**(5): p. 641-3.
143. Bays, H.E., et al., *Effects of colesvelam hydrochloride on low-density lipoprotein cholesterol and high-sensitivity C-reactive protein when added to statins in patients with hypercholesterolemia.* Am J Cardiol, 2006. **97**(8): p. 1198-205.
144. Kuivenhoven, J.A., et al., *The role of a common variant of the cholesteryl ester transfer protein gene in the progression of coronary atherosclerosis. The Regression Growth Evaluation Statin Study Group.* N Engl J Med, 1998. **338**(2): p. 86-93.
145. Pedro-Botet, J., et al., *Apolipoprotein E genotype affects plasma lipid response to atorvastatin in a gender specific manner.* Atherosclerosis, 2001. **158**(1): p. 183-93.
146. Beohar, N., et al., *Angiotensin-I converting enzyme genotype DD is a risk factor for coronary artery disease.* J Investig Med, 1995. **43**(3): p. 275-80.
147. Zambon, A., et al., *Common hepatic lipase gene promoter variant determines clinical response to intensive lipid-lowering treatment.* Circulation, 2001. **103**(6): p. 792-8.
148. Kajinami, K., et al., *CYP3A4 genotypes and plasma lipoprotein levels before and after treatment with atorvastatin in primary hypercholesterolemia.* Am J Cardiol, 2004. **93**(1): p. 104-7.
149. Bolego, C., et al., *Safety considerations for statins.* Curr Opin Lipidol, 2002. **13**(6): p. 637-44.
150. Kajinami, K., et al., *ATP binding cassette transporter G5 and G8 genotypes and plasma lipoprotein levels before and after treatment with atorvastatin.* J Lipid Res, 2004. **45**(4): p. 653-6.
151. Vigushin, D.M., M.B. Pepys, and P.N. Hawkins, *Metabolic and scintigraphic studies of radioiodinated human C-reactive protein in health and disease.* J Clin Invest, 1993. **91**(4): p. 1351-7.

152. Mauger, J.F., et al., *Intravascular kinetics of C-reactive protein and their relationships with features of the metabolic syndrome*. J Clin Endocrinol Metab, 2008. **93**(8): p. 3158-64.

## **Annexe A. Le syndrome métabolique : définitions, prévalence et prise en charge**

### ***The Metabolic Syndrome: Definitions, Prevalence and Management***

Josée Levesque, Benoît Lamarche

**From the:** Institute on Nutraceuticals and Functional Foods, Laval University, Québec, Canada

#### **Address of correspondence:**

Benoît Lamarche, PhD  
Institute on Nutraceuticals and Functional Foods  
Pavillon des services, Laval University  
2440, Hochelaga Blvd  
Québec, Canada, G1K 7P4  
Tel: (418) 656-3527  
Fax: (418) 656-5877  
E-mail: [Benoit.Lamarche@inaf.ulaval.ca](mailto:Benoit.Lamarche@inaf.ulaval.ca)

**Word count: 5077 words**

**Reference:** Levesque, J. and B. Lamarche, *The Metabolic Syndrome: Definitions, Prevalence and Management*. Journal of Nutrigenetics and Nutrigenomics, 2008. **1**(3):100-108.

## **ABSTRACT**

The metabolic syndrome (MetS) refers to the clustering of various metabolic risk factors that include abdominal obesity, dyslipidemia, hypertension, and hyperglycemia. It is now well known that it is associated with an increased risk of cardiovascular disease (CVD) and of type 2 diabetes. The increasing prevalence of the MetS, associated with the substantial progression of obesity and diabetes, is therefore an important public health concern. Over the years, several definitions for the MetS have been proposed by major scientific associations. Those definitions differ somewhat in their criteria and threshold values but generally all agree on the essential components of the syndrome. The proposed definitions are intended to help identify individuals at increased long-term risk for CVD, who could benefit from early prevention. The diagnosis of the MetS should be used concurrently with standard predicting algorithms, such as the Framingham Risk Score and the Diabetes Predicting Model, which better predict short-term risks. The management of the MetS should emphasize therapeutic lifestyle modifications – weight loss, increased physical activity, healthy diet – as the first-line therapy. If the short-term risk of CVD or diabetes is high, specific risk factors should be monitored more closely according to established guidelines and drug therapy may be appropriate.

**Keywords:** metabolic syndrome (MetS), insulin resistance syndrome, definition, obesity, prevalence, management

## INTRODUCTION

The metabolic syndrome (MetS) is a cluster of metabolic abnormalities that predisposes an individual to a greater risk of developing type 2 diabetes [1] and cardiovascular disease (CVD) [2, 3]. The concept of MetS, also known as the insulin resistance syndrome [4], syndrome X [5], and the deadly quartet [6], may have been introduced as early as 1923 by Kylin as the clustering of hypertension, hyperglycemia, and hyperuricemia [7]. The MetS was more comprehensively described in 1988 by Reaven as a syndrome implying a dysregulated glucose and insulin homeostasis, but also comprising hypertension and a typical dyslipidemia characterized by elevated plasma triglyceride (TG) levels and low high-density lipoprotein cholesterol (HDL-C) concentrations [5]. Abdominal obesity has since then been integrated by others as one of the key components of the MetS [8].

To help define the MetS for clinical and research purposes, diagnostic criteria have been proposed by different health organizations. Although the actual definitions differ somewhat in their criteria and threshold values, most agree on the essential components – obesity, dyslipidemia, hypertension, and glucose intolerance. Because of notable interethnic differences in the obesity-associated risk of disease, several cut-off points have been proposed to adapt the definition of the MetS to different populations. Furthermore, the various available definitions share the same goal that is to help identify high-risk individuals who would benefit from early and more intensive disease prevention.

Using different definitions, several studies have demonstrated that individuals with the MetS have a cardiovascular risk 2 to 5 times greater than those without the syndrome [2, 3, 9, 10]. The increasing worldwide prevalence of the MetS, an important public health concern, is intimately linked to the drastic progression of obesity and diabetes [11] and there is a sense of urgency within the medical and scientific community to develop strategies to slow down this emerging epidemic. It is yet not clear, however, which definition of the MetS best predicts the risk of future cardiovascular events.

The aim of this article is to provide an overview of the various definitions of the MetS, with emphasis on its increasing prevalence and on its management.

## **DEFINITIONS OF THE METABOLIC SYNDROME**

### **World Health Organization (WHO) (1999)**

The World Health Organization (WHO) Diabetes Group made the first attempt at defining the MetS [12]. Diagnosis of the MetS based on this definition was primarily centered on the presence of insulin resistance as revealed by clamp studies, by diagnosis of impaired glucose tolerance or by relatively elevated plasma insulin levels, or type 2 diabetes. At least 2 of the following risk factors also needed to be present for a positive diagnosis: obesity (waist-to-hip ratio  $> 0.90$  for men and  $> 0.85$  for women and/or body mass index BMI  $> 30 \text{ kg/m}^2$ ), dyslipidemia (plasma TG concentrations  $\geq 1.7 \text{ mmol/L}$  and/or HDL-C levels  $< 0.9 \text{ mmol/L}$  for men and  $< 1.0 \text{ mmol/L}$  for women), hypertension ( $\geq 140/90 \text{ mmHg}$ ), and microalbuminuria (urinary albumin excretion rate  $\geq 20 \text{ }\mu\text{g/min}$  or albumin:creatinine ratio  $\geq 30 \text{ mg/g}$ ) [12].

### **European Group for the Study of Insulin Resistance (EGIR) (1999)**

The same year, the European Group for the Study of Insulin Resistance (EGIR) recommended minor modifications to the WHO definition of the MetS in an attempt to make it simpler and easier to use. EGIR also suggested that the terminology insulin resistance syndrome should be used. As in the WHO definition, insulin resistance, measured by clamp or estimated using fasting hyperinsulinemia defined as the upper quartile of a non-diabetic reference population, was a requirement for the diagnosis of the syndrome according to EGIR. However, because insulin resistance is such a strong risk factor for type 2 diabetes, they chose to exclude the diagnosis of type 2 diabetes as a criterion in their definition. In addition to insulin resistance, at least 2 of the following risk factors needed to be present: fasting hyperglycemia ( $\geq 6.1 \text{ mmol/L}$  but below the diagnostic

criteria for frank diabetes), hypertension ( $\geq 140/90$  mmHg) or treatment for hypertension, dyslipidemia (plasma TG concentrations  $\geq 2.0$  mmol/L and/or HDL-C levels  $< 1.0$  mmol/L) or treatment for dyslipidemia, and abdominal obesity (waist circumference  $\geq 94$  cm for men and  $\geq 80$  cm for women) [13]. The EGIR definition distinguished itself from the WHO definition by putting emphasis on central obesity rather than overall obesity, by discarding the criterion for microalbuminuria, and by including treatments for hypertension and dyslipidemia in the criteria of the corresponding abnormalities [13]. Cut-off points for most criteria were also different between the EGIR and WHO definitions of the MetS.

### **National Cholesterol Education Program – Adult Treatment Panel III (NCEP-ATP III) (2001)**

The third report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III; ATP III) proposed its own definition of the Mets in 2001. At least 3 of the following 5 risk factors needed to be present according to the NCEP-ATP III definition: abdominal obesity (waist circumference  $\geq 102$  cm for men and  $\geq 88$  cm for women), moderate hypertriglyceridemia (plasma TG concentrations  $\geq 1.7$  mmol/L), reduced HDL-C levels ( $< 1.0$  mmol/L for men and  $< 1.3$  mmol/L for women), hypertension ( $\geq 130/85$  mmHg), and fasting hyperglycemia ( $\geq 6.1$  mmol/L) [8]. The cut-off points for the various criteria, excluding fasting glucose, are slightly different compared with previous definitions. In 2003, the American Diabetes Association lowered the cut-off point for impaired fasting glucose from 6.1 to 5.6 mmol/L [14] and the NCEP-ATP III definition of MetS was consequently modified [15]. Finally, as opposed to the WHO and EGIR definitions, the NCEP-ATP III definition of the MetS does not require the presence of insulin resistance.

### **American Association of Clinical Endocrinologists and the American College of Endocrinology (AAACE-ACE) (2003)**

In 2003, the American Association of Clinical Endocrinologists (AAACE) and the

American College of Endocrinology (ACE) proposed their definition for the MetS, which they also proposed should be referred to as the insulin resistance syndrome [16]. The blood pressure and lipid criteria of the NCEP-ATP III definition of the MetS were maintained. However, in addition to using fasting blood glucose, the use of an elevated 2-hour post-challenge glucose test was also encouraged. In contrast to previous definitions, AACE-ACE did not propose any criteria for obesity, which they suggested was a consequence of insulin resistance and/or hyperinsulinemia. The AACE-ACE definition also distinguished itself from the previous definitions by the absence of a numerical scoring of risk factors for the diagnosis of the insulin resistance syndrome, leaving the decision to the judgment of clinicians. This may be a major limitation for the widespread use of this definition. However, they proposed a series of risk factors that increase the probability of diagnosing the insulin resistance syndrome, including previously diagnosed CVD, non-Caucasian ethnicity, sedentary lifestyle, BMI > 25 kg/m<sup>2</sup>, age > 40 years, polycystic ovary syndrome, and family history of type 2 diabetes, hypertension, or CVD [16].

#### **International Diabetes Federation (IDF) (2005)**

In 2005, the International Diabetes Federation (IDF) made an attempt to unify the various definitions of the MetS [17]. The IDF definition does not require the presence of insulin resistance but emphasizes on central obesity, as assessed by the waist circumference. Indeed, an elevated waist girth is a mandatory criterion and the presence of at least 2 additional criteria confirms the diagnosis of the MetS. A unique feature of the IDF definition is the introduction of several ethnic-specific cut-off points for high waist circumference. The blood pressure and lipid criteria of the NCEP-ATP III definition of the MetS were maintained; treatments for dyslipidemia or hypertension and previously diagnosed type 2 diabetes were also considered diagnostic criteria. The impaired fasting glucose threshold was fixed at 5.6 mmol/L, in agreement with the new recommendations of the American Diabetes Association [14]. The IDF also recommended additional non-traditional criteria for research on the MetS, including biomarkers of adipose tissue (adiponectin, leptin), apolipoprotein B, LDL particle size, endothelial dysfunction, urinary albumin, inflammatory markers (C-reactive protein, tumor necrosis factor, interleukin-6),

and thrombotic markers (plasminogen activator inhibitor type 1, fibrinogen).

**American Heart Association and the National Heart, Lung, and Blood Institute statement on the diagnosis and management of the MetS (AHA-NHLBI) (2005)**

Shortly after the IDF proposed their new definition of the MetS, the American Heart Association (AHA) and the National Heart, Lung, and Blood Institute (NHLBI) issued a joint scientific statement on the diagnosis and management of the MetS [18]. Also based on the NCEP-ATP III definition, the AHA-NHLBI definition bears important similarities with the IDF definition. Hence, the criteria for hypertension, dyslipidemia, and impaired fasting glucose were comparable between the AHA-NHLBI and IDF definitions and treatments for corresponding abnormalities were also considered as diagnostic criteria. According to the AHA-NHLBI definition, and similar to the NCEP-ATP III definition, the diagnosis of the MetS requires the presence of at least 3 of the criteria and does not require the presence of any one particular criterion. Even though the AHA-NHLBI does not propose specific ethnic cut-off points for waist circumference, lower cut-off points are suggested for populations such as Asian Americans.

**Hypertriglyceridemic waist (HyperTG waist) (2000)**

Each feature of the MetS has been individually associated with an increased risk of CVD. Combination of specific non-traditional risk factors has also been proven to be strongly correlated with CVD risk beyond traditional risk factors. Specifically, the accumulation of these 3 non-traditional risk factors – namely small, dense, LDL particles, elevated plasma apolipoprotein (apo) B levels and elevated plasma insulin levels – has been associated with a > 18-fold increase in the 5-year cardiovascular risk [19]. Because these non-traditional markers are not readily available to clinicians, our group developed the concept of the hypertriglyceridemic (hyperTG) waist, which strongly predicts the risk of carrying these 3 non-traditional risk factors. Thus, the hyperTG waist is defined by the presence of (i) an elevated waist circumference ( $\geq 90$  cm in men), as a marker for elevated fasting insulin and apoB levels, and (ii) elevated plasma TG levels ( $\geq 2.0$  mmol/L), as a

marker for small, dense, LDL particles [20]. Prospective large scale studies are needed to confirm the hyperTG waist phenotype's ability to predict future CVD events and type 2 diabetes onset.

## **WHICH DEFINITION TO FAVOR?**

Over the years, the different definitions of the MetS have evolved, each definition bringing up novel perspectives on the syndrome while also intensifying the debate on which definition should be promoted in research as well as in clinical practice. The ideal definition of the MetS would be equally adequate and functional for clinical practice as well as for clinical, fundamental, and epidemiological research. It would also identify individuals at high-risk of developing CVD as well as type 2 diabetes.

In clinical settings, a diagnostic tool must be simple to use, easily accessible and cost-effective. The hyperTG waist clearly appears as an ideal candidate, with only two components to integrate and manage. More prospective large scale studies are needed to establish this definition as a strong predictor of CVD and type 2 diabetes. As the next best choices, the NCEP-ATP III, the IDF, and the AHA-NHLBI definitions should be considered. These definitions appear to be simpler diagnostic definitions because they are based on criteria already being used in clinical practice. Therefore, these individual criteria can easily be regrouped in order to get a comprehensive overview on a patient's CVD and diabetes risks, as predicted by the MetS. The NCEP-ATP III definition has been extensively used compared to others and several large scale studies have confirmed its ability to predict both CVD and type 2 diabetes. However, these four definitions may be more specific to CVD than to type 2 diabetes because they do not formally require the presence of insulin resistance in their criteria, as do the WHO and the EGIR definitions. The AACE-ACE definition does not require the presence of insulin resistance but suggests that is the underlying cause of the MetS) [21].

In research settings, the definition of the MetS that will appear appropriate and

optimal will depend on the objectives pursued by the research. In epidemiological research, simple and low cost tools are needed to investigate large cohorts of subjects. Therefore, the same four definitions should be considered: the NCEP-ATP III, the IDF, and the AHA-NHLBI definitions, and the hyperTG waist. On the other hand, in clinical and smaller-scale, human investigation, definitions could be extended and further detailed to include more specific components of the syndrome. The IDF definition is an interesting candidate because of the wide range of additional non-traditional criteria that were recommended for research on the MetS. Because the definition of the MetS is a work in progress, we believe that research should still not be restricted to any one specific definition [21].

## **COMPARISON OF THE DEFINITIONS OF THE METABOLIC SYNDROME**

### **Comparison of the Estimated Prevalence of the Metabolic Syndrome**

Independent of the different definitions and criteria used, it has been well demonstrated that the worldwide prevalence of the MetS is increasing, largely because of the rise in obesity rates. The prevalence of the MetS is also age-dependent. The National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES) III was the first study to estimate the prevalence of the MetS among US adults. Using the NCEP-ATP III definition of the MetS, they found a prevalence of 6.7% among participants aged 20-29 years and of 43.5% among those aged 60-69 years [22]. Overall, the age-adjusted prevalence was similar for men (24.0%) and for women (23.4%) [22]. Ethnicity had a definite impact on the prevalence of MetS, the Mexican Americans having the highest age-adjusted prevalence (31.9%) and the African Americans and Caucasians the lowest prevalence (21.6% and 23.8%, respectively) [22]. It was also documented that metabolic abnormalities and the MetS are increasingly prevalent among US adolescents, a direct consequence of the increasing rates of obesity in younger age groups [23]. It is still debated which definition of the MetS, existing or modified, should be used in children and adolescents.

The comparison of the prevalence of the MetS in US adults using different definitions revealed that the overall prevalence was comparable using the WHO (25.1%) and the NCEP-ATP III definition (23.9%) [24]. Although estimates using WHO and NCEP-ATP III definitions were comparable among Caucasians, estimates differed more considerably for other ethnic groups. For example, the largest difference occurred among African American men, of whom 16.5% were classified as having the MetS using the NCEP-ATP III definition whereas 24.9% had the MetS using the WHO definition [24]. A study in Sweden revealed that the prevalence of MetS according to the IDF definition was slightly higher (21.9%) in comparison with the NCEP-ATP III (20.7%) and EGIR (18.8%) definitions [25]. In another European study, the prevalence of the MetS according to definitions from WHO, the NCEP-ATP III, the NCEP-ATP III revised and the IDF was 27.0%, 25.9%, 32.2% and 35.9% respectively in men and 19.7%, 23.4%, 28.5% and 34.1% respectively in women [26]. Finally, the prevalence of the MetS using the IDF and AHA-NHLBI definitions in a population from Taiwan was relatively well correlated: 6.2% and 11.6% respectively in men, 12.6% and 16.5% respectively in women [27]. However, values were generally lower than those generated by previous studies using the WHO or the NCEP-ATP III definitions.

In summary, the IDF definition appears to predict a higher prevalence of the MetS compared with previously established definitions, when comparing prevalences within each study. On the other hand, the NCEP-ATP III definition appears to yield relatively consistent results in Caucasians, when comparing prevalences between different published studies.

### **Metabolic Syndrome Definitions and Cardiovascular Disease Risk Prediction**

Several studies have attempted to evaluate which of the different MetS definitions would better predict the risk of CVD. A study in Sweden indicated that, even though the prevalence of MetS according to the IDF definition was higher than with NCEP-ATP III

and EGIR definitions, the IDF definition was not superior in predicting the risk of CVD, a finding consistent within both genders [25]. Another European study compared estimates of CVD mortality rates derived from the WHO, NCEP-ATP III, NCEP-ATP III revised and IDF definitions. MetS, as diagnosed by these four definitions, predicted increased CVD mortality rates in men [26]. However, hazard ratios for men were higher with the WHO definition than with the IDF definition [26]. Hazard ratio for women were generally lower than those calculated for men, for every definition of the MetS used, except for the IDF definition, which yielded comparable hazard ratio in both gender [26]. These findings suggest gender differences in the MetS prediction of CVD mortality rates. The association between carotid atherosclerosis, a surrogate of CVD risk, and different MetS definitions (NCEP-ATP III, IDF and AHA-NHLBI) has also been evaluated. Irrespective of the definition used, carotid intima-media thickness was significantly higher in both men and women diagnosed with the MetS compared to those without the MetS [28]. The strongest predictor of carotid atherosclerosis was the AHA-NHLBI definition in males, whereas it was the IDF definition in females [28]. Again, these results suggest important gender differences in the MetS definitions for the prediction of early atherosclerotic lesions [28]. In a Greek population, CVD prevalence was increased in the presence of MetS irrespective of the definition used, but the increase was more pronounced with the NCEP-ATP III and AHA-NHLBI definitions compared with the IDF definition [29]. The IDF definition included a large proportion of subjects among whom CVD prevalence was comparable to the CVD prevalence among the entire study population [29]. Similarly, in type 2 diabetic patients, the MetS prevalence was higher when using the IDF definition (73.7%) than with the NCEP-ATP III definition (68.4%) [30]. However, diagnosis of MetS using the NCEP-ATP III definition was associated with higher all-cause mortality rates, while the association for the IDF definition was not significant [30]. It was therefore concluded that in a population at high risk with type 2 diabetes, the use of the IDF definition predicts a higher prevalence of the MetS, without improving its prognostic value on the risk of mortality [30].

In summary, only a few published studies have compared different MetS definitions as predictors of CVD development or mortality. According to most studies, the IDF

definition of the MetS appears to be a less powerful predictor of CVD prognosis. Gender differences for the prediction of CVD risk with various definitions were also highlighted. Finally, it must be stressed that many of the previously described studies were conducted in European or Asian populations. Because of significant ethnic differences in the development of the MetS and its association with disease onset, the relevance and applicability of many of these studies to North American populations may be questioned.

## **MANAGEMENT OF THE METABOLIC SYNDROME**

The clinical relevance of the MetS was challenged by a study that has compared the MetS definition and the Diabetes Predicting Model and the Framingham Risk Score as methods for identifying high-risk individuals for type 2 diabetes and CVD, respectively [31]. Data indicated that the MetS definition was inferior to these two established predicting models for the prediction of their related outcomes. This fuelled the debate on whether or not the cluster of MetS risk factors confers a higher cardiovascular risk than the sum of its individual components [32]. The joint AHA-NHLBI statement has re-emphasized the importance of considering the MetS as a clinical entity, based on the arguments that the Diabetes Predicting Model and the Framingham Risk Score are best at identifying short-term risk (< 10 years), whereas MetS definitions would predict a longer-term risk of disease [18]. Therefore, the clinical usefulness of the MetS diagnosis may be in identifying, at an early stage, individuals at high long-term risk of CVD rather than short-term risk, as determined by traditional predicting models [33]. After assessment of the 10-year risk for CVD, if the short-term risk is low in a patient with the MetS, therapeutic lifestyle modifications are the first-line therapy to attenuate its associated long-term risk [8]. On the other hand, if the short-term risk is high, drug therapy is likely to be required to modify specific cardiovascular risk factors.

## **Management of Underlying Risk Factors**

The first step in the management of the MetS is to control underlying modifiable risk factors, principally obesity, physical inactivity, and an atherogenic diet [34]. These therapeutic lifestyle modifications should be recommended to every person diagnosed with the MetS, independently of their risk assessment, because they are basically healthy lifestyle habits. Obesity, physical inactivity and poor diet are also most likely key etiological factors leading to the development of the MetS.

### *Overweight, Physical Inactivity / Sedentary Lifestyle and Dietary Modifications*

Abdominal obesity is very closely associated with the MetS and many of its underlying risk factors [8]. Obesity guidelines [35] insist on weight reduction through behavioral changes to reduce caloric intake and increase physical activity, in order to achieve a 7-10% weight loss over 6-12 months. Because extreme diets are usually not effective in producing a long-term weight loss, the most effective weight loss strategy has been shown to be a modest 500- to 1000-calorie/day reduction. Bariatric surgery conveys interesting results among morbidly obese patients with the MetS. Significant weight reduction 1 year after the surgery improved all the features of the MetS and resulted in a cure rate of 95.6% [36]. The daily physical exercise recommendation is 30 minutes of physical activity of moderate intensity [37]. Long-term maintenance of the weight loss is more successful by increasing regular physical exercise [35]. Finally, individuals with the MetS should also adhere to the following basic dietary principles: low intakes of saturated fats, trans fats, and cholesterol, reduced consumption of simple sugars, and increased intakes of fruits, vegetables, and whole grains [8]. The relative proportions of dietary carbohydrates and fat (low fat/high carbs vs. low carbs/high fat diets) for optimal long-term management of the MetS and its risk factors remains an issue of intense debate [34]. Therapeutic lifestyle modifications have been shown to prevent the development of type 2 diabetes in high-risk individuals. In subjects with impaired glucose tolerance, lifestyle changes has been proven to reduce the incidence of diabetes by 58% after four years [38].

In non diabetic individuals with elevated fasting and post-load plasma glucose concentrations, lifestyle modifications and metformin both reduced the incidence of diabetes, but lifestyle changes were significantly more effective than metformin [39].

### **Management of Metabolic Risk Factors**

Therapeutic lifestyle modifications improve the severity of most of the risk factors associated with the MetS [8] and therefore should precede the management of the individual metabolic risk factors. A pharmacological agent called rimonabant, a cannabinoid (CB1) receptor blocker that is under investigation, has been shown to significantly reduce body weight ( $-6.7\pm 0.5\text{kg}$ ), reduce waist circumference ( $-5.8\pm 0.5\text{cm}$ ), and improve the metabolic risk profile in high-risk overweight or obese patients with an atherogenic dyslipidemia, over one year as compared with placebo [40]. However, until its efficacy is further confirmed, the treatment of the different risk factors through drug therapy should follow current guidelines for each individual risk factor.

#### *Atherogenic Dyslipidemia*

The MetS is associated with an atherogenic dyslipidemia, which is characterized by elevated TG and apoB levels, small dense LDL particles, and low HDL-C concentrations [34]. Statins are widely used to reduce the risk of cardiovascular events. The cardiovascular benefits of statin therapy are mostly produced by their powerful cholesterol lowering properties but also by pleiotropic effects independent of cholesterol reductions [41]. Fibrates target more specifically the atherogenic dyslipidemia by significantly reducing plasma TG levels and moderately increasing HDL-C concentrations [8], but the efficacy of fibrates alone in reducing CVD events has not been substantiated yet, particularly among individuals with type 2 diabetes [42]. A subanalysis of the VA-HIT trial has shown that the group with insulin resistance at baseline experienced the greatest benefit of receiving a fibrate, gemfibrozil, in terms of reduction of CVD rates [43]. The combined use of statin and fibrates produces the most beneficial effects on all lipid parameters and may result in the greatest improvement of CVD risk status [44]. Despite an increased risk for myopathy,

such a combination remains an attractive avenue, especially if low doses are used [34].

### *Hypertension*

Blood pressure reduction has important cardiovascular benefits, even in patients with type 2 diabetes [45, 46]. Blood pressure can be mildly reduced by several lifestyle changes, such as weight control, increased physical activity, alcohol moderation, sodium reduction, and increased consumption of fruits, vegetables and low-fat dairy products [18]. However, anti-hypertensive drugs are often required, in addition to lifestyle changes, to reach blood pressure goals [45]. Angiotensin-converting enzyme (ACE) inhibitors or angiotensin receptor blockers are often the first-line therapy suggested, including in MetS and type 2 diabetic patients [47].

### *Insulin Resistance and Hyperglycemia*

Metformin, thiazolidinediones and acarbose are used in the treatment of type 2 diabetes. Studies have investigated their efficacy to prevent diabetes in individuals with impaired glucose tolerance (IGT) and impaired fasting glucose (IFG) and they have shown that these drugs are effective at delaying type 2 diabetes onset [39, 48, 49]. Possibly because of the association between type 2 diabetes and CVD, it is suggested that these anti-diabetic drugs could also reduce and prevent CVD [49, 50]. It must be kept in mind that lipid-altering, antihypertensive, and hypoglycemic drugs sometimes have negative repercussions on body weight and insulin sensitivity [34]. Clinicians must therefore be careful in treating the MetS as a whole and aim for the improvement in as many MetS features as possible.

### *Prothrombotic State*

Although not included in the MetS criteria in most definitions, prothrombotic and proinflammatory states accompany the MetS most of the time and they will be briefly discussed. A prothrombotic state consists of an elevation of coagulation factors, such as fibrinogen and plasminogen activator inhibitor 1, and increases susceptibility to arterial thrombosis [34]. Low-dose aspirin or other antiplatelet drugs are recommended in secondary prevention of CVD [34], in primary prevention of CVD in type 2 diabetics

individuals [34], and in high CVD risk individuals with the MetS [51].

### *Proinflammatory State*

A proinflammatory state is characterized by elevated cytokines (TNF $\alpha$ , interleukin-6) and acute phase reactants (C-reactive protein, fibrinogen) [34]. C-reactive protein (CRP) is proposed to be a sensitive marker of subclinical inflammation, associated with the atherosclerosis process and CVD [52]. Studies have shown that individuals with elevated CRP concentrations (> 3.0 mg/L) are more vulnerable to develop CVD than those with constitutive CRP concentrations below 1.0 mg/L [52]. Increased plasma CRP concentrations have been associated to many features of the MetS and, moreover, CRP concentrations increase as the number of components of the MetS also increases [53, 54]. This could result from the secretion by adipose tissue of several inflammatory cytokines, including interleukin-6, which stimulated CRP synthesis by the liver [55, 56]. Measurement of CRP among patients with the MetS has added significant prognostic information on cardiovascular risk at all levels of severity of the MetS [53], suggesting that addition of CRP to current criteria used to diagnose the MetS should be considered. More research on this is still warranted. Although no specific anti-inflammatory drugs are available to treat a proinflammatory state, several drugs used to treat other metabolic risk factors have demonstrated anti-inflammatory properties. Indeed, statins, fibrates, and thiazolidinediones have been shown to reduce plasma CRP concentrations [57-60]. However, these drugs are not currently recommended solely to reduce a proinflammatory state independently of other risk factors [34].

## **NUTRIGENOMICS AND THE METABOLIC SYNDROME**

The physiopathology of the MetS remains unclear. The diversity of the MetS's metabolic abnormalities indicates that it is a multifactorial disease, in which many genes may be implicated. Nutrigenomics, an emerging field of study where gene-nutrient interactions are investigated, represents an interesting avenue to get new insight into the etiology of the MetS. The goal of nutrigenomics is to develop more specific population-

based and even personalized dietary recommendations based on the genetic makeup of the individuals, in order to prevent chronic diseases. The human genome has remained unchanged in the last decades but the prevalence of the MetS has drastically increased, indicating that important gene-environment interactions are under play [61]. Therapeutic lifestyle changes including healthy eating habits and weight loss significantly improve most metabolic abnormalities of the MetS. This confirms that nutrition as an environmental factor plays a key role in the development of the MetS. Finally, the MetS appears to have a component of heritability, which suggests a genetic basis [32]. This is evidenced by the wide interethnic differences in development of abdominal obesity and the MetS. Thus, the association of population genomics with epidemiological population nutritional studies could help identify why certain populations are more susceptible to developing the MetS, CVD, and type 2 diabetes.

## **CONCLUSION**

The rising prevalence of the MetS and its associated high risk of CVD and type 2 diabetes are major public health concerns. Because the Diabetes Predicting Model and the Framingham Risk Score have been shown to be superior to the MetS definition in identifying high-risk individuals for type 2 diabetes and CVD, respectively, the clinical relevance of using the MetS definitions has been questioned. However, these two established models are relatively accurate in predicting short-term risk (< 10 years), whereas a diagnosis of MetS may predict a longer-term risk. Thus, the joint AHA-NHLBI statement has emphasized the important role of considering MetS in risk management. Challenges ahead include the development of a definition for the MetS that is sensitive enough to detect high-risk individuals earlier than what can be achieved using existing predicting models.

## REFERENCES

1. Grundy SM, Hansen B, Smith SC, Jr., Cleeman JI, Kahn RA. Clinical management of metabolic syndrome: report of the American Heart Association/National Heart, Lung, and Blood Institute/American Diabetes Association conference on scientific issues related to management. *Circulation* 2004;109(4):551-6.
2. Lakka HM, Laaksonen DE, Lakka TA, Niskanen LK, Kumpusalo E, Tuomilehto J, Salonen JT. The metabolic syndrome and total and cardiovascular disease mortality in middle-aged men. *JAMA* 2002;288(21):2709-16.
3. Isomaa B, Almgren P, Tuomi T, Forsen B, Lahti K, Nissen M, Taskinen MR, Groop L. Cardiovascular morbidity and mortality associated with the metabolic syndrome. *Diabetes care* 2001;24(4):683-9.
4. DeFronzo RA, Ferrannini E. Insulin resistance. A multifaceted syndrome responsible for NIDDM, obesity, hypertension, dyslipidemia, and atherosclerotic cardiovascular disease. *Diabetes care* 1991;14(3):173-94.
5. Reaven GM. Banting lecture 1988. Role of insulin resistance in human disease. *Diabetes* 1988;37(12):1595-607.
6. Kaplan NM. The deadly quartet. Upper-body obesity, glucose intolerance, hypertriglyceridemia, and hypertension. *Archives of internal medicine* 1989;149(7):1514-20.
7. Kylin E. Studien ueber das Hypertonie-Hyperglykämie-Hyperurikämiesyndrom. *Zentralblatt fuer Innere Medizin* 1923;44:105-27.
8. Executive Summary of The Third Report of The National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, And Treatment of High Blood Cholesterol In Adults (Adult Treatment Panel III). *Jama* 2001;285(19):2486-97.
9. Howard BV, Criqui MH, Curb JD, Rodabough R, Safford MM, Santoro N, Wilson AC, Wylie-Rosett J. Risk factor clustering in the insulin resistance syndrome and its relationship to cardiovascular disease in postmenopausal white, black, hispanic, and Asian/Pacific Islander women. *Metabolism: clinical and experimental* 2003;52(3):362-71.
10. Resnick HE, Jones K, Ruotolo G, Jain AK, Henderson J, Lu W, Howard BV. Insulin

- resistance, the metabolic syndrome, and risk of incident cardiovascular disease in nondiabetic american indians: the Strong Heart Study. *Diabetes care* 2003;26(3):861-7.
11. Zimmet P, Alberti KG, Shaw J. Global and societal implications of the diabetes epidemic. *Nature* 2001;414(6865):782-7.
  12. WHO. Definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus and its complications. Part I. Diagnosis and classification of diabetes mellitus. World Health Organization, Geneva, Switzerland 1999.
  13. Balkau B, Charles MA. Comment on the provisional report from the WHO consultation. European Group for the Study of Insulin Resistance (EGIR). *Diabet Med* 1999;16(5):442-3.
  14. Genuth S, Alberti KG, Bennett P, Buse J, Defronzo R, Kahn R, Kitzmiller J, Knowler WC, Lebovitz H, Lernmark A, Nathan D, Palmer J, Rizza R, Saudek C, Shaw J, Steffes M, Stern M, Tuomilehto J, Zimmet P. Follow-up report on the diagnosis of diabetes mellitus. *Diabetes care* 2003;26(11):3160-7.
  15. Grundy SM, Brewer HB, Jr., Cleeman JI, Smith SC, Jr., Lenfant C. Definition of metabolic syndrome: Report of the National Heart, Lung, and Blood Institute/American Heart Association conference on scientific issues related to definition. *Circulation* 2004;109(3):433-8.
  16. Einhorn D, Reaven GM, Cobin RH, Ford E, Ganda OP, Handelsman Y, Hellman R, Jellinger PS, Kendall D, Krauss RM, Neufeld ND, Petak SM, Rodbard HW, Seibel JA, Smith DA, Wilson PW. American College of Endocrinology position statement on the insulin resistance syndrome. *Endocr Pract* 2003;9(3):237-52.
  17. Alberti KG, Zimmet P, Shaw J. The metabolic syndrome--a new worldwide definition. *Lancet* 2005;366(9491):1059-62.
  18. Grundy SM, Cleeman JI, Daniels SR, Donato KA, Eckel RH, Franklin BA, Gordon DJ, Krauss RM, Savage PJ, Smith SC, Jr., Spertus JA, Costa F. Diagnosis and management of the metabolic syndrome: an American Heart Association/National Heart, Lung, and Blood Institute Scientific Statement. *Circulation* 2005;112(17):2735-52.
  19. Lamarche B, Tchernof A, Mauriege P, Cantin B, Dagenais GR, Lupien PJ, Despres JP. Fasting insulin and apolipoprotein B levels and low-density lipoprotein particle size as risk factors for ischemic heart disease. *Jama* 1998;279(24):1955-61.

20. Lemieux I, Pascot A, Couillard C, Lamarche B, Tchernof A, Almeras N, Bergeron J, Gaudet D, Tremblay G, Prud'homme D, Nadeau A, Despres JP. Hypertriglyceridemic waist: A marker of the atherogenic metabolic triad (hyperinsulinemia; hyperapolipoprotein B; small, dense LDL) in men? *Circulation* 2000;102(2):179-84.
21. Desroches S, Lamarche B. The evolving definitions and increasing prevalence of the metabolic syndrome. *Applied physiology, nutrition, and metabolism = Physiologie appliquee, nutrition et metabolisme* 2007;32(1):23-32.
22. Ford ES, Giles WH, Dietz WH. Prevalence of the metabolic syndrome among US adults: findings from the third National Health and Nutrition Examination Survey. *Jama* 2002;287(3):356-9.
23. de Ferranti SD, Gauvreau K, Ludwig DS, Newburger JW, Rifai N. Inflammation and changes in metabolic syndrome abnormalities in US adolescents: findings from the 1988-1994 and 1999-2000 National Health and Nutrition Examination Surveys. *Clinical chemistry* 2006;52(7):1325-30.
24. Ford ES, Giles WH. A comparison of the prevalence of the metabolic syndrome using two proposed definitions. *Diabetes care* 2003;26(3):575-81.
25. Nilsson PM, Engstrom G, Hedblad B. The metabolic syndrome and incidence of cardiovascular disease in non-diabetic subjects--a population-based study comparing three different definitions. *Diabet Med* 2007;24(5):464-72.
26. Qiao Q. Comparison of different definitions of the metabolic syndrome in relation to cardiovascular mortality in European men and women. *Diabetologia* 2006;49(12):2837-46.
27. Chen HJ, Pan WH. Probable blind spot in the international diabetes Federation definition of metabolic syndrome. *Obesity (Silver Spring, Md)* 2007;15(5):1096-100.
28. Skilton MR, Moulin P, Serusclat A, Nony P, Bonnet F. A comparison of the NCEP-ATPIII, IDF and AHA/NHLBI metabolic syndrome definitions with relation to early carotid atherosclerosis in subjects with hypercholesterolemia or at risk of CVD: evidence for sex-specific differences. *Atherosclerosis* 2007;190(2):416-22.
29. Athyros VG, Ganotakis ES, Elisaf MS, Liberopoulos EN, Goudevenos IA, Karagiannis A. Prevalence of vascular disease in metabolic syndrome using three proposed definitions. *International journal of cardiology* 2007;117(2):204-10.

30. Monami M, Marchionni N, Masotti G, Mannucci E. IDF and ATP-III definitions of metabolic syndrome in the prediction of all-cause mortality in type 2 diabetic patients. *Diabetes, obesity & metabolism* 2007;9(3):350-3.
31. Stern MP, Williams K, Gonzalez-Villalpando C, Hunt KJ, Haffner SM. Does the metabolic syndrome improve identification of individuals at risk of type 2 diabetes and/or cardiovascular disease? *Diabetes care* 2004;27(11):2676-81.
32. Pollex RL, Hegele RA. Genetic determinants of the metabolic syndrome. *Nature clinical practice* 2006;3(9):482-9.
33. Chew GT, Gan SK, Watts GF. Revisiting the metabolic syndrome. *The Medical journal of Australia* 2006;185(8):445-9.
34. Eckel RH, Grundy SM, Zimmet PZ. The metabolic syndrome. *Lancet* 2005;365(9468):1415-28.
35. Clinical Guidelines on the Identification, Evaluation, and Treatment of Overweight and Obesity in Adults--The Evidence Report. National Institutes of Health. *Obesity research* 1998;6 Suppl 2:51S-209S.
36. Lee WJ, Huang MT, Wang W, Lin CM, Chen TC, Lai IR. Effects of obesity surgery on the metabolic syndrome. *Arch Surg* 2004;139(10):1088-92.
37. Thompson PD, Buchner D, Pina IL, Balady GJ, Williams MA, Marcus BH, Berra K, Blair SN, Costa F, Franklin B, Fletcher GF, Gordon NF, Pate RR, Rodriguez BL, Yancey AK, Wenger NK. Exercise and physical activity in the prevention and treatment of atherosclerotic cardiovascular disease: a statement from the Council on Clinical Cardiology (Subcommittee on Exercise, Rehabilitation, and Prevention) and the Council on Nutrition, Physical Activity, and Metabolism (Subcommittee on Physical Activity). *Circulation* 2003;107(24):3109-16.
38. Tuomilehto J, Lindstrom J, Eriksson JG, Valle TT, Hamalainen H, Ilanne-Parikka P, Keinanen-Kiukkaanniemi S, Laakso M, Louheranta A, Rastas M, Salminen V, Uusitupa M. Prevention of type 2 diabetes mellitus by changes in lifestyle among subjects with impaired glucose tolerance. *The New England journal of medicine* 2001;344(18):1343-50.
39. Knowler WC, Barrett-Connor E, Fowler SE, Hamman RF, Lachin JM, Walker EA, Nathan DM. Reduction in the incidence of type 2 diabetes with lifestyle intervention or

- metformin. *The New England journal of medicine* 2002;346(6):393-403.
40. Despres JP, Golay A, Sjostrom L. Effects of rimonabant on metabolic risk factors in overweight patients with dyslipidemia. *The New England journal of medicine* 2005;353(20):2121-34.
  41. Liao JK. Effects of statins on 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme a reductase inhibition beyond low-density lipoprotein cholesterol. *The American journal of cardiology* 2005;96(5A):24F-33F.
  42. Keech A, Simes RJ, Barter P, Best J, Scott R, Taskinen MR, Forder P, Pillai A, Davis T, Glasziou P, Drury P, Kesaniemi YA, Sullivan D, Hunt D, Colman P, d'Emden M, Whiting M, Ehnholm C, Laakso M. Effects of long-term fenofibrate therapy on cardiovascular events in 9795 people with type 2 diabetes mellitus (the FIELD study): randomised controlled trial. *Lancet* 2005;366(9500):1849-61.
  43. Robins SJ, Rubins HB, Faas FH, Schaefer EJ, Elam MB, Anderson JW, Collins D. Insulin resistance and cardiovascular events with low HDL cholesterol: the Veterans Affairs HDL Intervention Trial (VA-HIT). *Diabetes care* 2003;26(5):1513-7.
  44. Athyros VG, Mikhailidis DP, Papageorgiou AA, Didangelos TP, Peletidou A, Kleta D, Karagiannis A, Kakafika AI, Tziomalos K, Elisaf M. Targeting vascular risk in patients with metabolic syndrome but without diabetes. *Metabolism: clinical and experimental* 2005;54(8):1065-74.
  45. Chobanian AV, Bakris GL, Black HR, Cushman WC, Green LA, Izzo JL, Jr., Jones DW, Materson BJ, Oparil S, Wright JT, Jr., Roccella EJ. Seventh report of the Joint National Committee on Prevention, Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Pressure. *Hypertension* 2003;42(6):1206-52.
  46. Tight blood pressure control and risk of macrovascular and microvascular complications in type 2 diabetes: UKPDS 38. UK Prospective Diabetes Study Group. *BMJ (Clinical research ed)* 1998;317(7160):703-13.
  47. Julius S, Majahalme S, Palatini P. Antihypertensive treatment of patients with diabetes and hypertension. *Am J Hypertens* 2001;14(11 Pt 2):310S-6S.
  48. Buchanan TA, Xiang AH, Peters RK, Kjos SL, Marroquin A, Goico J, Ochoa C, Tan S, Berkowitz K, Hodis HN, Azen SP. Preservation of pancreatic beta-cell function and prevention of type 2 diabetes by pharmacological treatment of insulin resistance in

- high-risk hispanic women. *Diabetes* 2002;51(9):2796-803.
49. Chiasson JL. Acarbose for the prevention of diabetes, hypertension, and cardiovascular disease in subjects with impaired glucose tolerance: the Study to Prevent Non-Insulin-Dependent Diabetes Mellitus (STOP-NIDDM) Trial. *Endocr Pract* 2006;12 Suppl 1:25-30.
  50. Ajjan RA, Grant PJ. Cardiovascular disease prevention in patients with type 2 diabetes: The role of oral anti-diabetic agents. *Diab Vasc Dis Res* 2006;3(3):147-58.
  51. Pearson TA, Blair SN, Daniels SR, Eckel RH, Fair JM, Fortmann SP, Franklin BA, Goldstein LB, Greenland P, Grundy SM, Hong Y, Miller NH, Lauer RM, Ockene IS, Sacco RL, Sallis JF, Jr., Smith SC, Jr., Stone NJ, Taubert KA. AHA Guidelines for Primary Prevention of Cardiovascular Disease and Stroke: 2002 Update: Consensus Panel Guide to Comprehensive Risk Reduction for Adult Patients Without Coronary or Other Atherosclerotic Vascular Diseases. American Heart Association Science Advisory and Coordinating Committee. *Circulation* 2002;106(3):388-91.
  52. Ridker PM, Rifai N, Rose L, Buring JE, Cook NR. Comparison of C-reactive protein and low-density lipoprotein cholesterol levels in the prediction of first cardiovascular events. *The New England journal of medicine* 2002;347(20):1557-65.
  53. Ridker PM, Buring JE, Cook NR, Rifai N. C-reactive protein, the metabolic syndrome, and risk of incident cardiovascular events: an 8-year follow-up of 14 719 initially healthy American women. *Circulation* 2003;107(3):391-7.
  54. Lee WY, Park JS, Noh SY, Rhee EJ, Sung KC, Kim BS, Kang JH, Kim SW, Lee MH, Park JR. C-reactive protein concentrations are related to insulin resistance and metabolic syndrome as defined by the ATP III report. *International journal of cardiology* 2004;97(1):101-6.
  55. Yudkin JS, Stehouwer CD, Emeis JJ, Coppack SW. C-reactive protein in healthy subjects: associations with obesity, insulin resistance, and endothelial dysfunction: a potential role for cytokines originating from adipose tissue? *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology* 1999;19(4):972-8.
  56. Park HS, Park JY, Yu R. Relationship of obesity and visceral adiposity with serum concentrations of CRP, TNF-alpha and IL-6. *Diabetes research and clinical practice* 2005;69(1):29-35.

57. Jain MK, Ridker PM. Anti-inflammatory effects of statins: clinical evidence and basic mechanisms. *Nature reviews* 2005;4(12):977-87.
58. Okopien B, Krysiak R, Herman ZS. Effects of short-term fenofibrate treatment on circulating markers of inflammation and hemostasis in patients with impaired glucose tolerance. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism* 2006;91(5):1770-8.
59. Duval C, Chinetti G, Trottein F, Fruchart JC, Staels B. The role of PPARs in atherosclerosis. *Trends in molecular medicine* 2002;8(9):422-30.
60. Blaschke F, Spanheimer R, Khan M, Law RE. Vascular effects of TZDs: new implications. *Vascular pharmacology* 2006;45(1):3-18.
61. Roche HM, Phillips C, Gibney MJ. The metabolic syndrome: the crossroads of diet and genetics. *The Proceedings of the Nutrition Society* 2005;64(3):371-7.