

JEAN-FRANÇOIS MAUGER

**ÉTUDE COMPARATIVE DE L'IMPACT DE LA
SIMVASTATINE ET DE L'ATORVASTATINE, DEUX
INHIBITEURS DE L'HMG-COA RÉDUCTASE, SUR LA
CINÉTIQUE IN VIVO DE L'APOLIPOPROTÉINE A-I
CHEZ L'HOMME**

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

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

OCTOBRE 2004

Résumé

Le projet de recherche qui constitue ce mémoire de maîtrise avait pour but d'investiguer les mécanismes physiologiques responsables de l'effet divergent de deux statines [inhibiteurs de la 3-hydroxy-3-méthylglutaryl coenzyme A (HMG-CoA) réductase] largement utilisées en clinique, la simvastatine et l'atorvastatine, sur les concentrations de cholestérol associées aux lipoprotéines de haute densité (HDL-C). Pour ce faire, nous avons comparé l'impact de ces deux médicaments hypocholestérolémians sur la cinétique de l'apolipoprotéine A-I, la protéine majeure des lipoprotéines de haute densité, chez 7 sujets hypercholestérolémiques avec des concentrations relativement faibles de cholestérol HDL. Tous les sujets étaient soumis à chacun des deux traitements à l'étude, soit simvastatine 80 mg/jour et atorvastatine 40 mg/jour, selon un devis expérimental randomisé, en chassé-croisé et à double insu. Chaque phase de traitement durait 8 semaines. Des analyses de cinétique étaient réalisées à la fin de chacune des phases de traitement. Celles-ci ont démontré qu'un traitement de 8 semaines sous simvastatine 80 mg/jour était associé à une concentration d'apolipoprotéine A-I en circulation significativement plus élevée de 8% que sous traitement à l'atorvastatine 40 mg/jour. La concentration supérieure d'apolipoprotéine A-I sous traitement à la simvastatine était attribuable à un taux de production de d'apolipoprotéine A-I significativement plus élevé (15%) comparativement au traitement à l'atorvastatine.

Abstract

The purpose of the following study was to investigate the physiological mechanisms underlying the diverging impact of two statins (HMG-CoA reductase inhibitors) widely used in clinic, simvastatin and atorvastatin, on high density lipoprotein cholesterol (HDL-C). To do so, we compared the impact of the two lipid-lowering agents on apoA-I kinetics, the protein moiety of HDL, in 7 hypercholesterolemic men with low HDL levels. All subjects were assigned to both treatments, simvastatin 80 mg/day and atorvastatin 40mg/day, in a randomized, cross-over, double-blind fashion. Each treatment phase last 8 weeks and kinetic studies were performed at the end of each treatment phase. Our analysis has demonstrated that simvastatin 80 mg/day was associated with a significant 8% greater apoA-I concentration in circulation compared to atorvastatin 40 mg/day. The higher apoA-I concentration observed with simvastatin 80 mg/day was explained by a significant 15% greater apoA-I production rate with simvastatin 80 mg/day compared to atorvastatin 40 mg/day.

Avant-Propos

À toi, jovial lecteur, avant que tu lises mon propos, je te propose ceci :

...On va tu en avoir du plaisir, on va tu en avoir de l'agrément...(air traditionnel)

Tel est l'hymne que j'entonnais ambitieusement lors de l'éclatement fébrile des bourgeons au printemps 2002, à l'orée de mes études graduées. Aujourd'hui, arrivé au terme de mes travaux de maîtrise, le regard que je porte sur les deux dernières années est rempli de bons souvenirs qui justifient amplement le choix musical effectué deux ans auparavant. Je profite donc de cette tribune pour rendre hommage à ceux et celles qui ont contribué, de près ou de loin, à faire de mon parcours vers le titre de maître ès sciences une expérience enrichissante et ô combien plaisante.

En premier lieu, j'aimerais remercier mon superviseur, le docteur Benoît Lamarche, professeur au Département des Sciences des Aliments et de Nutrition de l'Université Laval, de m'avoir offert la chance d'initier ma formation en recherche au sein de son équipe à l'été 1999, alors que je venais à peine de commencer mes études universitaires de premier cycle. Son dynamisme, sa fougue, son caractère frondeur et ses importantes subventions de recherche sont tous des aspects de sa personnalité qui en font une source intarissable de motivation et un modèle à suivre. Je tiens également à témoigner mon admiration pour ses deux incisives supérieures qui sont très agréables à regarder parce qu'elles sont parfaitement droites et qu'elles semblent très solides et également très coupantes.

En second lieu, j'aimerais remercier le docteur Patrick Couture, chercheur clinicien à la clinique lipidique au CHUL et professeur à la faculté de médecine de l'Université Laval pour m'avoir cosupervisé d'une main de maître. Le Dr Couture, qui a activement participé au recrutement des participants de la présente étude, est pour moi un modèle de minceur, de flegmatisme et d'humour décapant.

En troisième lieu, je tiens à remercier Georges Cousineau, manitou de l'ultracentrifugation, et Danielle Aubin, infirmière dévouée, pour leur aide inestimable dans la réalisation de mes travaux de recherche.

En dernier lieu, j'aimerais remercier tout ceux et celles qui m'ont accompagné(e)s au cours de ces deux années. Mes collègues, présents et passés, au sein des équipes Lamarche et Couture: Isabelle, Mathieu, André et Jean-Charles pour leurs précieux conseils, leur savoir, leur expertise et leur gaieté. Merci à Marie-Eve paradis, pour son aide précieuse dans la manipulation de l'appareil de chromatographie en phase gazeuse / spectrométrie de masse. Merci à mon amoureuse, Marie-Andrée Imbeault, pour ses encouragements, son pouvoir de motivation incomparable et sa compréhension, et finalement, merci à ma famille pour son soutien inépuisable.

Table des matières

RÉSUMÉ	II
ABSTRACT	III
AVANT-PROPOS	IV
TABLE DES MATIÈRES	VI
LISTE DES FIGURES	VIII
LISTE DES ABRÉVIATIONS	IX
CHAPITRE I : INTRODUCTION GÉNÉRALE	1
CHAPITRE II: CONNAISSANCES ACTUELLES	4
2.1 LE MÉTABOLISME DES LIPOPROTÉINES	4
2.1.1 <i>Les chylomicrons :</i>	5
2.1.2 <i>Les VLDL et leurs résidus :</i>	5
2.1.3 <i>Les HDL :</i>	8
2.2 MALADIE CARDIOVASCULAIRE ET ATHÉROSCLÉROSE	9
2.2.1 <i>L'athérosclérose :</i>	10
2.2.2 <i>Les facteurs de risques :</i>	11
2.2.3 <i>Hypoalphalipoprotéïnémie :</i>	11
2.3 PROPRIÉTÉS ATHÉROPROTECTRICES DES HDL	12
2.3.1 <i>Transport inverse du cholestérol (TIC)</i>	12
2.3.2 <i>HDL et préservation de la fonction endothéliale</i>	17
2.3.3 <i>Propriétés antioxydantes des HDL</i>	19
2.4 TRAITEMENTS: MCV ET HYPOALPHALIPOPROTÉINÉMIE	20
2.4.1 <i>Mode de vie</i>	21
2.4.2 <i>Les fibrates</i>	21
2.4.3 <i>Les statines</i>	23
2.5 ÉTUDE DE LA CINÉTIQUE DES PROTÉINES	31
2.5.1 <i>Déterminants physiologiques de la cinétique de l'apoA-I</i>	32
2.5.2 <i>Pharmacologie, nutrition et cinétique de l'apoA-I</i>	33

CHAPITRE III: COMPARAISON DE L'IMPACT DE LA SIMVASTATINE ET DE L'ATORVASTATINE SUR LA CINÉTIQUE DE L'APOLIPOPROTÉINE A-I CHEZ L'HOMME	37
RÉSUMÉ	38
COMPARISON OF THE IMPACT OF ATORVASTATIN AND SIMVASTATIN ON APOA-I KINETICS IN MEN	39
INTRODUCTION	41
METHODS	42
<i>Subjects</i>	42
<i>Experimental design</i>	42
<i>Lipid profile</i>	43
<i>Isotopic Enrichment Determination</i>	43
<i>Kinetic Analysis</i>	44
<i>Statistical Analyses</i>	44
RESULTS	45
<i>Study subjects</i>	45
<i>Effects of study treatments on lipid profile</i>	45
<i>ApoA-I kinetics</i>	45
DISCUSSION	47
FIGURE DESCRIPTION	51
REFERENCES	56
CHAPITRE IV: CONCLUSION GÉNÉRALE	58
RÉFÉRENCES	64

Liste des figures

Figure 1: Métabolisme des lipoprotéines

Figure 2: Concentration de HDL-C et incidence de la MCV

Adaptée de *A.v Eckardstein, G. Assman, Curr Opin Lipid, 2000, 11:627-637*

Figure 3: Mécanisme responsable de l'effet hypocholestérolémiant des statines

Figure 4: Impact divergent de la simvastatine et de l'atorvastatine sur les concentrations de HDL-C

Adaptée de *AS. Wierzbicki, DP. Mikhailidis, Int j of cardiol 2002; 84. 53-57*

Liste des abréviations

Apo :	Apolipoprotéine
CETP :	Protéine de transfert des esters de cholestérol (<i>cholesteryl-ester transfer protein</i>)
eNOS :	Oxyde nitrique synthase endothéliale (<i>endothelial nitric oxide synthase</i>)
HDL :	Lipoprotéine de haute densité (<i>high-density lipoprotein</i>)
ICAM-1 :	Molécule d'adhésion inter-cellulaire-1 (<i>Inter-Cellular Adhesion Molecule-1</i>)
HDL-C :	cholestérol véhiculé par les HDL
HMG-CoA :	3-hydroxy-3-méthylglutaryl-coenzyme A
IDL :	Lipoprotéine de densité intermédiaire (<i>intermediate-density lipoprotein</i>)
LCAT :	<i>Lecithin cholesterol-acyl transférase</i>
LDL :	Lipoprotéine de faible densité (<i>low-density lipoprotein</i>)
LE :	Lipase endothéliale
LH :	Lipase hépatique
LPL :	Lipase lipoprotéique (<i>lipoprotein lipase</i>)
LSF :	Lysosulfatide
NO :	Oxyde nitrique
MCV :	Maladie cardiovasculaire
PLTP :	Protéine de transfert des phospholipides (<i>phospholipid transfer protein</i>)
PPAR :	Récepteur des activateurs de la prolifération des peroxisomes (<i>peroxisomal proliferating activator receptor</i>)
SPC :	Sphingosylphosphorylcholine
SR-BI :	Récepteur non-spécifique de classe B type 1 (Scavenger receptor class B type 1)
TIC :	Transport inverse du cholestérol
VCAM-1 :	Molécule d'adhésion des cellules vaculaire-1 (<i>Vascular Cell Adhesion Molecule-1</i>)

Chapitre I

Introduction générale

La maladie cardiovasculaire (MCV) représente la première cause de mortalité au sein des populations industrialisées.[1] L'athérosclérose est une des causes les plus fréquentes de la maladie cardiovasculaire et son développement peut être relié à plusieurs facteurs, certains de ceux-ci étant modifiables. Parmi les facteurs modifiables, on retrouve d'abord l'hypercholestérolémie et plus particulièrement l'hypercholestérolémie reliée aux lipoprotéines de faible densité (LDL). Un autre facteur modifiable de première importance est représenté par les concentrations de cholestérol véhiculées par les lipoprotéines de haute densité (HDL-C).[2] En effet, des études ont démontré que les concentrations de HDL-C sont reliées par une forte relation inverse à l'incidence de la maladie cardiovasculaire. En clinique, les facteurs modifiables sont des cibles de choix dans la prévention et le traitement des maladies cardiovasculaires. Les modes d'intervention en vigueur présentement pour moduler ces facteurs sont, d'abord, l'assainissement des habitudes de vie, puis lorsque requis, le traitement pharmacologique.

Jusqu'à récemment, les raisons pour lesquelles les concentrations élevées de cholestérol HDL semblaient athéroprotectrices étaient obscures. On savait cependant que chaque augmentation de 1% des concentrations sériques de cholestérol HDL menait à une diminution de 2% à 3% du risque cardiovasculaire.[3] Des travaux réalisés durant les dernières années ont démontré que les particules HDL étaient les acteurs de premier ordre d'un processus baptisé « transport inverse du cholestérol ». Ce processus aurait comme rôle de prendre en charge le cholestérol en excès en périphérie pour en faire la vidange au foie. De même, des études ont attribué des propriétés antioxydantes aux HDL en plus de leur accorder un rôle dans la préservation de l'intégrité endothéliale.[4]

Des études ont également été menées pour tenter de comprendre comment les niveaux de HDL-cholestérol pouvaient être modulés à l'aide des outils cliniques utilisés actuellement

dans la prévention de la maladie cardiovasculaire. Ces études ont démontré que la pratique d'exercice physique, la perte de poids et la consommation d'une diète riche en acides gras saturés influencent positivement les concentrations de HDL-C. À l'inverse, la consommation d'une diète riche en glucides et faible en gras est associée à une diminution des concentrations de HDL-C.[5] Du côté pharmacologique, il a été démontré que le traitement aux dérivés de l'acide fibrique induit une augmentation substantielle et dose dépendante des niveaux de HDL cholestérol.[6]

Les statines, ou inhibiteurs de l'HMG-CoA réductase, sont les agents hypolipidémiques les plus utilisés en clinique pour leur potentiel prouvé à diminuer les concentrations de cholestérol total et de LDL-C. D'importantes études d'intervention ont clairement démontré que le traitement aux statines prévient de façon efficace le développement de la MCV en prévention primaire et secondaire, et ce, chez des populations hyper- ou normo-cholestérolémiques. Ces grandes études ont également démontré que la diminution de la mortalité coronarienne sous traitement aux statines n'est pas seulement causée par la baisse significative des niveaux de LDL-C, mais également par l'augmentation des niveaux de HDL-C induite par le traitement. Cependant, des études ont démontré que toutes les statines n'avaient pas le même impact sur les concentrations de cholestérol véhiculé par les HDL. Ainsi, il a été démontré que la simvastatine et l'atorvastatine, les deux statines les plus utilisées en clinique à l'heure actuelle, ont un effet divergent sur les concentrations de HDL-cholestérol.[7] En effet, alors que la simvastatine induit une augmentation significative et constante des niveaux de HDL-cholestérol à dose de 10 à 80 mg/jour, l'atorvastatine semble perdre son influence positive sur les concentrations de HDL-C à dose élevée (40 à 80 mg/jour).[7]

L'objectif des présents travaux de recherche était donc de mettre en lumière les mécanismes physiologiques responsables de l'impact divergent de la simvastatine et de l'atorvastatine sur les concentrations HDL-C. Pour ce faire, nous avons comparé un traitement de 8 semaines sous simvastatine 80 mg/jour à un traitement de 8 semaines sous atorvastatine 40 mg/jour quant à leur impact sur la cinétique de l'apolipoprotéine A-I. Cette

apolipoprotéine est la protéine majeure des HDL et ses paramètres cinétiques sont des déterminants majeurs des concentrations de HDL cholestérol en circulation.

Le présent mémoire est divisé en trois chapitres. Le premier chapitre consiste en une revue de littérature où on retrouve une vue d'ensemble du métabolisme des lipides dans le corps humain, une description de l'athérosclérose et des facteurs reliés à son développement, la liste des propriétés athéroprotectrices des HDL ainsi que les différentes avenues thérapeutiques utilisées en clinique pour prévenir et traiter la maladie cardiovasculaire. Le deuxième chapitre présente un article original issu de mes travaux de recherche à la maîtrise qui sera publié avant la fin de l'année 2004 dans la revue scientifique **Atherosclerosis**. Le troisième chapitre prend la forme d'une discussion autour des résultats obtenus et de leur implication au niveau clinique.

Chapitre II

Connaissances actuelles

2.1 Le métabolisme des lipoprotéines

Le corps humain, pour évoluer dans son environnement et opérer de façon efficace, requiert de l'énergie et des constituants permettant l'édification et le renouvellement constant des milliards de cellules qui le composent. Les lipides, tels que les triglycérides, le cholestérol et les phospholipides forment une famille de molécules pouvant servir tout autant de source d'énergie que de matériaux essentiels à la construction cellulaire. Les triglycérides permettent le stockage efficace de l'énergie, le cholestérol est un constituant des membranes cellulaires en plus de servir de précurseur à une foule d'hormones, et les phospholipides, étant des molécules bipolaires, sont la composante majeure des membranes cellulaires.[8] Les molécules lipidiques sont véhiculées à l'intérieur du compartiment sanguin pour être disponibles à toutes les cellules de l'organisme, mais leur caractère hydrophobe ne leur permet pas d'évoluer simplement dans le milieu aqueux qu'est le sang, elles ne sont pas solubles dans l'eau. Les lipides en circulation sont donc associés avec certaines protéines permettant leur solubilisation et leur diffusion aux cellules.[8] Parmi ces protéines, nous nous intéresserons aux apolipoprotéines (apo). Les apolipoprotéines, en s'associant avec les différents types de lipides, forment des complexes hydrosolubles appelés lipoprotéines. Les lipides hydrophobes (triglycérides, cholestérol estérifié) résident au centre de la lipoprotéine, loin du milieu aqueux, alors que les lipides polaires (phospholipides et cholestérol non estérifié) composent la surface des lipoprotéines en contact avec l'environnement sanguin. Les lipoprotéines sont classées selon leur densité, qui, elle, est définie par leur composition qualitative et quantitative en protéines et en lipides. Enfin, les recherches scientifiques dans le domaine de la lipidologie ont permis d'établir certaines des fonctions des différentes classes de lipoprotéines dans le métabolisme lipidique. La vue d'ensemble du métabolisme des lipoprotéines présentée ci-dessous permet de définir et de situer chacune de classes de lipoprotéines impliquées dans le métabolisme des lipides.[9, 10]

2.1.1 Les chylomicrons :

Les chylomicrons sont synthétisés au niveau de l'intestin suite à l'ingestion de matières grasses. Ils véhiculent les lipides d'origine exogène. Ils contiennent plusieurs apolipoprotéines telles A-I, A-II, C-I, C-II, C-III et E, mais c'est l'apoB-48 qui leur sert de squelette. Les chylomicrons font partie des lipoprotéines dites « riches en triglycérides » en raison de leur fort contenu en triglycérides et de leur contenu relativement faible en cholestérol. Suite à leur assemblage, les chylomicrons entrent dans la circulation sanguine. Les triglycérides des chylomicrons intravasculaires sont ensuite hydrolysés par une lipase liée à l'endothélium vasculaire, la lipase lipoprotéique (LPL).[8] L'hydrolyse des triglycérides des chylomicrons libère, entre autres, des acides gras libres, qui, repris au niveau du tissu adipeux, serviront à l'édification des réserves d'énergie suite à leur ré-estérification en triglycérides. Récoltés au niveau du muscle, les acides gras libres peuvent également servir de source d'énergie. Les constituants de surface des chylomicrons libérés suite à l'action de la LPL sont recyclés au niveau des HDL (apoA-I, phospholipides, cholestérol) alors que les chylomicrons résiduels (pauvres en triglycérides et proportionnellement enrichis en cholestérol) sont éliminés au niveau hépatique via un récepteur, analogue au récepteur des LDL, reconnaissant l'apoE.[8]

2.1.2 Les VLDL et leurs résidus :

Les VLDL s'apparentent aux chylomicrons. Elles contiennent une forte proportion de triglycérides et peuvent véhiculer des apolipoprotéines de la classe C et E. Elles diffèrent cependant des chylomicrons par le fait qu'elles sont synthétisées au niveau des hépatocytes et que leur assemblage trouve assises autour de l'apolipoprotéine B-100.[8] Les VLDL libérées en circulation sont elles aussi soumises à l'activité lipolytique des lipases, et plus particulièrement à l'action de la LPL. Les acides gras libérés par l'hydrolyse des VLDL servent les mêmes besoins que ceux originant des chylomicrons. L'hydrolyse continue des triglycérides des VLDL en circulation réduit leur contenu lipidique ce qui a pour effet de réduire le diamètre et d'augmenter la densité des VLDL. Lorsque les VLDL atteignent une

certaine taille (environ 300 Å), elles sont alors considérées comme des lipoprotéines de densité intermédiaire ou IDL (intermediate density lipoproteins), aussi connues sous l'appellation de résidus de VLDL.[9] L'hydrolyse subséquente des IDL, par l'action conjointe de la lipase lipoprotéique et de la lipase hépatique, mène à la formation de lipoprotéines de taille encore plus réduite appelées lipoprotéines de faible densité ou LDL (diamètre inférieur à 270 Å).

Les LDL se caractérisent par un contenu relativement élevé en cholestérol comparativement à leur teneur en triglycérides.[9] De ce fait, la classe lipoprotéique des LDL est celle qui véhicule la majeure partie du cholestérol se trouvant dans la circulation sanguine. Il est depuis longtemps reconnu que le cholestérol des LDL joue un rôle important dans le développement de l'athérosclérose et de la maladie cardiovasculaire, d'où son surnom de « mauvais cholestérol » dans la littérature populaire.[11] Nous verrons plus tard, dans le chapitre décrivant l'étiologie de l'athérosclérose, comment les LDL sont impliquées dans le développement de la plaque athéromateuse. Enfin, deux options se présentent aux lipoprotéines issues de l'hydrolyse séquentielle des VLDL au terme de leur périple intravasculaire. D'abord, comme il a été mentionné précédemment, le cholestérol sert de précurseur à la synthèse de nombreuses hormones. De ce fait, une partie des LDL est captée par les cellules androgéniques.[12] Une autre portion des LDL est prise en charge par les cellules de divers tissus incapables de synthétiser leur propre cholestérol. Enfin, la majorité des LDL en circulation terminent leur périple intravasculaire au foie, où elles sont prises en charge par les hépatocytes. Ceci s'effectue via divers récepteurs tels que le récepteur des LDL (LDLR) qui capte la majeure partie des LDL en interagissant avec l'apoB100.[8] Suite à leur reconnaissance, les LDL sont internalisées puis démantelées à l'intérieur des lysosomes. Une partie du cholestérol récupéré servira de précurseur à l'élaboration des sels biliaires sécrétés dans l'intestin par le foie alors qu'une autre partie de celui-ci sera estérifié au niveau du cytosol par l'enzyme acyl-cholestérol-acyl-transférase pour ensuite être stocké dans la cellule.[9] Notons finalement qu'une proportion des VLDL sécrétées par le foie sont captées par celui-ci via soit par le récepteur des LDL, soit par le récepteur LRP (LDL receptor related peptide)[13] ou même encore par le récepteur LSP (lipolysis stimulated receptor)[14] avant

même que leur contenu en triglycérides ait été suffisamment hydrolysé pour atteindre la taille et la densité des LDL.

2.1.3 Les HDL :

Le présent mémoire portera principalement sur lipoprotéines de haute densité (High Density Lipoproteins, HDL). Les HDL sont elles aussi des particules composées de lipides et de protéines servant, au même titre que les autres sous-classes de lipoprotéines, au transport des lipides dans l'organisme. Cette population de lipoprotéines, composée de particules de faible diamètre (diamètre entre 50 et 150 Å) et de densité élevée (>1.063 g/ml), est très hétérogène en raison de son contenu variable en lipides, enzymes et apolipoprotéines. La densité élevée de ces lipoprotéines est attribuable à leur contenu relativement élevé en protéines, dont les plus importantes sont l'apoA-I (70% du contenu protéique) et, dans une moindre proportion, l'apoA-II (20%), toutes deux synthétisées au niveau du foie et de l'intestin. Les HDL peuvent également contenir l'apoE et l'apoCIII dans une faible proportion. La classe des HDL est composée des α -HDL et des pré- β -HDL que l'on distingue selon leur distance de migration électrophorétique sur gel d'agarose. La majorité du cholestérol véhiculé par les HDL (HDL-C) est présent dans la fraction α -HDL, composée de HDL relativement gros, de forme globulaire et riches en lipides. À son tour cette sous-fraction de HDL peut être séparée en HDL₂ et en HDL₃, qu'on distingue également selon leur taille et densité, les HDL₃ étant plus petits et plus denses que les HDL₂. Les pré- β -HDL, quant à eux, peuvent être considérées comme des HDL immatures. Elles sont de forme discoïde, relativement plus petites que les α -HDL et pratiquement dépourvues de lipides, étant seulement composées d'une ou deux molécules d'apoA-I et de quelques molécules de phospholipides. Cinq à 15% de l'apoA-I totale est contenue au niveau des pré- β -HDL, qu'on retrouve principalement dans l'espace extra vasculaire.[4]

Le métabolisme des HDL est intimement lié au métabolisme des lipides contenus dans les autres classes de lipoprotéines de densité moindre et riches en triglycérides. En effet, de nombreux échanges de constituants, autant protéiques que lipidiques, ont lieu entre les lipoprotéines de haute et de très faible densité. Parmi ces échanges, le transfert d'esters de cholestérol des HDL vers les VLDL et les IDL en échange de triglycérides via l'action de la *cholesteryl ester transfer protein* (CETP) peut grandement influencer la composition lipidique des HDL en circulation. Les conséquences de ces échanges seront décrites plus en détails un

peu plus loin. Les rôles métaboliques et les caractéristiques spécifiques à chacune des sous-classes de HDL seront présentés en détail dans la section rapportant les propriétés athéroprotectrices des HDL.

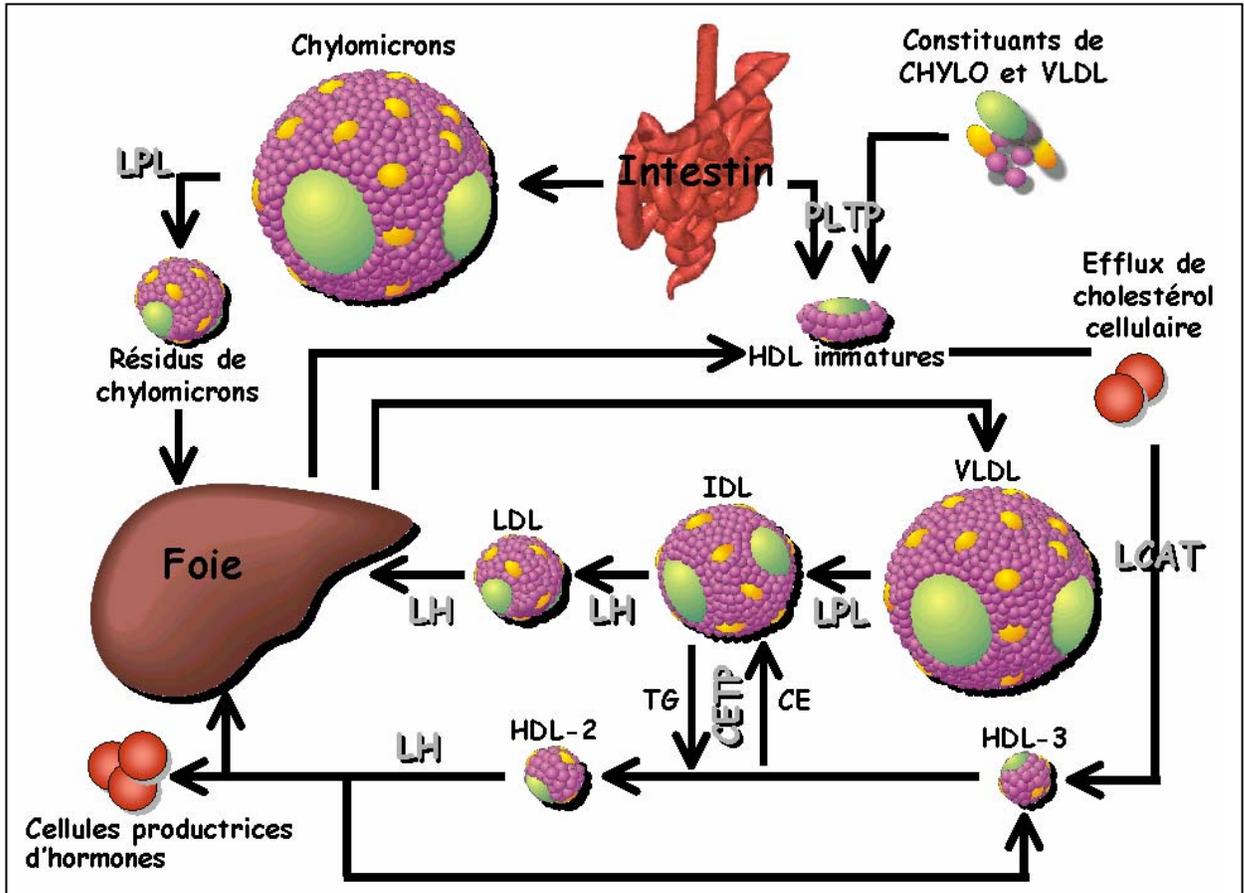


Figure 1 : Métabolisme des lipoprotéines

2.2 Maladie cardiovasculaire et athérosclérose

La MCV est la première cause de mortalité humaine à l'intérieur des populations industrialisées.[1, 15] La recherche intense en prévention de la MCV découle des coûts économiques et sociaux importants mobilisés pour le traitement, souvent à long terme, du nombre croissant de cas de MCV recensés chaque année. La présente section a donc pour but de définir la MCV en plus de dresser une liste de ses principaux facteurs de risque utilisés actuellement en clinique.

2.2.1 L'athérosclérose :

Une des causes les plus fréquentes des MCV est l'athérosclérose, qui se définit comme l'occlusion progressive de la lumière vasculaire due à la formation d'une plaque dite athéromateuse.[9] Cette dernière se produit lorsque des lipoprotéines enrichies en cholestérol, principalement les LDL et, dans une moindre partie, les résidus chylomicrons et de VLDL, réussissent à pénétrer l'endothélium vasculaire artériel, où la pression sanguine est la plus élevée.[16] Ces lipoprotéines, durant leur séquestration dans l'intima, sont soumises, à long terme, à certains stress menant à la dénaturation de leurs composantes, telles l'oxydation, la glycosylation et l'hydrolyse de molécules de surface. Certains des produits issus de la dénaturation des lipoprotéines sont toxiques pour les cellules environnantes, ce qui déclenche la migration des monocytes du compartiment intravasculaire vers le site d'infiltration des lipoprotéines modifiées. Les monocytes mûrissent en macrophages et phagocytent de façon non spécifique les lipoprotéines dénaturées via des récepteurs « scavenger ». Les macrophages gavés de ces lipoprotéines évoluent en cellules spumeuses, contribuant à l'élaboration de la strie lipidique, assise de la plaque athéromateuse. L'évolution de la strie peut se poursuivre suite à l'infiltration constante de lipoprotéines et de monocytes et à l'aggravation des dommages causés à l'endothélium. Cette insulte à l'endothélium mène à l'activation, à la prolifération et à la migration des cellules musculaires lisses ainsi qu'à l'accumulation de matériel collagèneux extracellulaire en surface de la strie pour consolider cette dernière.[9] Comme il a été mentionné, plus la plaque se développe, plus la lumière vasculaire rétrécit et plus la pression sanguine s'élève sur la plaque. À ce stade, la solidité de la plaque détermine sa probabilité de rupture. Ainsi, une plaque « instable » riche en esters de cholestérol aura une plus grande propension à être délogée par le flot sanguin qu'une plaque solidement implantée, organisée et riche en cholestérol cristallisé.[9] De plus, la présence de certaines enzymes, comme les métalloprotéinases, peut fragiliser la structure de la plaque en hydrolysant le matériel collagèneux à sa surface et ainsi augmenter sa probabilité de céder sous la force de la pression sanguine.[9] La rupture éventuelle de la plaque relâche en circulation une grande quantité de substances coagulantes, pouvant induire la formation d'un thrombus. Ce thrombus, dépendamment de son importance, peut entraîner un syndrome clinique ischémique aigu tel que l'infarctus du myocarde et la mort.[9]

2.2.2 Les facteurs de risques :

Certains facteurs peuvent faciliter l'apparition de la strie et son évolution en plaque athéromateuse. De ces facteurs, certains sont modifiables, ce sont les paramètres sur lesquels on peut intervenir dans le but de moduler le risque de MCV, et d'autres sont non modifiables. Les facteurs de risque non modifiables sont le sexe, l'âge et les facteurs héréditaires. Dans la liste des facteurs modifiables, on retrouve, entre autres, la sédentarité, le tabagisme, l'obésité, le diabète, l'hypertension artérielle et l'hypercholestérolémie.[9] Le présent mémoire s'étendra principalement sur un facteur appartenant à la liste des facteurs modifiables, l'hypoalphalipoprotéinémie, qui se définit par des concentrations faibles de HDL-C.

2.2.3 Hypoalphalipoprotéinémie :

Plusieurs études épidémiologiques ont démontré que des niveaux faibles de HDL-C représentent un facteur de risque indépendant de développer la maladie coronarienne. Il a été démontré que chaque réduction de 0.026 mmol/L (réduction de l'ordre de 1%) du HDL-C correspondait à une augmentation du risque de développer la MCV de 2% chez l'homme et de 3% chez la femme. Les études démontrent que cette relation significative persiste au sein des populations étudiées jusqu'à l'âge de 80 ans et qu'elle demeure tout aussi significative chez des sujets ayant des concentrations normales de cholestérol total.[3]

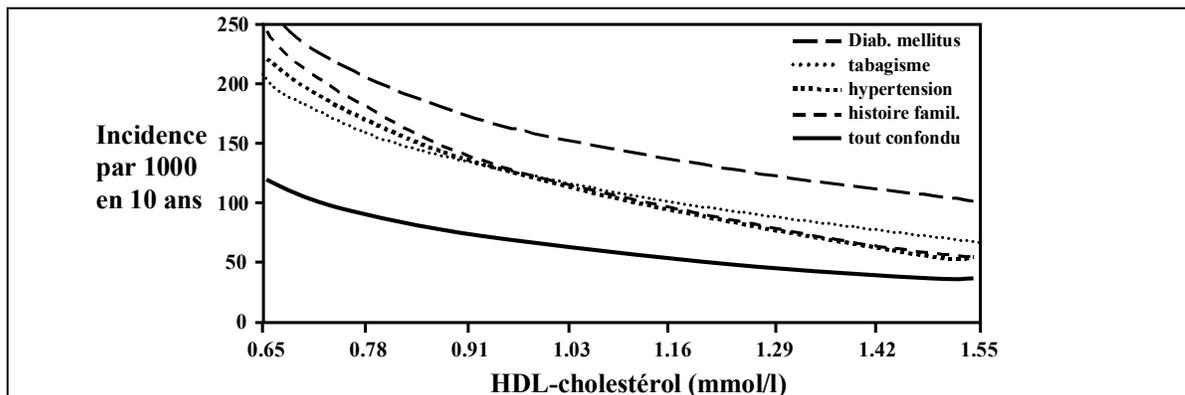


Figure 2 : concentrations plasmatiques de HDL-C et incidence de la MCV. (Adaptée de A.v Eckardstein, G. Assman, *Curr Opin Lipid*, 2000, 11:627-637)

Les raisons physiologiques pour lesquelles les niveaux de HDL cholestérol sont inversement associés à la prévalence de la MCV sont longtemps demeurées obscures. Plus récemment, des expériences effectuées *in vitro* et à l'aide de modèles animaux modifiés génétiquement ont entre autres permis de cibler des mécanismes pouvant potentiellement expliquer l'effet athéroprotecteur des HDL. La section suivante dresse la liste des différents mécanismes répertoriés jusqu'à maintenant.

2.3 Propriétés athéroprotectrices des HDL

2.3.1 Transport inverse du cholestérol (TIC)

Toutes les cellules du corps humain synthétisent du cholestérol en plus d'en importer des lipoprotéines en circulation et des membranes des cellules sénescentes. La synthèse de cholestérol intracellulaire parallèle à l'importation du cholestérol en provenance des autres sources produit un débalancement entre l'utilisation et la disponibilité de celui-ci, l'offre étant plus grande que la demande.[4] Afin d'éviter son accumulation dans l'organisme, les 9 mg de cholestérol synthétisés par jour par kilogramme de masse corporelle doivent être pris en charge pour être éventuellement éliminés.[4] Ceci est rendu possible par la présence d'une voie métabolique appelée « transport inverse du cholestérol (TIC) », qui réfère au mouvement du cholestérol des tissus périphérique vers le foie. Le cholestérol excédentaire ainsi recueilli est ensuite rejeté dans les matières fécales comme constituant des sels biliaires. Chaque sous-classe de HDL, de concert avec plusieurs enzymes, joue un rôle de premier plan dans cette voie métabolique que les connaissances actuelles permettent de décrire comme suit :[17]

2.3.1.1 Étape I : Synthèse de l'apo A-1 et formation des pré- β -HDL

Les molécules d'apoA-I et les pré- β -HDL, qui représentent les HDL immatures à cause de leur très faible contenu en lipides, sont synthétisés *de novo* au foie et au niveau de la muqueuse intestinale. Elles peuvent aussi être générées à partir de constituants provenant de l'hydrolyse des lipoprotéines riches en triglycérides, ou encore provenir de l'hydrolyse des particules HDL elles-mêmes.[18] L'enzyme PLTP (Phospholipid Transfer Protein) est

activement impliquée dans la formation des pré- β -HDL en catalysant l'incorporation de molécules de phospholipides, tels que la sphingomyéline et la phosphatidylcholine, à la surface de l'apoA-I délipidée. Il est à noter que l'événement précoce qu'est l'incorporation des phospholipides sur les molécules d'apoA-I est d'une importance primordiale dans la maturation ultérieure du HDL. De plus, on le verra plus tard, la sphingomyéline et la phosphatidylcholine pourraient avoir des propriétés athéroprotectrices intrinsèques. Suite à leur production, l'apoA-I et les pré- β -HDL initient le transport inverse du cholestérol en interagissant avec les membranes des cellules induisant un efflux de phospholipide et de cholestérol. L'interaction des molécules d'apoA-I et des pré- β -HDL avec les membranes cellulaires peut se faire de façon spécifique ou non spécifique. Le cholestérol libre en circulation peut également s'associer à l'apoA-I. Le cycle du TIC est donc amorcé par la collecte du cholestérol excédentaire par les molécules d'apoA-I et les pré- β -HDL.

2.3.1.2 Efflux de cholestérol

L'efflux de cholestérol est un élément clé du TIC, étant l'étape initiatrice de celui-ci. Deux formes d'efflux de cholestérol ont été répertoriées.[19] La première est la diffusion physique simple et non spécifique du cholestérol des membranes vers les molécules d'apo A-I pauvres en lipides. Ce processus est bidirectionnel, ayant lieu suivant le gradient de cholestérol. Ce type d'efflux n'a que peu d'impact sur la balance du cholestérol intracellulaire et ne participe que discrètement au TIC. Ainsi, même si certaines études ont observé que les HDL en interagissant avec un récepteur du nom de récepteur « scavenger » de type B1 (SR-BI), peuvent induire un certain efflux de cholestérol en présence d'un gradient de cholestérol favorable, ce type d'efflux ne joue qu'un rôle mineur et son importance est comparable à l'efflux de cholestérol non spécifique induit par l'albumine ou d'autres lipoprotéines.[20]

Un autre efflux de cholestérol, rapide, unidirectionnel et spécifique cette fois, est observé en présence d'apo A-I, A-II, A-IV, C et E.[18] Il a aussi été observé qu'un échange de phospholipides avait lieu simultanément et que la présence de phospholipides, en particulier la lysophosphatidyl choline, semble requise pour que la réaction d'échange ait lieu.[21] Autre différence notable entre les deux types d'efflux : l'efflux non spécifique n'implique que le cholestérol au niveau des membranes cellulaires alors que l'efflux

spécifique met en jeu le cholestérol estérifié présent sous forme de vésicules à l'intérieur des cellules.[22] L'efflux spécifique a pour effet de lipider les apolipoprotéines des classes A-I, A-II, A-IV, C et E pour former des particules semblables à des HDL migrant en position pré- β sur gel d'agarose.[23] Ce type d'efflux nécessite vraisemblablement une interaction spécifique avec des protéines de la membrane cellulaire, car il est aboli suite à la modification covalente des apolipoprotéines ou suite à un traitement protéolytique des membranes cellulaires.[4] La nature des interactions impliquées lors de l'efflux de cholestérol spécifique sont encore mal connues, mais il est présentement accepté que l'interaction des apolipoprotéines avec les membranes cellulaires amorcerait une signalisation intracellulaire. Cette signalisation induirait la translocation du cholestérol à partir d'organelles intracellulaires telles que le réticulum endoplasmique, le réseau trans du Golgi et les endosomes, vers la membrane plasmique. Diverses évidences laissent croire que le transport du cholestérol à l'intérieur de la cellule se ferait sous forme de vésicules, car les conditions reconnues comme inhibant le transport vésiculaire (absence d'ATP, basses températures, présence de composant interférant avec la fonction normale du Golgi) inhibent l'efflux spécifique de cholestérol.[4]

Les récepteurs membranaires impliqués dans le transport inverse du cholestérol font eux aussi l'objet de recherches intensives. La maladie de Tangier est une maladie génétique autosomale récessive très rare où les individus homozygotes pour l'allèle défectif montrent un déficit presque complet en HDL et une accumulation d'esters de cholestérol à l'intérieur des cellules de divers tissus. L'étude de cette maladie a mené à la découverte des présumés principaux récepteurs impliqués dans le TIC.[24] Il a été démontré que l'apoA-I synthétisée chez les homozygotes de Tangier présente une structure et un taux de synthèse normale comparativement à des individus sains. Cependant elle n'engendre aucun efflux de cholestérol cellulaire spécifique.[25] Il a été proposé qu'un transporteur membranaire de type ABC (ATP-binding cassette), nommé ABCA1, serait défectif chez les individus affectés par ce type de désordre. Depuis, des études ont démontré l'importance d'ABCA1 dans l'efflux de cholestérol impliquant l'apoA-I et les particules HDL.[26] Ainsi, il a été observé que l'inactivation du gène d'ABCA1 chez des animaux hyperlipidémiques provoque une accumulation des lipides au niveau de divers tissu et possiblement au niveau des macrophages, ce qui pourrait favoriser la formation de cellules spumeuses.[27] Des études ont toutefois

démontré que l'inactivation d'ABCA1 ne mène pas systématiquement à un développement précoce de l'athérosclérose, ce qui témoignerait de l'existence possible de mécanismes compensatoires. Ces mécanismes, une fois suractivés, pourraient remplacer partiellement l'efflux de cholestérol compromis chez les individus atteints de la maladie de Tangier.

D'autres études ont aussi été réalisées sur la cavéoline, une protéine de membrane cellulaire pouvant aussi se retrouver dans le cytoplasme.[24] Lorsque la cavéoline se trouve au niveau de la membrane, elle ferait partie d'une structure semblable à une organelle riche en cholestérol nommée cavéole, qui serait impliquée dans la transcytose des macromolécules.[24] Des études ont démontré que la cavéoline est impliquée dans le transport du cholestérol nouvellement synthétisé au niveau du réticulum endoplasmique et du Golgi vers la membrane cellulaire.[28] En effet, il a été observé que l'efflux de cholestérol de fibroblastes humain est proportionnel à la quantité de cavéoles présentes et à l'expression de l'ARNm de la cavéoline.[29] Des études ont aussi rapporté que SR-B1 se retrouverait au sein des cavéoles sur les membranes plasmiques.[30] Le rôle joué par la cavéoline dans l'efflux de cholestérol et au niveau de l'interaction possible entre les cavéole et SR-B1 reste cependant relativement mal défini.

2.3.1.3 Étape II : Maturation des HDL

Le cholestérol intracellulaire en excès associé aux pré- β -HDL, via l'efflux de cholestérol, est ensuite estérifié par l'action de l'enzyme LCAT (Lecithin-Cholesterol AcylTransferase).[31] Le cholestérol, auparavant hydrophile et en périphérie du pré- β -HDL, est maintenant estérifié et hydrophobe. Cette perte du caractère hydrophile du cholestérol induit une migration des molécules de cholestérol vers le centre hydrophobe de la particule. La place laissée vacante en périphérie de la particule HDL permet l'acceptation d'autres molécules de cholestérol non estérifié libre ou en provenance des cellules endothéliales et des macrophages.[4] L'enrichissement en cholestérol et en phospholipides des pré- β -HDL donne naissance à des HDL matures, de forme relativement sphérique. Cette catégorie de HDL enrichis en cholestérol correspond à la sous-classe HDL₂. [4]

2.3.1.4 Étape III : échange de lipides entre HDL et autres lipoprotéines

Les HDL₂ représentent la sous-classe de particules HDL contenant la majorité du HDL-C. Sous l'action de l'enzyme CETP, les HDL₂ lèguent des molécules de cholestérol en échange de triglycérides aux lipoprotéines riches en triglycérides (IDL et VLDL), qui elles seront ultérieurement prises en charge par les hépatocytes. Résultats de cet échange : une fraction du cholestérol en excès collecté par les HDL retourne au foie pour être excrété, après modifications enzymatiques, sous forme de sels biliaires dans l'intestin. Parallèlement, les particules HDL subissent un enrichissement progressif en triglycérides, devenant ainsi un substrat plus spécifique de la lipase hépatique (LH) et de façon moindre de la lipase endothéliale (LE).

2.3.3.5 Étape IV : action de la LH et de la LE et clairance des HDL

Les triglycérides transférés aux HDL sous l'action de la CETP sont maintenant hydrolysés par la LH. L'action concertée de la LH et d'une autre lipase, la LE, qui elle hydrolyse préférentiellement les phospholipides des HDL, mène à une réduction de la taille et à une augmentation conséquente de la densité des HDL. Ces particules plus petites et plus denses forment la classe des HDL₃, l'autre sous-classe majeure des HDL. Ces HDL de petites tailles ont une affinité élevée pour SR-B1, le récepteur majeur des HDL au niveau des hépatocytes et des cellules productrices d'hormones stéroïdiennes. Les HDL₃ interagissent donc avec SR-B1, ce qui induit une prise en charge sélective des esters de cholestérol par les hépatocytes et les cellules productrices d'hormones sans qu'il y ait internalisation des particules HDL. Les molécules d'apoA-I, se retrouvant à nouveau sous forme de molécules relativement délipidées, viennent régénérer le pool d'apoA-I/pré-β-HDL. Elles peuvent ainsi à nouveau s'infiltrer dans l'espace extra vasculaire pour induire l'efflux de cholestérol et réinitier le cycle du transport inverse du cholestérol. Finalement, comme l'apoA-I ne demeure indéfiniment dans l'organisme, elle est catabolisée au niveau du rein, préférentiellement lorsqu'elle est sous sa forme relativement délipidée,[32] où elle est filtrée puis retirée de la circulation sanguine. Notons toutefois qu'une certaine quantité d'apoA-I est récupérée par le rein au niveau de la lumière du tubulus proximal par la cubiline.[4]

L'importance du bon fonctionnement du TIC dans le retardement du développement de l'athérosclérose a été démontrée par le biais d'études réalisées à l'aide d'animaux transgéniques. Il a été observé que l'athérosclérose se développe de façon prématurée lorsqu'une ou plusieurs étapes du cycle du TIC sont compromises. À l'inverse, il a également été démontré que la surexpression de protéines impliquées dans le TIC conférait une protection contre l'athérosclérose.[33] Ces récentes découvertes permettent de critiquer la valeur du HDL-C mesurée en clinique car elle ne reflète que partiellement l'activité du TIC. En ce sens, il peut s'avérer imprudent d'associer systématiquement des taux élevés de HDL-C à un risque réduit de développer la MCV, car un HDL-C élevé peut témoigner d'un TIC relativement compromis, dans lequel les HDL auraient un pouvoir athéroprotecteur diminué.

2.3.2 HDL et préservation de la fonction endothéliale

L'endothélium vasculaire est une structure simple, mais hautement fonctionnelle, constituée d'une monocouche de cellules qui se retrouve à l'interface de la circulation sanguine et de la paroi vasculaire. L'endothélium est impliqué dans plusieurs processus biologiques régulés tels que l'hémostase, la fibrinolyse, l'inflammation, la pression sanguine, l'angiogénèse, l'adhésion des cellules de l'inflammation, l'apoptose et la prolifération cellulaire ainsi que le métabolisme des lipoprotéines. La détérioration de l'endothélium joue un rôle prédominant à chacune des étapes du développement de l'athérosclérose.[34] Initialement, la dysfonction endothéliale survient lorsqu'une ou plusieurs fonctions de l'endothélium sont altérées ou que celui-ci n'est plus en mesure d'accomplir la totalité de ses rôles physiologiques. Elle est principalement caractérisée par une diminution de la biodisponibilité de l'oxyde nitrique (NO) et une affinité accrue pour les leucocytes.[35] À un stade plus avancé de l'athérosclérose, l'apoptose des cellules de l'endothélium mène à une dénudation de la paroi vasculaire ce qui, en plus de former des sites privilégiés pour la formation de thrombose, libère nombre de radicaux et de cytokines venant aggraver le processus inflammatoire en cours au niveau de la paroi artérielle. De nombreuses études ont démontré l'effet bénéfique des HDL sur l'endothélium vasculaire.[34] Ainsi, une relation directe entre la vasodilatation NO-dépendante, l'activation de l'oxyde nitrique synthase (eNOS), la sécrétion de NO et les niveaux de HDL plasmatiques a récemment été démontrée.

Il a aussi été démontré que la fonction endothéliale est partiellement restaurée chez des individus hypercholestérolémiques suite à l'injection de particules HDL reconstituées.[36, 37] Des expériences ont également montré que l'augmentation des concentrations sanguines de HDL mène à une réduction de l'expression des molécules responsables du recrutement des leucocytes au niveau de l'endothélium telle que la E-sélectine.[38] Encore une fois, des expériences récentes ont confirmé que les HDL peuvent atténuer l'expression des molécules d'adhésion VCAM-1 (Vascular Cell Adhesion Molecule-1) et ICAM-1 (Inter-Cellular Adhesion Molecule-1) en culture cellulaire, de même que l'expression de molécules, telles que l'IL-8, responsables de la migration extra vasculaire des leucocytes.[34] D'autres recherches menées sur l'apoptose des cellules de l'endothélium ont permis de découvrir que les HDL peuvent inhiber l'activation des caspases 3 et 9 de même que le relâchement des cytochromes C des mitochondries dans le cytoplasme, qui sont des voies typiques activées lors de l'apoptose.[39] Nofer et al. ont quant à eux observé que la protéine Akt, un médiateur antiapoptotique, est activée par la présence des HDL.[39] La réduction de l'apoptose par la présence des HDL permettrait donc à l'endothélium de préserver son intégrité et protégerait celui-ci contre le développement de l'athérosclérose.

Les HDL auraient également un potentiel considérable à favoriser la réparation des dommages à l'endothélium causés par le développement de la plaque athéromateuse. À cet effet, les HDL sont depuis longtemps considérés comme ayant un important potentiel mitogène au niveau des cellules de l'endothélium.[34] Ainsi, Tamagaki et al. ont démontré que la présence de HDL et de calcium peut induire la prolifération des cellules endothéliales.[40] Il a été proposé que les HDL peuvent induire la migration des cellules endothéliales, mais les mécanismes responsables de cet effet sont encore inconnus.[34]

Les mécanismes fondamentaux par lesquels les HDL induisent leurs différents effets protecteurs au niveau de l'endothélium sont passablement nébuleux. Une explication suggérée met en cause la composition en phospholipides des HDL. En effet, des groupes de recherche ont récemment démontré que les HDL comportent des lysosphingolipides actifs tels que la sphingosine-1-phosphate, la sphingosylphosphorylcholine (SPC) et le lysosulfatide (LSF).[41] Il a été démontré que la signalisation intracellulaire induite par ces lysosphingolipides et les

HDL montre plusieurs similarités en plus d'interagir avec la même protéine de surface cellulaire (pertussis toxin-sensitive trimer G protein). Encore, il a été observé que le LSF et le SPC ont des capacités identiques aux HDL quant à l'inhibition de l'apoptose induite par l'absence de facteur de croissance. On propose donc maintenant que les HDL puissent être définis comme des porteurs de lysosphingolipides fonctionnels pouvant interagir avec la grande cible physiologique qu'est l'endothélium. Ainsi, l'interaction des HDL avec SR-B1 pourrait avoir comme effet de rapprocher les lysosphingolipides des HDL de leur récepteur, au niveau de la membrane cellulaire, induisant, par signalisation intracellulaire, la synthèse de NO et l'inhibition de la voie des caspases inhibant du même coup l'apoptose.

2.3.3 Propriétés antioxydantes des HDL

Comme on l'a mentionné précédemment, l'oxydation des LDL est un événement majeur dans l'initiation du développement de la plaque athéromateuse. Les LDL s'oxydent principalement par interaction de leurs constituants lipidiques (phospholipides et cholestérol estérifié) avec les radicaux d'oxygènes réactifs (O^{2-} et OH^{\cdot}) présents en petite quantité dans la circulation sanguine. Une fois attaqués par ces radicaux, les hydroperoxydes lipidiques formés (acide hydroperoxyoctadécadiénoïque et hydroperoxyéicosatétraénoïque) catalysent la formation non enzymatique d'autres phospholipides oxydés dont le 1-palmytoyl-2-glutaroyl-sn-glycéro-3-phosphorycholine aux pouvoirs pro-athérogéniques supérieurs à ceux ayant induit leur formation.[42] À noter que les hydroperoxydes lipidiques précurseurs peuvent également être générés par l'action de l'enzyme 12-lipooxygénase.[43] Une fois le LDL suffisamment oxydé, celui-ci devient toxique pour les cellules endothéliales en plus d'être un chémoattractant pour les monocytes et d'induire la sécrétion de différentes cytokines.[44] Il a été démontré que certaines composantes des HDL de même que des enzymes qui leur sont reliées ont un fort pouvoir antioxydant pouvant prévenir chacune des étapes de la formation des LDL oxydées. Par exemple, les molécules lipophiles anti-oxydantes du HDL telles que le α -tocophérol et les deux résidus méthionine sulfoxides de l'apoA-I peuvent séquestrer les radicaux d'oxygène réactifs avant que ceux-ci n'interagissent avec les phospholipides des particules LDL et prévenir ainsi leur oxydation.[44] L'apoA-I et l'apoJ (clusterine) semblent

aussi être en mesure de prendre en charge les phospholipides « catalyseurs » oxydés des LDL et de les dégrader par un processus enzymatique impliquant potentiellement l'acétylhydrolase du facteur activateur des plaquettes, la peroxidase du glutathion, mais surtout par la paraoxanase.[4] Cette dernière serait l'enzyme responsable de la plus grande partie du pouvoir antioxydant des HDL.[45] Des études réalisées sur des modèles de souris susceptibles de développer l'athérosclérose ont à cet effet démontré que l'activité de la paraoxanase des HDL diminue en phase aiguë de l'athérosclérose. Il a également été observé que les HDL résultants montrent des propriétés pro-inflammatoires et une activité anti-oxydante diminuée.[46] Les HDL pourraient donc être perçus comme des particules caméléons dotées d'un potentiel athéro-protecteur en phase basale, mais pouvant devenir potentiellement pro-athérogènes en phase aiguë de l'athérosclérose.[47]

La liste des mécanismes et propriétés athéroprotectrices associés aux HDL est en constante évolution, certains de ces mécanismes ayant été démontrés *in vitro*, d'autres *in vivo*. Il sera donc important dans l'avenir de vérifier, dans un contexte physiologique humain, les mécanismes découverts *in vitro* ou *in vivo* à l'aide de modèles animaux génétiquement modifiés. On peut cependant affirmer que la présente liste des mécanismes athéroprotecteurs des HDL rassemble plusieurs arguments appuyant la forte relation inverse entre le développement de la MCV et les concentrations plasmatiques de HDL.

2.4 Traitements: MCV et hypoalipoprotéïnémie

L'athérosclérose et la MCV, comme il l'a été mentionné précédemment, sont attribuables à un ensemble de facteurs de risque. La présente section dresse un sommaire des principales options thérapeutiques proposées et utilisées en clinique à l'heure actuelle dans le traitement des principaux facteurs de risques des MCV. Le survol de ces options thérapeutiques se fera en s'intéressant particulièrement à leur effet sur les concentrations de HDL-C.

2.4.1 Mode de vie

Une des solutions les plus efficaces de freiner le développement des facteurs de risque associés à la MCV est l'adoption d'un mode de vie sain comprenant de l'activité physique et une saine alimentation.[48] En effet, il a été clairement démontré que le tabagisme et l'obésité sont des facteurs pouvant mener à une diminution significative des concentrations de HDL-C et à une augmentation du risque de développer la MCV. À l'inverse, il a été démontré que la pratique d'exercice physique, la perte de poids soutenue et la consommation modérée d'alcool peut mener à une augmentation des concentrations de HDL-C et à une diminution du risque de développer la MCV. Au niveau de l'alimentation, la consommation d'une diète riche en acides gras monoinsaturés ou en glucides a tendance à faire diminuer les concentrations de HDL-C alors que la consommation d'une diète riche en acides gras saturés induit une augmentation des niveaux de HDL-C.[5] La consommation de gras saturé dans le but de faire augmenter les concentrations de HDL-C est cependant déconseillée, car une telle diète est également reconnue pour induire une augmentation des niveaux de cholestérol total et de LDL-C. Notons également que les changements d'habitude de vie, en plus d'être difficiles à initier, sont davantage difficiles à maintenir. Ceci fait en sorte qu'une proportion importante de la recherche scientifique en santé cardiovasculaire est centrée sur l'élaboration de nouveaux traitements pharmacologiques. Parmi les agents pharmaceutiques les plus utilisés pour traiter les dyslipidémies athérogènes, telle l'hypoalphalipoprotéïnémie, on retrouve, entre autres, les fibrates et les statines.[49]

2.4.2 Les fibrates

Les fibrates sont des dérivés de l'acide fibrique. Leur impact sur le métabolisme des lipides implique l'activation de récepteurs nucléaires connus sous l'appellation de peroxisome proliferator activated receptor (PPARs). Ces récepteurs nucléaires jouent un rôle important dans l'homéostasie lipidique étant donné le fait que les acides gras et certains de leurs dérivés représentent leurs ligands et activateurs naturels. L'activation des PPARs, suite à l'interaction avec une molécule d'acides gras ou un dérivé d'acide fibrique, mène à la formation de complexe de transcription induisant l'expression ou l'inhibition d'un nombre important de

gènes. Trois classes de PPARs ont été recensées jusqu'à maintenant, soit les PPAR- α , les PPAR- γ , et les PPAR- β/δ . Brièvement, PPAR- γ est préférentiellement exprimé dans le tissu adipeux brun et blanc ainsi que dans l'intestin, et modulerait la différenciation cellulaire (adipocyte), le stockage des lipides et la réponse à l'insuline. PPAR- β/δ , le moins étudié des PPARs, semble ubiquitaire et serait impliqué dans le métabolisme des lipides au cerveau, dans le métabolisme des HDL, dans la prolifération des cellules épidermales, la lipogenèse et la prolifération pré-adypocitaire. Les fibrates, qui sont avant tout des agents hypotriglycéridémiant, sont des agonistes synthétiques de PPAR- α . Celui-ci est exprimé dans les tissus où le catabolisme des acides gras est d'une grande importance, soit au niveau du cœur, du muscle squelettique, du foie et du rein. Parmi les gènes sous le contrôle de PPAR- α , on retrouve celui de la LPL, de l'apoA-I et des protéines membranaires SR-B1 et ABCA1, tous activés par PPAR- α . Le gène de l'apoC-III, également sous le contrôle de PPAR- α , est quant à lui inhibé par l'activation de PPAR- α . [50] On croit que c'est par la modulation concertée de l'ensemble de ces gènes que le traitement aux fibrates aurait son impact bénéfique sur la lipémie. L'activité augmentée de la LPL et l'inhibition de la production d'apoC-III expliqueraient la diminution de la triglycéridémie suite à un traitement aux fibrates. L'expression accrue des gènes de l'apoA-I, de SR-B1 et d'ABCA1 expliqueraient quant à elle l'impact bénéfique des fibrates sur les concentrations de HDL-C. De façon théorique, la production accrue d'apoA-I augmente la quantité d'accepteurs de cholestérol intracellulaire; l'expression d'ABCA1 permet une plus grande mobilisation du cholestérol intracellulaire vers les accepteurs; et finalement l'expression de SR-B1 permet une plus grande capacité de captation du HDL-C au foie et chez les cellules productrices d'hormones. Ces modulations physiologiques induites par un traitement aux fibrates se sont traduites, lors d'études cliniques, par des diminutions moyennes de près de 25% de la triglycéridémie et des augmentations des niveaux de HDL-C de l'ordre de 10 à 20%. [51] De plus, il a été démontré que les fibrates ont un léger effet bénéfique hypocholestérolémiant. Cette observation peut être discutable, car il a également été avancé que les fibrates pourraient engendrer une légère augmentation des concentrations d'apoB et de la cholestérolémie liée au LDL. En effet, par l'action accrue de la LPL sous traitement aux fibrates, le catabolisme des VLDL en LDL est accéléré, générant plus de LDL. Cependant, l'impact bénéfique des fibrates sur le risque de développer la MCV a été démontré par la Veterans Affairs High-Density Lipoprotein Intervention Trial (VA-HIT) où

l'augmentation significative des niveaux de HDL-C suite à un traitement aux fibrates était associée à une réduction significative des incidents cardiovasculaires et de la mortalité reliée à la MCV de l'ordre de 22% sur 5 ans, et ce même présence d'une légère augmentation non-significative des niveaux de LDL-C.[52]

2.4.3 Les statines

2.4.3.1 Origines, mécanismes d'actions et effet sur la cholestérolémie

Le présent mémoire s'intéressera davantage aux statines, ou inhibiteurs compétitifs de la 3-hydroxy-3-méthyl glutaryl coenzyme A réductase (HMG-CoA réductase), qui constituent la classe d'agents hypolipémiants la plus utilisée présentement en clinique. Les statines de première génération (lovastatine, pravastatine et simvastatine) sont d'origine « naturelle » ou semi-synthétique, étant des substances fongiques modifiées. Les statines les plus récentes de deuxième (fluvastatine, mélange racémique) et troisième génération [cerivastatine (retirée du marché en 2001) atorvastatine, pitavastatine et rosuvastatine, tous des énantiomères purs] sont des produits entièrement synthétisés en laboratoire. Les doses minimales et maximales utilisables en clinique varient pour chacune des statines, allant de 1 et 4 mg par jour respectivement pour la pitavastatine, à 10 et 80 mg par jour respectivement pour la majorité des autres statines. Les statines agissent en bloquant l'action de l'HMG-CoA réductase, enzyme peroxyzomale qui catalyse la réaction initiale - et limitante - de la cascade menant à la synthèse du cholestérol endogène. La biosynthèse intracellulaire du cholestérol étant compromise sous traitement aux statines, les réserves intracellulaires de cholestérol diminuent et les facteurs de transcription reconnaissant les éléments régulateurs des stérols (sterol regulatory element-binding protein, SREBP) sont alors activés. Ceux-ci induisent l'expression d'un certain nombre de protéines impliquées dans la clairance des particules LDL en circulation, tels que le récepteur des LDL au niveau des hépatocytes. L'effet ultime des statines sur la lipémie est donc une diminution des niveaux de cholestérol total et de LDL-C. Les études cliniques réalisées à ce jour concernant les différentes statines disponibles montrent que ces dernières ont un potentiel de réduction des niveaux de LDL-C allant de 20% jusqu'à 65% dépendamment de la statine et de la dose à l'étude. Il est à noter que tous les agents de

cette classe suivent la règle dite du « 5-7 » qui traduit le fait que chaque doublement de la dose n'induit une réduction supplémentaire des concentrations de LDL-C que de 5 à 7%. Ainsi, un patient qui, par exemple, aurait vu sa concentration de LDL-C en circulation chuter de 30% sous simvastatine 40 mg/jour, ne pourra espérer améliorer cette diminution que de 5 à 7% additionnels (réduction finale de 35 à 37% comparativement au niveau de départ) s'il passe à simvastatine 80 mg/jour.[53]

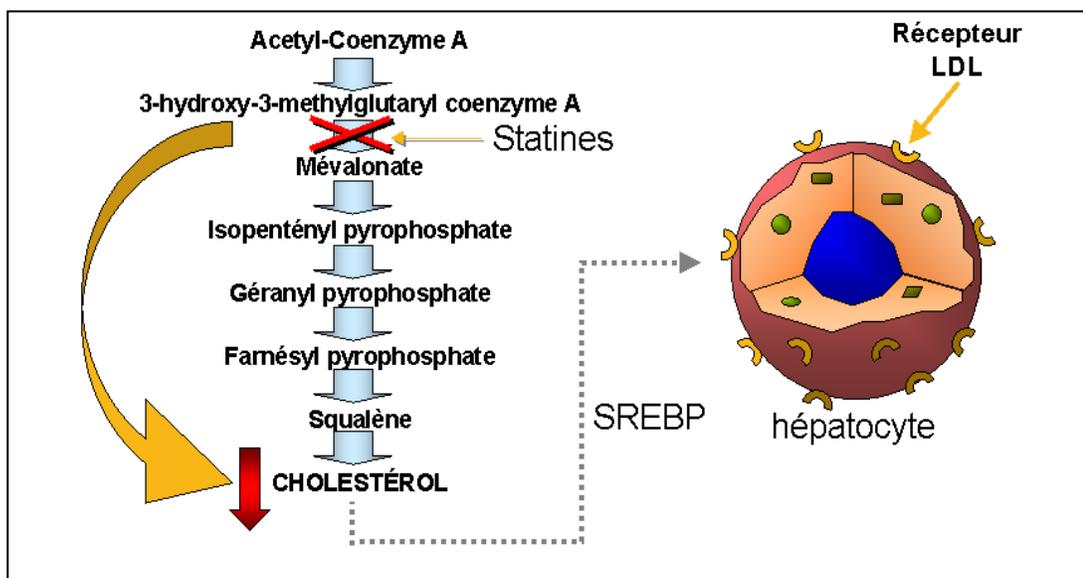


Figure 3 : Mécanisme responsable de l'effet hypocholestérolémiant des statines

2.4.3.2 Statines et triglycéridémie

Des études ont également démontré que les statines induisent une réduction significative des concentrations de triglycérides en circulation. L'amplitude de la réduction dépend d'une part, de l'effet du traitement sur les niveaux d'apoB en circulation, et d'autre part, des concentrations de triglycérides en circulation avant traitement.[54] L'effet bénéfique des statines sur les niveaux de triglycérides serait causée par l'expression accrue du récepteur des LDL, qui favoriserait la clairance des lipoprotéines riches en triglycérides et de leur résidus en circulation. Un autre mécanisme plausible serait que la baisse de cholestérol intracellulaire mènerait à une diminution de la synthèse de VLDL matures pouvant être sécrétées en circulation. En effet, l'apoB-100 est synthétisée en excès au niveau du foie et nécessite des molécules de triglycéride et de cholestérol pour combler les poches hydrophobes de la protéine. En absence de cholestérol, la protéine n'est pas efficacement stabilisée lors de

sa synthèse, elle est donc ubiquitinée puis dégradée par les protéasomes. Il en résulterait donc une réduction de la taille et du nombre de VLDL matures synthétisées et sécrétées.[55]

2.4.3.3 Statines et bénéfices cardiovasculaires

Étant donné l'efficacité des statines à moduler de façon bénéfique le profil lipidique (diminution de la cholestérolémie et de la triglycéridémie), des études ont été menées dans le but de déterminer l'efficacité de ces agents à prévenir la mortalité cardiovasculaire. Six grandes études d'interventions ont été menées dans la dernière décennie, dont 2 en prévention primaire et 3 en prévention secondaire. En prévention primaire, la West of Scotland Coronary Prevention Study (WOSCOPS) a examiné l'efficacité de la pravastatine (40 mg/j) à prévenir la MCV chez un échantillon de 6595 hommes à risque élevé, âgés de 45 à 64 ans et caractérisés par un niveau moyen élevé de LDL-C (4.95 mmol/l). Après 5 ans de traitement, la réduction moyenne significative de 26% des concentrations de LDL-C du groupe traité a été associée à une réduction (non significative) de la mortalité totale de 22% et à une réduction significative ($p < 0.001$) de 31% du nombre d'événements coronariens majeurs comparativement au groupe contrôle placebo.[56] Toujours en prévention primaire, l'étude Air Force/Texas Coronary Atherosclerosis Prevention Study (AFCAPS/TexCAPS) s'adressait à une population ($n = 6605$, 85% d'hommes) à risque modéré de développer la MCV, âgée de 45 à 73 ans, avec des concentrations de LDL-C normales ou légèrement élevées (3.88 mmol/l en moyenne) et avec des niveaux de HDL-C globalement bas (0.95 mmol/l en moyenne). Le traitement hypocholestérolémiant utilisé durant l'étude était la lovastatine à dose de 20 à 40 mg par jour. Cette étude a observé une réduction significative d'environ 35% du nombre d'événements coronariens majeurs au sein du groupe traité comparativement au groupe placebo.[57] En prévention secondaire, donc chez une population ayant déjà une MCV diagnostiquée, la Scandinavian Simvastatin Survival Study (4S) a étudié un échantillon de 4444 sujets (82% d'hommes) avec un cholestérol moyen élevé (>4.5 mmol/l). Chez cette population, un traitement à la simvastatine (20-40 mg/j) a été associé à une diminution significative des niveaux de LDL-C de 35% en plus de réduire significativement de 30% la mortalité totale et de 35% le nombre d'événements coronariens.[58] Ces résultats en prévention secondaire ont été appuyés par la Cholesterol and Recurrent Events (CARE) Study ($n=4159$, 86% d'hommes, LDL-C moyen 3.5 mmol/l), où un traitement à la pravastatine (40 mg/j) chez des sujets avec

des niveaux de LDL-C relativement faibles a été associé à une diminution significative de 28% des concentrations de LDL-C accompagnée d'une réduction significative de 24% des incidents coronariens majeurs.[59] Enfin, la Long-Term Intervention with Pravastatin in Ischaemic Disease (LIPID) study menée auprès de 9014 sujets avec un LDL-C moyen d'environ 3.9 mmol/l a montré que la réduction significative de 25% du LDL-C associée à un traitement pravastatine 40 mg/j réduisait significativement de 22% la mortalité totale et de 29% le nombre d'événements coronariens majeurs.[60]

Très récemment, le suivi de 5 ans de la Heart Protection Study (HPS) a été rendu public. Cette étude avait pour but d'investiguer le potentiel du traitement aux statines à diminuer l'incidence de tout type d'accident cardiovasculaire chez une population de plus de 20,500 adultes (3,280 sujets ayant subi un accident cérébrovasculaire, et 17,256 autres soit diabétiques, soit aux prises avec des problèmes d'occlusion artérielle). Il a ainsi été observé qu'un traitement à la simvastatine 40 mg/jour était associé à une réduction significative du niveau moyen de LDL-C de l'ordre de 1 mmol/l, à une réduction significative de 25% de l'incidence de l'infarctus du myocarde en plus réduire le nombre d'incidents ischémiques cérébraux et le besoin du recours à l'angioplastie. Chez les patients ayant déjà subi un accident cérébrovasculaire, le traitement à la simvastatine était associé à une diminution significative (-20%) de l'incidence récurrente des événements coronariens majeurs. Cette étude, à l'instar des études de prévention primaire et secondaire déjà mentionnées, démontrait que les statines peuvent prévenir l'infarctus du myocarde en plus de la MCV.[61]

En somme, ces études démontrent que les bénéfices d'un traitement hypolipidémiant aux statines s'étendent à des populations à risque vasculaire très variés, soit des plus à risque (prévention secondaire avec LDL-C élevé) aux moins à risque (prévention primaire avec LDL-C normal). On ne se surprendra donc plus de savoir que les inhibiteurs de la HMG-CoA réductase sont maintenant les agents hypolipidémiant les plus utilisés dans la prévention et le traitement des MCV. Cependant, même si les études précédemment citées sont des arguments de taille pour l'utilisation des statines en clinique, certains de leurs effets, nous le verrons, demandent encore à être éclaircis.

2.4.3.4 Effets pleiotropes des statines

Certaines des grandes études d'intervention avec traitement aux statines ont observé des bénéfices précoces sur la santé cardiovasculaire qui semblaient indépendants de l'effet hypocholestérolémiant des agents utilisés et qui n'étaient pas reliés à une régression de la plaque athéromateuse détectée par angiographie. Ces observations suggèrent donc que les statines auraient des effets potentiellement athéroprotecteur autres que leur seul impact sur les concentrations plasmatiques de LDL-C. Ces effets, appelés effets pléiotropes, ont fait l'objet de nombreuses études. Une forte proportion de ces études rapportent que ces effets seraient de type anti-inflammatoire. Il a en effet été observé que la pravastatine peut induire une réduction significative de 24% des concentrations sanguines de protéine C-réactive, une protéine impliquée dans la réponse inflammatoire aiguë non spécifique et dont les concentrations en circulation ont été mises en relation directe avec l'incidence de la MCV.[62] La sécrétion d'autres cytokines inflammatoires telles que l'interleukine-6 et l'interleukine-8 par des cellules s'apparentant aux macrophages semblerait également inhibée, *in vitro*, par un traitement aux statines.[63] Il a également été démontré, toujours *in vitro*, que les statines préserveraient la santé cardiovasculaire en inhibant la sécrétion de molécules responsable du recrutement et de l'attachement des leucocytes et des monocytes, tels que ICAM-I et MAC-I, à la surface de cellules d'endothélium vasculaire et de monocytes en culture.[55] Certaines études accordent aussi aux statines des propriétés antiprolifératives et antimigratoires, qui auraient comme effet de stabiliser la plaque athéromateuse en inhibant la prolifération et la migration des cellules musculaires lisses.[64] Enfin, il a aussi été observé, *in vitro*, que les statines inhiberaient la sécrétion de métalloprotéinase,[65] une protéine impliquée dans la dégradation du matériel matriciel à la surface de la lésion athérosclérotique et qui a comme effet de déstabiliser la plaque, augmentant ainsi le risque de rupture. On remarquera ici que plusieurs des effets pléiotropes associés aux statines ont été observés *in vitro* et que leur réelle implication *in vivo* reste à être démontrée. De plus, plusieurs de ces effets pléiotropes ne sont plus observés en présence de mévalonate, qui est le produit de la réaction catalysée par l'HMG-CoA réductase. Ceci laisse croire que les effets pléiotropes des statines pourraient être directement liés à leur effet hypocholestérolémiant.

2.4.3.5 Statines et HDL-C

Plusieurs études, dont l'étude 4S précédemment mentionnée, ont démontré que les statines ont un effet bénéfique sur les concentrations de HDL-C en circulation, cet effet étant davantage marqué chez des sujets caractérisés par des concentrations faibles de HDL-C avant traitement. Il est à noter cependant que l'impact des statines sur les niveaux de HDL-C est inférieur à la hausse induite par le traitement aux dérivés d'acides fibrique.[51] De plus, il a récemment été démontré que l'impact bénéfique des statines sur les niveaux de HDL-C n'était pas le même pour toutes les statines. Il apparaîtrait que les déterminants de cette réponse divergente seraient spécifiques à chacune des statines et différencierait des facteurs déterminant l'impact sur les niveaux de triglycéride. En ce sens, il a été démontré que les deux statines les plus prescrites en clinique à l'heure actuelle, soit la simvastatine et l'atorvastatine, ont un impact divergent sur les niveaux de HDL-C. En effet, il a été démontré que la simvastatine a un impact positif et dose-dépendant sur les concentrations de HDL-C à des doses de 10 à 80mg par jour, alors que l'atorvastatine voit son impact positif sur les niveaux de HDL-C,

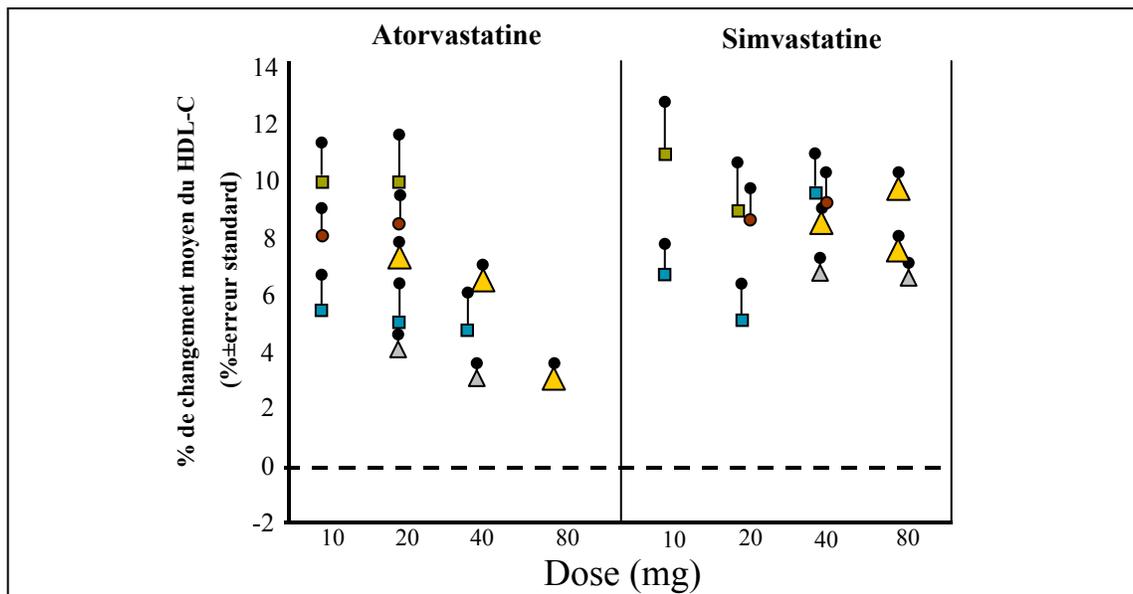


Figure 4 : Impact divergent de la simvastatine et de l'atorvastatine sur les concentrations de HDL-C. Les différents symboles représentent différentes études : (■) étude Six Cities, (□) étude Curves, (●) étude Recto, (△) étude Crouse, (▲) étude Kastelein/Illingworth. (Adaptée de AS. Wierzbicki, DP. Mikhailidis, *Int j of cardiol* 2002; 84. 53-57)

observé à dose de 10 à 20 mg par jour, diminuer lorsque la dose atteint 40 à 80 mg par jour (**FIGURE 4**). Cette divergence d'impact a été observée en 1998 suite à la publication des résultats de l'étude CURVES. Celle-ci avait pour but de comparer l'impact de la pravastatine, de la lovastatine, de la fluvastatine, de la simvastatine et de l'atorvastatine sur la lipémie, et ce sur l'étendue complète des doses recommandées pour chaque traitement. Il a été démontré qu'à 40 mg/jour, la simvastatine amenait une augmentation des niveaux de HDL-C significativement supérieure à celle induite par une même dose d'atorvastatine (9.6% vs 4.6% respectivement).[66]

Ces résultats ont depuis été corroborés par plusieurs études. Les résultats publiés en 2000 par le Simvastatin Atorvastatin HDL Study Group ont démontré que passer de simvastatine 40 mg/jour à 80 mg/jour induit une augmentation additionnelle de 1% des niveaux de HDL-C comparativement au niveau de départ (40mg=8.5% à 80mg=9.7%).[67] En comparaison, ils ont démontré que sous atorvastatine, passer d'un dosage de 20 mg/jour à 40 mg/jour induit une diminution de 1% de l'effet positif du traitement sur les niveaux de HDL-C par rapport au niveau de départ (20mg=7.3% à 40mg=6.4%). De plus, cette étude rapportait que ce même changement de dose d'atorvastatine était associé à une diminution significative de 3% des concentrations plasmatiques d'apoA-I. Une méta-analyse publiée en 2002 montrait clairement la différence d'évolution de l'impact de la simvastatine et de l'atorvastatine en fonction de la dose sur les concentrations plasmatiques de HDL-C.[7]

En 2003, 3 études apportaient de nouveaux arguments appuyant la thèse de l'impact divergent de la simvastatine et de l'atorvastatine sur les concentrations de HDL-C. La Comparative HDL Efficacy and Safety Study (CHESS),[68] réalisée chez 917 hypercholestérolémiques, comparait un traitement de 24 semaines avec simvastatine 80 mg/jour à un traitement de même durée avec atorvastatine 80 mg. Encore ici, le traitement à la simvastatine était associé à une augmentation significativement supérieure des concentrations plasmatiques de HDL-C et d'apoA-I comparativement à l'atorvastatine après seulement 12 semaines de traitement (HDL-C : 8.9% vs 3.6%, apoA-I : 4.9% vs -0.9%, respectivement). De plus, ces différences étaient indépendantes des niveaux de HDL-C mesurés au début de l'étude. Une autre étude, la Statin Therapy for Elevated Lipid Levels

compared Across doses to Rosuvastatin (STELLAR),[69] comparait 4 statines (rosuvastatine, atorvastatine, pravastatine et simvastatine) sur l'étendue complète de leurs doses chez des hypercholestérolémiques. Dans cette étude, atorvastatine 80 mg était la statine/dose avec laquelle l'augmentation des niveaux de HDL-C observée était la plus mince (2%). Le traitement à la simvastatine, quant à lui, était associé à une augmentation dose-dépendante des concentrations de HDL-C, atteignant 6% d'augmentation à 80 mg/jour. Finalement, une dernière étude, examinant cette fois l'impact de la simvastatine (40mg à 80 mg) et de l'atorvastatine (20mg à 40mg) a été réalisée chez 808 sujets montrant ou non des symptômes du syndrome métabolique. Le syndrome métabolique réfère à un ensemble de facteurs de risque de développer la MCV tel la présence d'obésité, d'hypertriglycémie à jeun, de résistance à l'insuline, d'hypertension et de niveaux faibles de HDL-C. Cette étude a permis de démontrer que l'impact divergent de la simvastatine et de l'atorvastatine sur les niveaux de HDL-C à dose élevée était conservé même chez des sujets présentant des caractéristiques du syndrome métabolique.[70]

Cette différence d'effet observée entre ces deux traitements très répandus en clinique à travers un vaste éventail de populations pose un problème considérable, d'une part, à cause de l'importance et de l'efficacité prouvée des statines dans le traitement des dislipidémies et, d'autre part, à cause de la forte relation inverse unissant les niveaux de HDL-C au développement du syndrome coronarien aigu. On rappelle qu'une augmentation de 1% des niveaux de HDL-C cholestérol est associée à une diminution significative de 2% à 3% du risque de développer la MCV. Jusqu'à maintenant, aucun mécanisme physiologique n'a été proposé pour élucider l'effet divergent de la simvastatine et de l'atorvastatine sur les concentrations de HDL-C. C'est précisément à cette problématique que les travaux de recherche présentés dans ce mémoire se sont attardés, à savoir quel mécanisme physiologique était à l'origine de cette divergence d'impact. Pour se faire, nous avons analysé la cinétique de l'apolipoprotéine A-I, protéine majeure des HDL, suite à un traitement à la simvastatine et suite à un traitement à l'atorvastatine chez des sujets avec des niveaux relativement faibles de HDL-C avant traitement. Les sections qui suivent dressent un bref portrait de ce que représente l'étude *in vivo* de la cinétique des apolipoprotéines et des techniques qui ont été élaborées à ce jour dans ce domaine de recherche.

2.5 Étude de la cinétique des protéines

De façon simpliste, l'étude de la cinétique *in vivo* d'une protéine implique un traceur. Le traceur est généralement une molécule, protéine ou acide aminé, physiologiquement identique à son homologue, qu'on appellera le tracé, mais duquel il diffère par le fait qu'il est marqué à l'aide d'un isotope stable ou radioactif. Le marquage peut être réalisé de façon endogène ou exogène.[71]

Le marquage exogène exige qu'on isole d'abord la protéine d'intérêt et qu'elle soit ensuite marquée, par exemple, à l'aide d'un radio-isotope comme l'iode-125 ou l'iode-131. La protéine d'intérêt est ensuite réinjectée dans l'organisme dans lequel la cinétique de la protéine marquée veut être étudiée. Le taux de catabolisme de la protéine à l'étude peut ensuite être calculé en mesurant la quantité de rayonnement radioactif émis par des échantillons physiologiques prélevés à des temps toujours plus éloignés du moment où l'injection a été réalisée. Dans ce cas, il est assumé que le rayonnement mesuré provient de la protéine d'intérêt marquée et que la diminution du rayonnement produite par les échantillons avec le temps est causée par l'élimination de la protéine marquée par l'organisme. Il est important de souligner que dans ce premier cas, c'est une quantité d'énergie dégagée par la désintégration d'un atome radioactif qui est mesurée et utilisée lors de l'analyse des données.

Le marquage endogène, quant à lui, implique que la protéine d'intérêt soit marquée lors de sa biosynthèse même à l'intérieur de l'organisme étudié. Pour se faire, l'utilisation d'isotopomères stables d'acides aminés marqués au carbone-13, au deutérium, à l'azote-15 ou à l'oxygène-18 comme traceur s'est avérée la méthode de choix dans ce type d'analyse jusqu'à maintenant. Comme les isotopes stables ne produisent pas de rayonnement radioactif mesurable, l'utilisation de ceux-ci exige qu'on remplace la mesure du rayonnement radioactif par la mesure du ratio traceur/tracé. Si un acide aminé marqué au deutérium est utilisé comme traceur, cet acide aminé sera progressivement incorporé dans les protéines de l'organisme via la biosynthèse protéique. Ainsi, pour une certaine quantité de protéine prélevée à des temps

toujours plus éloignés du moment de l'injection, le ratio traceur/tracé évoluera en augmentant ou en diminuant dépendamment de la disponibilité de l'acide aminé marqué. L'augmentation du ratio traceur/tracé est associée au taux de synthèse de la protéine à l'étude alors que la diminution du ratio traceur/tracé reflète le taux de catabolisme. Il est important de souligner que la mesure du ratio traceur/tracé nécessite un appareil capable de discriminer et de mesurer séparément l'abondance du traceur et du tracé à l'intérieur d'un même échantillon. De façon générale, on utilise un appareil de chromatographie en phase gazeuse couplé à un spectromètre de masse, qui possède une capacité de résolution très puissante.

Pour la présente étude, un isotopomère de l'acide aminé leucine triplement marqué au deutérium, la [5, 5, 5,-²H₃]-L-leucine, a été utilisé comme traceur. Ainsi, concrètement, suite à son injection dans la circulation sanguine, la leucine marquée est transportée à l'intérieur des cellules de l'organisme et est ainsi disponible pour être incorporée dans les protéines via la biosynthèse protéique. L'incorporation de [5, 5, 5,-²H₃]-L-leucine à l'apoA-I par rapport à la leucine non-marquée en fonction du temps a ensuite été analysée. L'enrichissement progressif en leucine deutérée a permis de calculer le taux de production et de catabolisme de l'apoA-I suite à chacun des traitements à l'étude.

2.5.1 Déterminants physiologiques de la cinétique de l'apoA-I

Des études antérieures ont démontré que les concentrations de HDL en circulation sont intimement reliées à la cinétique de l'apoA-I. À ce titre, les études de Brinton et de ses collaborateurs au début des années 1990 ont largement contribué à mettre en lumière cette relation. Ils ont observé que des niveaux élevés de HDL-C en circulation étaient associés à un taux de catabolisme diminué de l'apolipoprotéine A-I.[72] À l'inverse, ils ont observé un taux de catabolisme élevé de l'apoA-I chez des individus hyper- et normo-triglycéridémiques avec des niveaux faibles de HDL-C.[73] De plus, leurs observations ont également permis de démontrer que le taux de catabolisme de l'apoA-I serait déterminé majoritairement pas la taille des particules HDL en circulation, les plus petites étant éliminées plus rapidement que les plus volumineuses.[74] La taille des particules HDL, à son tour, serait déterminée en partie par la présence d'obésité, la sensibilité à l'insuline, les niveaux de triglycérides sériques et l'activité

conjuguée des lipases lipoprotéique et hépatique. Ces résultats ont été appuyés par des recherches qui ont démontré un catabolisme accéléré de 50% de l'apoA-I chez des sujets obèses, résistants à l'insuline et montrant des niveaux relativement élevés de triglycérides comparativement à des sujets contrôles sains.[75] Enfin, toujours dans le but de démontrer la contribution des triglycérides au taux de catabolisme de l'apoA-I, une expérience a démontré qu'un enrichissement des HDL en triglycérides, tel qu'observé en présence d'obésité et de résistance à l'insuline, menait à une clairance accélérée de ces particules.[76] Cette clairance accélérée peut s'expliquer, selon les résultats d'une expérience conjointe, par une affinité augmentée de la lipase hépatique pour les particules HDL enrichies en triglycérides.[77] L'hydrolyse des TG des HDL par la lipase hépatique amènerait une diminution de la taille des particules HDL. Cette diminution de la taille favoriserait l'élimination des particules HDL au niveau du rein, amenant ainsi un catabolisme plus rapide de l'apoA-I en présence d'hypertriglycéridémie. Somme toute, on retiendra de ces études que les niveaux sériques de HDL-C sont fortement déterminé par le taux de catabolisme de l'apoA-I qui lui, est grandement influencé par les concentrations de triglycérides sériques.

2.5.2 Pharmacologie, nutrition et cinétique de l'apoA-I

Des études récentes ont investigué l'impact de différentes interventions, pharmacologiques et nutritionnelles, sur la cinétique de l'apolipoprotéine A-I. Du côté des interventions nutritionnelles, une étude a comparé l'impact sur la cinétique de l'apoA-I de la diète suggérée par l'American Heart Association en prévention secondaire à la diète type américaine.[78] La diète suggérée en prévention secondaire, qui contient une proportion plus élevée de glucides et une teneur moindre en matières grasses comparativement à la diète type américaine, a été associée à une diminution significative des concentrations de HDL-C (-15%) et des niveaux d'apoA-I en circulation (-12%). Ces changements des concentrations de HDL-C et d'apoA-I étaient associés à une réduction significative du taux de production de l'apoA-I de l'ordre de 8% alors qu'aucun changement n'était observé concernant le taux de catabolisme. Ces résultats corroboraient ceux d'une autre étude effectuée précédemment sur l'impact d'une diète faible en gras sur la cinétique de l'apoA-I où la diminution significative

observée des niveaux de HDL-C et d'apoA-I s'expliquait par une diminution significative de 14% du taux de transfert de l'apoA-I.[79]

En ce qui a trait aux travaux examinant l'impact d'une intervention pharmacologique sur la cinétique de l'apoA-I, elles se sont concentrées principalement sur l'impact de deux types de traitements déjà discutés dans ce mémoire, soit le traitement aux fibrates et le traitement aux statines. Le présent mémoire concentrera son attention sur les études où un traitement aux statines était présent. La première étude, publiée en 1999 par Schaefer et ses collaborateurs avait pour but d'identifier les mécanismes physiologiques responsables de l'augmentation des concentrations de HDL-C lors d'un traitement aux statines.[80] Leurs expériences ont démontré qu'un traitement de 6 semaines à la pravastatine 40 mg/jour chez 6 sujets normolipidémiques était associé à une augmentation significative du taux de production de l'apoA-I de l'ordre de 15% sans changement du taux de catabolisme. Les auteurs concluaient donc que l'impact favorable des statines sur les concentrations de HDL-C était dû majoritairement à une modulation à la hausse du taux de production de l'apoA-I. Deux autres études ont exploré l'impact d'un traitement aux statines sur la cinétique de l'apoA-I mais cette fois en comparant celui-ci à un traitement aux dérivés d'acide fibrique. La première de ces études, publiée en 2003, comparait l'effet de ces deux traitements chez des sujets sains et des sujets obèses résistants à l'insuline avec des niveaux élevés de triglycérides et des niveaux faibles de HDL-C.[81] Cette étude a observé que l'atorvastatine, à dose de 40 mg/jour, malgré une réduction significative des concentrations de cholestérol et de triglycérides en circulation, n'apportait aucun changement significatif ni des concentrations de HDL-C, ni des paramètres de cinétique de l'apoA-I comparativement au traitement placebo. Le traitement aux fibrates (200mg/j), pour sa part, induisait une augmentation significative de l'ordre de 10% des concentrations de HDL-C. Cette augmentation coïncidait avec une légère augmentation significative du taux de catabolisme de l'apoA-I de l'ordre de 10%, qui était largement compensée par une augmentation significative du taux de production de l'apoA-I de 17% comparativement au placebo et au traitement à l'atorvastatine. Cette étude concluait que la combinaison des deux traitements pourrait être envisagée dans le but d'optimiser la prévention pharmacologique des MCV. La seconde étude comparait un traitement avec atorvastatine 80 mg à un traitement aux fibrates (200 mg/jour) chez des individus avec hyperlipidémie mixte

(cholestérol total et triglycéridémie élevée).[82] Cette fois, l'augmentation de 24 % des niveaux de HDL-C sous traitement aux fibrates était associée à une augmentation de 39% du taux de production d'apoA-I qui venait largement compenser l'augmentation de 20% du taux de catabolisme comparativement aux données avant traitement. Cette augmentation du taux de production de l'apoA-I sous traitement aux fibrates était probablement causée, selon les auteurs, par l'expression accentuée du gène de l'apoA-I. L'augmentation du taux de catabolisme de l'apoA-I quant à elle pouvait s'expliquer par l'expression accrue de SR-B1, dont le gène, on s'en souvient, est également régulé par PPAR α . Ainsi, en favorisant l'acceptation du cholestérol des HDL, l'expression accrue de SR-B1 favoriserait la délipidation des HDL et leur excrétion au niveau du rein. L'atorvastatine quant à elle n'avait aucun impact ni sur les concentrations de HDL-C, ni sur la cinétique de l'apoA-I.

Ces données permettent de démontrer qu'au même titre que les interventions nutritionnelles, les interventions pharmacologiques semblent affecter particulièrement la cinétique de l'apoA-I en modulant d'abord son taux de production préférentiellement à son taux de catabolisme. On remarquera que, de façon très intéressante, les deux dernières études d'intervention pharmacologique rapportées ici nous ramènent partiellement à la problématique des présents travaux de recherche, c'est à dire la divergence d'impact de la simvastatine et de l'atorvastatine sur le HDL-C en termes de cinétique de l'apoA-I. En effet, l'atorvastatine, utilisée à dose élevée de 40 mg /jour et 80 mg/jour, semble n'avoir aucun impact bénéfique ni sur les concentrations de HDL-C ni sur la cinétique de l'apoA-I comparativement à la pravastatine utilisée dans la première étude présentée.

Le prochain chapitre présente les résultats générés par mes travaux de recherche effectués dans le cadre de cette maîtrise. Ces travaux avaient pour but de vérifier si la divergence d'impact entre la simvastatine et l'atorvastatine sur les niveaux de HDL-C est due principalement à un taux de production ou de catabolisme différent de l'apoA-I relié à chacun des traitements. Notre hypothèse de départ était la suivante : La divergence d'impact de la simvastatine et de l'atorvastatine sur les concentrations de HDL-C est causée par un taux de production d'apoA-I supérieur sous simvastatine comparativement à l'atorvastatine à haute

dose. Le chapitre est présenté sous forme d'un manuscrit qui sera publié sous peu dans la revue **Atherosclerosis**.

CHAPITRE III

COMPARAISON DE L'IMPACT DE LA SIMVASTATINE ET DE L'ATORVASTATINE SUR LA CINÉTIQUE DE L'APOLIPOPROTÉINE A-I CHEZ L'HOMME

L'article qui compose ce chapitre s'intitule :

**Comparison of the impact of simvastatin and atorvastatin on apoA-I kinetics
in men**

(accepté pour publication au journal *Atherosclerosis*)

Résumé

De faibles concentrations de cholestérol au niveau des lipoprotéines de haute densité (HDL-C) sont associées à un risque augmenté de développer la MCV. Il a été démontré que la simvastatine et l'atorvastatine n'ont pas le même impact sur les concentrations de HDL-C, la simvastatine induisant des augmentations supérieures de HDL-C comparativement à l'atorvastatine. Les mécanismes pouvant expliquer cette différence demeurent inconnus. Objectifs : Comparer l'impact de la simvastatine et de l'atorvastatine sur la cinétique de l'apoA-I *in vivo*. Méthode : Suivant un devis expérimental en chassé-croisé et à double insu, 7 hommes avec des concentrations initiales faibles de HDL-C ont été assignés dans un ordre aléatoire à chacun des 2 traitements expérimentaux (atorvastatine 40 mg ou simvastatine 80 mg), pour une période de 8 semaines. Une période tampon de 6 semaines séparait les 2 phases. La cinétique de l'apoA-I fut mesurée suivant chaque traitements par infusion constante (12 heures) de L-(5,5,5-D₃) leucine précédée d'un bolus, les sujets étant conservés en état de prise alimentaire constante. L'enrichissement isotopique de l'apoA-I dans le temps a été calculé par GC-MS et les paramètres cinétiques déterminés par modélisation multicompartimentale. Résultats : La simvastatine était associée à des concentrations plasmatiques supérieures d'apoA-I comparativement à l'atorvastatine (1.33±0.07 g/L vs 1.23±0.07 g/L, P=0.05) en plus d'être associée à un taux de production de l'apoA-I significativement plus élevé de 14.5% comparativement à l'atorvastatine (15.2±3.0 mg/kg/j vs 13.2±2.6 mg/kg/j, P=0.05). Aucune différence significative entre les deux traitements n'a été observée concernant le catabolisme de l'apoA-I (Sim: 0.26±0.05 pool/j vs. Ator: 0.24±0.04 pool/j) et le temps de résidence de l'apoA-I (sim :4.01±0.70 jours vs ator :4.26±0.84 jours). Conclusion: L'impact divergent de la simvastatine et de l'atorvastatine sur les concentrations de HDL-C pourrait être expliqué, du moins en partie, par un taux de production de l'apoA-I réduit sous traitement à l'atorvastatine comparativement à la simvastatine.

Comparison of the impact of atorvastatin and simvastatin on apoA-I kinetics in men

AUTHORS

Jean-François Mauger¹, Patrick Couture², Marie-Eve Paradis¹, Benoît Lamarche¹.

From ¹ the Institute on Nutraceuticals and Functional Foods, Laval University, Québec, Canada and ² Lipid Research Center, CHUL Research Center, Laval University, Québec, Canada

Address for correspondence :

Benoît Lamarche, PhD
Institute on Nutraceuticals and Functional Foods
2440 Boul Hochelaga, local 2742
Université Laval
Québec, Canada, G1K 7P4
Tel : 418-656-3527
Fax :418-656-5877
E-mail :benoit.lamarche@inaf.ulaval.ca

Word count : 4305

Short Title

ApoA-I kinetic, simvastatin vs atorvastatin

Support:

Benoît Lamarche is Chair Professor in Nutrition, Functional Food and Cardiovascular Health from the Canada Research Chair Program. Jean-François Mauger and Marie-Eve Paradis are recipients of studentship from the Fonds de la Recherche en Santé du Québec. Patrick Couture is a clinical-scientist supported by the Fonds de la recherche en Santé du Québec. This study was financially supported by an unrestricted medical school grant from Merck Frosst.

ABSTRACT

Background : The impact of simvastatin and atorvastatin, two HMG-CoA inhibitors, on plasma HDL-C concentrations has been shown to be inconsistent, simvastatin being reported to induce greater increases in HDL-C than atorvastatin. The physiological mechanisms underlying this diverging effect are still unknown.

Objectives : To compare the impact of simvastatin and atorvastatin on apoA-I kinetics *in vivo*.

Methods : In this double-blind, cross-over study, 7 men with relatively low baseline HDL-C were assigned in random order to one of 2 experimental 8-week treatments (atorvastatin 40 mg or simvastatin 80 mg), each separated by a 6-week washout period. After each phase, apoA-I kinetics were measured using a primed-constant infusion of L-(5,5,5-D₃) leucine for 12 hours with patients being kept in constant fed, steady state. Isotopic enrichment of apoA-I over time was assessed by gas chromatography-mass spectrometry and kinetic parameters were calculated by multicompartmental modeling.

Results : Both treatments reduced plasma LDL-C levels to a similar extent while HDL-C levels remained statistically unchanged after both experimental phases. However, compared to atorvastatin, plasma apoA-I concentrations were significantly higher after treatment with simvastatin (1.33 ± 0.07 g/L vs 1.23 ± 0.07 g/L, $P=0.05$). Treatment with simvastatin also induced a significant increase in apoA-I production rate compared to atorvastatin (15.2 ± 3.0 mg/kg/d vs 13.2 ± 2.6 mg/kg/d, $P=0.05$). There was no statistical difference in apoA-I fractional catabolic rate between simvastatin and atorvastatin (0.26 ± 0.05 pool/d vs 0.24 ± 0.04 pool/d).

Conclusions: These results suggest that the diverging impact of simvastatin and atorvastatin on plasma HDL-C levels in humans may be attributable, at least partly, to a greater production rate of apoA-I with simvastatin.

KEYWORDS: STATIN, SIMVASTATIN, ATORVASTATIN, APOLIPOPROTEIN A-I, KINETICS, HIGH-DENSITY LIPOPROTEINS.

INTRODUCTION

A large body of epidemiological and clinical evidence has demonstrated the inverse correlation between high-density lipoprotein (HDL) cholesterol (HDL-C) levels and the incidence of coronary heart disease (CHD) [1]. HDL are key actors in the process referred to as reverse cholesterol transport and have been shown to exert some anti-oxidant activity as well as a certain potential to preserve endothelial integrity. These mechanisms could account, at least in part, for the cardioprotective properties of HDL [2].

HMG-CoA reductase competitive inhibitors, statins, are a class of lipid lowering agents widely used in clinic for their capacity to effectively lower low-density lipoprotein cholesterol levels (LDL-C), a potent risk factor in the etiology of atherosclerosis [3-5]. While many statins have also been demonstrated clinically to have a favourable impact on circulating triglyceride levels, their influence on HDL cholesterol concentrations has been shown to be quite variable [6, 7]. Of all the statins, simvastatin and atorvastatin are the ones that are the most widely prescribed and have been extensively investigated. It has been demonstrated that the HDL-raising capacity of atorvastatin was significantly attenuated at higher doses in humans while the HDL-raising effect of simvastatin remains positive and dose-dependent throughout the range of doses usually prescribed [7-10]. The physiological mechanisms underlying this diverging impact of the two statins on HDL metabolism are still unknown.

ApoA-I is the protein moiety of HDL and HDL cholesterol levels are closely linked to both its production and catabolic rate [11-13]. Previous studies investigating HDL-C and apoA-I kinetics have reported that HDL-C levels are mainly determined by the apoA-I fractional catabolic rate (FCR) rather than by the apoA-I production rate (PR) [13, 14]. In another study investigating apoA-I kinetics following statin treatment with pitavastatin and cerivastatin in human HepG2 hepatoma cells, it was demonstrated that statin therapy increased apoA-I PR by up-regulating apoA-I gene promoter activity, which promotes the expression of apoA-I mRNA [15]. However, studies have yet to compare the impact of both simvastatin and atorvastatin on apoA-I kinetics *in vivo* in humans.

The aim of the present study was therefore to compare the effect of simvastatin and atorvastatin treatments on apoA-I kinetics using a traceable stable isotope in men with relatively low HDL-C levels.

Methods

Subjects

Seven subjects were recruited at the Lipid Research Clinic of Laval University Hospital Centre. Hypercholesterolemic men with a clinical requirement for statin therapy were invited to participate in the study. Exclusion criteria were coronary heart disease, major systemic illness including diabetes, monogenic dyslipidemias such as familial hypercholesterolemia or plasma triglycerides > 4.0 mmol/L, renal or hepatic dysfunction, HDL-C levels higher than 1.2 mmol/L and use of medications known to affect HDL metabolism (except statins). All participants were non-smokers and were asked not to alter their usual diet, alcohol intake and physical activities during the study period. The protocol was approved by local ethics committees and all subjects gave informed consent to participate in the study.

Experimental design

The experiment was conducted as a double-blind, randomized, crossover study. All eligible participants had to withdraw lipid-lowering medications for at least 6 weeks before they were randomly assigned to either simvastatin 80 mg or atorvastatin 40 mg for a first treatment period of 8 weeks. After a 6-week washout period, participants received the other lipid lowering agent for another period of 8 weeks. These doses were chosen because they are frequently used in clinical practice and are equipotent in their LDL-C-lowering capacities.

Kinetics of apoA-I were determined at the end of each treatment phase using a primed-constant infusion of [5, 5, 5,²H₃]-L-leucine carried out for 12 hours. During the 3 hours that preceded the infusion, and during the 12-hour infusion (total of 15 hours), subjects received each half-hour a meal consisting of 1/30th of their daily caloric intake, which was estimated using the Harris-Benedict equation multiplied by a 1.5 physical activity factor [16]. Subjects were studied in the constantly fed-state to mimic the post-prandial state, in which humans spend most of a daily 24h period. Most recent kinetic studies have generally been conducted under those conditions for similar reasons [17] [14] [18]. Bolus dose and injection rate of [5,

5, 5,-²H₃]-L-leucine were calculated based on the subject's weight (10µmol/kg and 10µmol/kg per hour respectively). Blood samples (20 ml) were collected via a second intravenous line into vacutainer tubes containing EDTA to a final concentration of 0.1% at time 0, 0.5, 1, 1.5, 2, 3, 4, 5, 6, 8, 10 and 12 hour. We have recently shown that this fed state kinetic protocol allowed study participants to achieve steady state rapidly with plasma TG levels being maintained throughout the infusion period (Couture P *et al.*, unpublished data)

Lipid profile

Cholesterol and triglyceride levels were determined in plasma and lipoprotein fractions by enzymatic methods using the Technicon RA-500 analyser (Bayer Corp. Inc, Tarrytown, NY). Plasma very low-density lipoproteins (VLDL, d<1.006 g/ml) were isolated by ultracentrifugation and the HDL fraction was obtained after precipitation of low-density lipoprotein in the infranatant (d>1.006 g/ml) with heparin and MgCl₂. Cholesterol and TG contents of the infranatant were measured prior to and after the precipitation step. ApoB and apoA-I concentrations were measured by nephelometry. Cholesterol within HDL₂ and HDL₃ subfractions were determined after precipitation of HDL₂ with dextran sulphate [19].

Isotopic Enrichment Determination

ApoA-I was isolated from the d<1.25 g/ml plasma fraction obtained after centrifugation of whole plasma for 48 hours at 50 000 rpm at 4°C in a Beckman 50.4 Ti rotor. Infranatant was then dialysed overnight in a NaCl-Tris-Base-EDTA buffer, incubated with cysteamine for 4 hours at 37°C and delipidated using acetone-ethanol and diethyl ether as described previously [20]. All apolipoproteins were then separated using preparative isoelectric focusing (IEF) on polyacrylamide-urea gels (pH gradient 4-7). Protein bands revealed with Coumassie blue were excised and hydrolyzed in HCL 6N at 110°C for 24 hours. Free amino acids in the hydrolysate were then purified by cation-exchange chromatography and derivatized by treatment with acetyl chloride-acidified 1-propanol and heptafluorobutyric anhydride. The derivatized amino-acids were extracted into ethyl-acetate and analysed on a gas chromatograph/mass spectrometer (GC 6890N, MS 5973N Agilent Technologies, Palo Alto, CA, USA). To identify labelled and unlabeled leucine, the amino-acids were ionized by

methane-negative chemical ionization and selective ion monitoring at $m/z=352$ and 349 was used to determine the isotopic ratio (deuterated/non-deuterated leucine) for each sample. Tracer-to-tracee ratios were calculated from the isotopic ratio using the formula described previously [21].

Kinetic Analysis

The fractional catabolic rate (FCR) of apoA-I was determined by fitting the tracer to tracee ratio to a monoexponential function using the SAAMII Program software (University of Washington, Department of Bioengineering, Seattle). Data were fitted to the mathematical function $Z(t) = Z_p(1 - e^{-k(t-d)})$ where $Z(t)$ is the tracer to tracee ratio at time t , Z_p is the tracer to tracee 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 FSR in pools per hour. The enrichment plateau of VLDL apoB-100 with deuterium-labeled leucine, which was also determined using a monoexponential function, was used as the forcing function for precursor pool enrichment. Residence time (RT) was calculated as the reciprocal of FCR, and absolute PR was calculated (in mg/kg/d) using the formula:

$$PR = \frac{\text{FSR (pools/day)} \times \text{plasma apolipoprotein pool size (mg)}}{\text{body weight (kg)}}$$

Pool size were calculated as the plasma apoA-I concentration (mg/dl) multiplied by plasma volume (value fixed at 0.045 l/kg body weight).

Statistical Analyses

Data were analysed using analysis of variance (General Linear Model, GLM) for repeated measures with the main effect of treatment and subject as the repeated effect, followed by the Tukey's "honestly significant difference" (HSD) test for the pairwise comparison between each of the two experimental treatments and baseline. Correlations were investigated using the coefficient of Pearson for parametric variables. Statistical analyses were performed using SAS 8.2 (SAS Institute, Cary, NC)

Results

Study subjects

Lipid profiles of the study subjects at baseline are presented in **Table 1**. Study subjects had a mean age of 58.4 ± 7.7 years and a mean body mass index (BMI) of 27.3 ± 2.1 kg/m². All subjects had high levels of total cholesterol (TC, mean 7.29 ± 1.32 mmol/l) and LDL cholesterol (LDL-C, mean 4.87 ± 1.47 mmol/l) and had low levels of HDL cholesterol as a group (HDL-C, mean 0.99 ± 0.22 mmol/l) according to the NCEP ATPIII guidelines. Most of the participants (6 out of 7) also exhibited high levels of plasma TG (mean 3.12 ± 1.19 mmol/l). All participants were E3/E3 homozygotes except for one individual (subject 6) who was heterozygous for the E4 and E3 alleles. The E3/E4 heterozygote did not respond differently to treatments compared to other study participants.

Effects of study treatments on lipid profile

The fasting lipid and lipoprotein profile of study participants and mean values after each treatment phase are shown in **Table 2**. Simvastatin 80 mg and atorvastatin 40 mg both significantly lowered total plasma cholesterol (-34.4% and -40.0 % respectively) and LDL-C levels (-46.2 % and **-48.5%** respectively). The magnitude of these reductions was not significantly different between the two treatments. Both treatments were also associated with significant reductions in plasma TG levels (-27.2 % with simvastatin and -42.1 % with atorvastatin). Both treatments induced minor increases in plasma HDL-C levels compared to baseline ($8.4 \pm 6.2\%$ with simvastatin and $6.8 \pm 18.1\%$ with atorvastatin) but these changes did not reach statistical significance.

ApoA-I kinetics

Kinetic parameters and pool sizes of apoA-I measured after each treatment phase are presented in **Table 3**. Mean plasma apoA-I concentration and pool size measured in the fasting state, following treatment with simvastatin 80 mg were respectively 8.1% and 7.9% significantly higher ($P=0.05$) than after treatment with atorvastatin 40 mg. Mean apoA-I PR

after simvastatin treatment was 15.2%, significantly higher than after atorvastatin treatment (P=0.05). No significant difference was observed between treatments for the calculated apoA-I FCR and RT.

Data for both treatment phases were pooled to evaluate the linear relation between lipid and apolipoprotein levels and kinetic variables. Although not statistically significant, positive trends were also found between apoA-I levels and apoA-I production rate ($r=0.49$ $P=0.078$) as well as between apoA-I pool size and apoA-I production rate ($r=0.48$ $P=0.08$). Finally, a positive trend ($r=0.68$ $P=0.096$) was also observed between changes in apoA-I levels and changes in apoA-I PR from simvastatin to atorvastatin (simvastatin-atorvastatin) (**Figure 1**). This trend was not observed between changes in apoA-I levels and changes in apoA-I FCR.

Discussion

The purpose of the present study was to compare the effect of two widely prescribed HMG-CoA reductase inhibitors, simvastatin and atorvastatin, on the *in vivo* kinetics of apoA-I using a stable traceable isotope. To the best of our knowledge, the present study is the first attempt to identify the physiological mechanisms responsible for the diverging effect of simvastatin and atorvastatin on plasma HDL-C levels. As indicated above, doses for each treatment (simvastatin 80 mg and atorvastatin 40mg) have been selected for their comparable LDL-C lowering capacity but also because they have been shown to have diverging effects on plasma HDL-C concentrations.

Compared to baseline, both treatments improved participants total-C, LDL-C and TG levels to a significant extent, but the slight improvement observed in HDL-C levels compared to baseline did not reach statistical significance, with both treatments having comparable effects in the 7 study subjects (8.4% increase with simvastatin vs. 6.8% increase with atorvastatin). It must be noted that all subjects had an increase or no change in plasma HDL-C levels with simvastatin, while atorvastatin treatment induced a decrease in HDL-C levels in 2 subjects out of 7 (-13.6 and -4.0 %) compared to baseline. Considering apoA-I levels following both treatments, 5 subjects out of 7 had higher plasma apoA-I levels after simvastatin treatment compared to atorvastatin treatment.

Our analyses showed that a 6-week treatment with simvastatin 80 mg was associated with a significantly higher apoA-I PR compared with atorvastatin 40 mg, while the calculated FCRs after each treatment period were statistically indistinguishable. It is recognized that the between-treatment differences in apoA-I PR and pool size observed in our study barely achieved significance level ($p=0.05$). Unlike in large clinical trials, from which differences in the HDL-raising capacity of simvastatin and atorvastatin have been identified, the study of *in vivo* lipoprotein kinetic is time-consuming and complex. Our previous analysis of study power indicated that meaningful differences in apoA-I PR could be detected between the two statins using 7-10 subjects, depending on the magnitude of the variation induced by the treatments. Analysis of the results after 7 subjects revealed that adequate study power had been achieved

and thus no additional subjects were investigated. Our data suggest that the increased apoA-I PR observed following treatment with simvastatin compared with atorvastatin, rather than differences in FCR, explains, at least in part, the differential impact of the two statins on apoA-I and HDL-C levels that have been observed in previous large clinical studies.

While the 12-hour primed-constant [5,5,5,²H₃]-L-leucine infusion labelling methodology has been used in several previous apoA-I turnover studies,[22] others have suggested that the bolus labelling method may be more appropriate for the study of apo A-I kinetics.[23] Although both labelling methods have been shown to be relatively equivalent,[24-26] the bolus protocol is more convenient to carry out and generates data that are easier to interpret due to the decreased contribution of recycling of amino acid compared with primed constant infusions.[23] Since we used the same labelling method after each treatment in the present study, we believe that the comparison of apoA-I kinetics after both treatments should not be influenced by our choice of labelling technique.

A study conducted by Schaefer et al. investigating the mechanisms responsible for the HDL-C raising potential of the HMG-CoA reductase inhibitor, pravastatin, showed that the HDL-C increase, along with the apoA-I pool size increase observed after a 6 week treatment period with pravastatin was mainly due to an increase in the apoA-I PR rather than to a change in apoA-I FCR [27]. ApoA-I kinetics of apoA-I at baseline were not measured in the present study and we acknowledge that data on the within-treatment analysis of apoA-I kinetics would have been interesting. It must be stressed that such a study would have required three consecutive kinetic studies in each participant, with underlying potential limitations related to burden on patients and long term tracer recycling. It is conceivable that both statins, may have induced an increase in apoA-I PR and plasma levels compared to baseline. Nevertheless, our data are concordant with the concept that differences in HDL metabolism following two different statin treatments may reside largely in variations in apoA-I PR rather than in changes in apoA-I FCR. In our study, this is also mirrored by the positive trend observed between absolute changes in apoA-I levels (simvastatin - atorvastatin) and apoA-I PR. No such trend was observed between absolute changes in apoA-I levels and apoA-I FCR, suggesting, again,

that the significant difference in apoA-I levels observed between treatments is modulated through distinct effects of both drugs on apoA-I PR.

Martin et al. reported that HMG-CoA reductase inhibition increased apoA-I mRNA in HepG2 hepatoma cells [15]. The authors attributed this elevation in apoA-I mRNA to an inhibition of the *rho* signalling pathway, which, through an activation of the peroxisome proliferator activated receptor-alpha (PPAR- α), was thought to activate the transcription of the apoA-I gene. This resulted in increased apoA-I mRNA production, which in turn led to enhanced apoA-I production by the hepatoma cells. The apoA-I mRNA production was reported to be dose-dependent to the strength of the inhibition of the cholesterol synthesis. In the present study, the treatment doses (simvastatin 80 mg and atorvastatin 40 mg) were chosen for their comparable impact on total and LDL cholesterol. We therefore hypothesize that simvastatin *per se* could have a greater impact compared to atorvastatin on the response elements implicated in regulating the inhibition of the *rho* signalling pathway, and this may explain the greater increase in apoA-I PR and ultimately apoA-I levels observed after simvastatin treatment.

The difference in circulating half-life of simvastatin and atorvastatin has also been evoked as one of the key factors potentially responsible for their diverging impact on HDL-C [28]. The half-life of simvastatin in circulation is 2 hours while that of atorvastatin is 7 times greater, reaching 14 hours [29]. Because HDL-C is of endogenous origin, it is possible that inhibition of HMG-CoA reductase for a longer period of time with atorvastatin could have a greater impact on reducing the pool of cholesterol eligible to be transferred to immature apoA-I containing lipoproteins, which would then have the propensity to be cleared more rapidly from the plasma compartment. However, this hypothesis is questionable based on our results, which showed no difference in apoA-I FCR between simvastatin-80 mg and atorvastatin-40 mg. In light of previous observations, and of our own results, we suggest that both the reduced apoA-I PR at doses higher than 40 mg atorvastatin along with a greater inhibition in cholesterol synthesis, that could occur at higher doses, could be the key factors underlying the diverging effect of the atorvastatin and simvastatin on plasma HDL-C levels that has been reported in previous clinical studies.

Rashid and al. reported that New-Zealand white rabbits treated for 3 weeks with atorvastatin 5 mg/kg/d showed a 98 % increase in apoA-I FCR compared to untreated controls [30]. This increase in apoA-I FCR was not entirely compensated for by a slight 48 % increase in apoA-I PR. Since we did not measure baseline apoA-I kinetics, we cannot exclude the possibility that both study treatments increased apoA-I FCR compared to baseline. It must be stressed that rabbits are characterized by high cholesteryl-ester transfer protein (CETP) activity and very low to undetectable hepatic lipase (HL) activity [31]. These two enzymes are major modulators of the TG content of HDL. Previous studies have shown that HDL TG was an important determinant of HDL FCR [32, 33]. It is possible that the difference in CETP and HL activity between rabbits and humans may have modulated to different degrees the impact of statin treatments on apoA-I turnover. However, the present study indicates that, even though statins in general could accelerate the FCR of apoA-I, the differing effects of simvastatin and atorvastatin on HDL-C in humans appears to be explained by a greater apoA-I PR with simvastatin.

Figure description

Figure 1:

Top panel: Absolute variations in plasma apoA-I levels vs. absolute variations in apoA-I PR between treatments.

Bottom panel: Absolute variations in plasma apoA-I levels vs absolute variations in apoA-I FCR between both treatments.

*Changes in each apoA-I parameters were calculated for each subject as follow: (value calculated after simvastatin treatment) - (value calculated after atorvastatin treatment).

Table 1: Baseline characteristics of study participants

Subjects	Age Y	BMI kg/m ²	Cholesterol	HDL-C	Triglycerides	LDL-C
			mmol/l			
1	58	27.6	6.8	1.10	1.90	4.8
2	65	23.2	6.9	0.80	4.30	4.1
3	61	27.4	6.6	1.10	4.90	3.3
4	45	26.1	7.6	1.00	2.00	5.7
5	64	28.4	9.9	1.22	2.71	7.5
6	65	29.8	7.5	1.10	2.31	5.3
7	51	28.4	5.7	0.59	3.71	3.4
Mean ± SD	58.4±7.7	27.3±2.1	7.3 ± 1.3	0.99 ± 0.22	3.12 ± 1.19	4.9 ± 1.5

BMI: body mass index, HDL-C: High density lipoprotein cholesterol

Table 2: Fasting lipoprotein / lipid levels of participants at end of each treatment phase

Treatment	Simvastatin				Atorvastatin			
	TG	TC	LDL-C	HDL-C	TG	TC	LDL-C	HDL-C
Subjects	<i>mmol/l</i>				<i>mmol/l</i>			
1	0.90	3.40	1.90	1.10	0.81	3.12	1.80	0.95
2	2.73	4.35	2.23	0.80	2.85	4.69	2.44	0.94
3	3.85	4.96	1.94	1.25	2.89	4.06	1.64	1.09
4	1.34	4.43	2.72	1.09	1.45	3.92	2.29	0.96
5	2.39	7.37	4.90	1.37	0.87	6.19	4.15	1.64
6	1.55	4.66	2.76	1.19	2.03	5.52	3.46	1.13
7	3.64	4.35	1.98	0.70	1.67	3.25	1.80	0.68
Mean ± SD	2.34±1.14 *	4.79±1.23 *	2.63±1.06 *	1.07±0.24	1.80±0.85 *, [□]	4.39±1.14 *	2.51±0.95 *	1.06±0.30
% change [‡]	-30.0±17.5	-36.3±10.7	-47.9±9.3	8.4±6.2	-40.6±18.4	-39.7±8.8	-47.9±9.3	6.9±18.1

* different from baseline P<0.05

□ different from simvastatin P<0.05

‡ from baseline

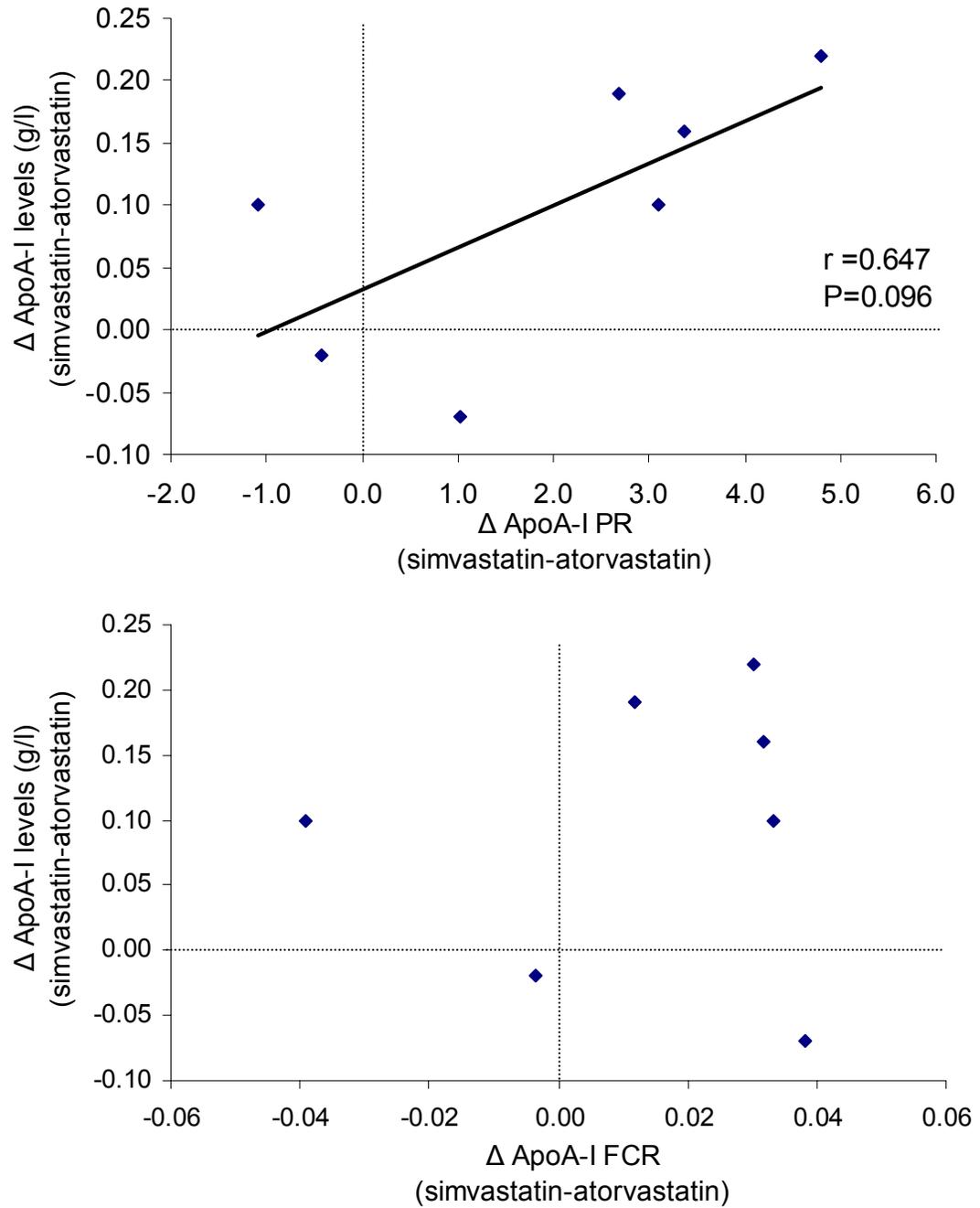
Table 3 : ApoA-I levels and kinetics following each treatment phase

Treatment subjects	simvastatin					atorvastatin				
	ApoA-I <i>g/l</i>	Pool size <i>mg</i>	FCR <i>Pool/d</i>	PR <i>mg/kg/d</i>	RT <i>days</i>	ApoA-I <i>g/l</i>	Pool size <i>mg</i>	FCR <i>Pool/d</i>	PR <i>mg/kg/d</i>	RT <i>days</i>
1	1.25	4725	0.253	14.22	3.96	1.09	4120	0.221	10.84	4.52
2	1.14	3899	0.335	17.20	3.44	1.21	4138	0.297	16.18	3.88
3	1.56	5756	0.301	21.11	3.72	1.34	4945	0.270	16.31	3.84
4	1.28	4608	0.219	12.64	4.75	1.18	4248	0.258	13.73	4.03
5	1.56	5434	0.202	14.17	5.01	1.46	5085	0.168	11.07	6.00
6	1.39	5267	0.226	14.11	4.49	1.41	5343	0.229	14.54	4.51
7	1.10	3594	0.258	12.75	4.12	0.91	2973	0.246	10.06	4.22
Mean ± SD	1.33±0.19*	4755±799*	0.256±0.047	15.17±3.02*	4.21±0.56	1.23±0.19	4407±802	0.242±0.04	13.25±2.60	4.43±0.75
% difference from atorvastatin	8.1%	7.9%	5.8%	14.5%	-5.0%					

* different from atorvastatin P<0.05

FCR= fractional catabolic rate, PR=production rate, RT= residence time

Figure 1



References

1. Rubins, H.B., et al., Gemfibrozil for the secondary prevention of coronary heart disease in men with low levels of high-density lipoprotein cholesterol. Veterans Affairs High-Density Lipoprotein Cholesterol Intervention Trial Study Group. *N Engl J Med*, 1999. **341**(6): p. 410-8.
2. Assmann, G. and J.R. Nofer, Atheroprotective effects of high-density lipoproteins. *Annu Rev Med*, 2003. **54**: p. 321-41.
3. Randomised trial of cholesterol lowering in 4444 patients with coronary heart disease: the Scandinavian Simvastatin Survival Study (4S). *Lancet*, 1994. **344**(8934): p. 1383-9.
4. Sacks, F.M., et al., The effect of pravastatin on coronary events after myocardial infarction in patients with average cholesterol levels. Cholesterol and Recurrent Events Trial investigators. *N Engl J Med*, 1996. **335**(14): p. 1001-9.
5. Poli, A., Cholesterol and coronary heart disease: new data from the WOSCOP Study. *Pharmacol Res*, 1997. **35**(3): p. 171-2.
6. Wierzbicki, A.S., R. Poston, and A. Ferro, The lipid and non-lipid effects of statins. *Pharmacol Ther*, 2003. **99**(1): p. 95-112.
7. Mikhailidis, D.P. and A.S. Wierzbicki, HDL-cholesterol and the treatment of coronary heart disease: contrasting effects of atorvastatin and simvastatin. *Curr Med Res Opin*, 2000. **16**(2): p. 139-46.
8. Karalis, D.G., et al., Comparison of efficacy and safety of atorvastatin and simvastatin in patients with dyslipidemia with and without coronary heart disease. *Am J Cardiol*, 2002. **89**(6): p. 667-71.
9. Branchi, A., et al., Effects of low doses of simvastatin and atorvastatin on high-density lipoprotein cholesterol levels in patients with hypercholesterolemia. *Clin Ther*, 2001. **23**(6): p. 851-7.
10. Wierzbicki, A.S., et al., Comparison of therapy with simvastatin 80 mg and atorvastatin 80 mg in patients with familial hypercholesterolaemia. *Int J Clin Pract*, 1999. **53**(8): p. 609-11.
11. Brinton, E.A., S. Eisenberg, and J.L. Breslow, Increased apo A-I and apo A-II fractional catabolic rate in patients with low high density lipoprotein-cholesterol levels with or without hypertriglyceridemia. *J Clin Invest*, 1991. **87**(2): p. 536-44.
12. Brinton, E.A., S. Eisenberg, and J.L. Breslow, Elevated high density lipoprotein cholesterol levels correlate with decreased apolipoprotein A-I and A-II fractional catabolic rate in women. *J Clin Invest*, 1989. **84**(1): p. 262-9.
13. Brinton, E.A., S. Eisenberg, and J.L. Breslow, Human HDL cholesterol levels are determined by apoA-I fractional catabolic rate, which correlates inversely with estimates of HDL particle size. Effects of gender, hepatic and lipoprotein lipases, triglyceride and insulin levels, and body fat distribution. *Arterioscler Thromb*, 1994. **14**(5): p. 707-20.
14. Velez-Carrasco, W., et al., Apolipoprotein A-I and A-II kinetic parameters as assessed by endogenous labeling with [(2)H(3)]leucine in middle-aged and elderly men and women. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2000. **20**(3): p. 801-6.
15. Martin, G., et al., Statin-induced inhibition of the Rho-signaling pathway activates PPARalpha and induces HDL apoA-I. *J Clin Invest*, 2001. **107**(11): p. 1423-32.

16. Harris, J. and H. Benedict, A biometric study of basal metabolism in man. Carnegie Institute of Washington, Washington, DC, 1919.
17. Pont, F., et al., High-density lipoprotein apolipoprotein A-I kinetics in obese insulin resistant patients. An in vivo stable isotope study. *Int J Obes Relat Metab Disord*, 2002. **26**(9): p. 1151-8.
18. Recalde, D., et al., Enhanced fractional catabolic rate of apo A-I and apo A-II in heterozygous subjects for apo A-I(Zaragoza) (L144R). *Atherosclerosis*, 2001. **154**(3): p. 613-23.
19. Gidez, L.I., et al., Separation and quantitation of subclasses of human plasma high density lipoproteins by a simple precipitation procedure. *J Lipid Res*, 1982. **23**(8): p. 1206-23.
20. Batal, R., et al., Familial HDL deficiency characterized by hypercatabolism of mature apoA-I but not proapoA-I. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 1998. **18**(4): p. 655-64.
21. Cobelli, C., G. Toffolo, and D.M. Foster, Tracer-to-tracee ratio for analysis of stable isotope tracer data: link with radioactive kinetic formalism. *Am J Physiol*, 1992. **262**(6 Pt 1): p. E968-75.
22. Marsh, J.B., F.K. Welty, and E.J. Schaefer, Stable isotope turnover of apolipoproteins of high-density lipoproteins in humans. *Curr Opin Lipidol*, 2000. **11**(3): p. 261-6.
23. Barrett, P.H. and D.M. Foster, Design and analysis of lipid tracer kinetic studies. *Curr Opin Lipidol*, 1996. **7**(3): p. 143-8.
24. Watts, G.F., et al., Differential regulation of lipoprotein kinetics by atorvastatin and fenofibrate in subjects with the metabolic syndrome. *Diabetes*, 2003. **52**(3): p. 803-11.
25. Frenais, R., et al., In vivo evidence for the role of lipoprotein lipase activity in the regulation of apolipoprotein AI metabolism: a kinetic study in control subjects and patients with type II diabetes mellitus. *J Clin Endocrinol Metab*, 2001. **86**(5): p. 1962-7.
26. Frenais, R., et al., Effect of low-density lipoproteins on apolipoprotein AI kinetics in heterozygous familial hypercholesterolemia. *Metabolism*, 2001. **50**(6): p. 635-9.
27. Schaefer, J.R., et al., Metabolic basis of high density lipoproteins and apolipoprotein A-I increase by HMG-CoA reductase inhibition in healthy subjects and a patient with coronary artery disease. *Atherosclerosis*, 1999. **144**(1): p. 177-84.
28. Crouse, J.R., 3rd, et al., Effects of high doses of simvastatin and atorvastatin on high-density lipoprotein cholesterol and apolipoprotein A-I. *Am J Cardiol*, 1999. **83**(10): p. 1476-7, A7.
29. Lennernas, H. and G. Fager, Pharmacodynamics and pharmacokinetics of the HMG-CoA reductase inhibitors. Similarities and differences. *Clin Pharmacokinet*, 1997. **32**(5): p. 403-25.
30. Rashid, S., et al., Effect of atorvastatin on high-density lipoprotein apolipoprotein A-I production and clearance in the New Zealand white rabbit. *Circulation*, 2002. **106**(23): p. 2955-60.
31. Rashid, S., et al., Triglyceride enrichment of HDL does not alter HDL-selective cholesteryl ester clearance in rabbits. *J Lipid Res*, 2001. **42**(2): p. 265-71.
32. Lamarche, B., et al., Triglyceride enrichment of HDL enhances in vivo metabolic clearance of HDL apo A-I in healthy men. *J Clin Invest*, 1999. **103**(8): p. 1191-9.
33. Rashid, S., et al., Lipolytically modified triglyceride-enriched HDLs are rapidly cleared from the circulation. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2002. **22**(3): p. 483-7.

Chapitre IV

Conclusion générale

Le but de la présente étude était de déterminer les mécanismes physiologiques responsables de la divergence d'impact de la simvastatine et de l'atorvastatine, deux agents hypocholestérolémiants largement utilisés dans la prévention et le traitement de la MCV, sur les concentrations de HDL-C en circulation. Pour ce faire, la cinétique de l'apoA-I, la protéine majeure des HDL, a été mesurée chez 7 sujets suite à deux phases de traitement de 8 semaines, l'une réalisée avec simvastatine 80 mg/jour, l'autre avec atorvastatine 40 mg/jour. Une concentration significativement plus élevée d'apoA-I en circulation a été observée suite au traitement à la simvastatine comparativement au traitement à l'atorvastatine. De plus, les études de cinétique effectuées ont démontré que cette augmentation de la quantité totale d'apoA-I en circulation était reliée à un taux de production significativement plus élevé d'apoA-I suite au traitement à la simvastatine comparativement au traitement à l'atorvastatine.

Il est intéressant de remarqué que dans la présente étude, de la même façon que dans les autres études d'interventions présentées dans l'introduction du présent mémoire, le paramètre de cinétique prédisant préférentiellement les niveaux de HDL-C semble être le taux de production plutôt que le taux de catabolisme de l'apoA-I. À l'inverse, en absence d'intervention ou de traitement, c'est le taux de catabolisme de l'apoA-I qui semble déterminer la concentration de HDL-C en circulation. Cette différence au niveau du paramètre de cinétique déterminant mérite d'être étudiée. Tout d'abord, une certaine nuance doit être apportée. En effet, lors d'études d'intervention, le changement de taux de production de l'apoA-I ne prédit pas les concentrations de HDL-C, mais bien le changement observé au niveau du HDL-C. Par exemple, si suite à une certaine diète, les niveaux de HDL-C ont diminué chez un groupe d'individus, cette diminution sera expliquée, ou sera prédite, par une diminution plus ou moins grande du taux de production de l'apoA-I. Cependant, les niveaux de HDL-C mesurés chez chacun des individus, avant ou après traitement, demeure majoritairement expliqués par le taux de catabolisme de l'apoA-I. La présente étude reflète

bien ce fait. En effet, ici, la différence de taux de production de l'apoA-I entre les deux traitements semble expliquer l'impact différentiel de la simvastatine et de l'atorvastatine sur les niveaux de HDL-C. Cependant, les niveaux de HDL-C demeurent fortement corrélés au taux de production de l'apoA-I. On peut donc dire que si le taux de catabolisme de l'apoA-I est le déterminant majeur des niveaux de HDL-C en circulation en tout temps, le paramètre de cinétique qui sera modulé en réponse à un traitement sera préférentiellement le taux de production. De plus, des données récentes suggèrent que la modulation du taux de production de l'apoA-I serait déterminée par la variation des taux de cholestérol plasmatique engendrée par le traitement.[83] Ainsi, un traitement abaissant les concentrations plasmatiques de cholestérol semble induire systématiquement une diminution du taux de production de l'apoA-I alors qu'un traitement amenant une hausse des concentrations plasmatiques de cholestérol semble augmenter le taux de production de l'apoA-I. Une des hypothèses en expliquant cette relation serait que l'organisme, voyant son pool de cholestérol augmenter ou diminuer, réponde en ajustant la quantité d'apoA-I en circulation pour équilibrer la vidange du cholestérol en excès. Plus de cholestérol en circulation amène un besoin accru en apoA-I pour récolter l'excès, donc une production accélérée d'apoA-I et vice-versa.

Les résultats obtenus par la présente étude font la lumière, du moins en partie, sur une énigme qui était à ce jour sans réponse dans la pratique clinique. Il est cependant à noter que la divergence d'impact de la simvastatine et de l'atorvastatine sur les concentrations de HDL-C est un fait relativement bien répertorié, mais il ne faut pas oublier que le bénéfice majeur d'un traitement aux statines réside dans la forte réduction des niveaux de LDL-C et de cholestérol total. Cette attitude se reflète par la proportion mondiale du marché des statines occupée par chacune des molécules utilisées dans la présente étude, soit 55% pour l'atorvastatine et 20% pour la simvastatine. Cependant, l'intérêt grandissant en recherche pour les concentrations de HDL-C dans la prédiction du risque de MCV, au-delà de la simple cholestérolémie, justifie amplement l'étude des mécanismes responsables de l'impact divergent de la simvastatine et de l'atorvastatine sur les concentrations de HDL-C. En effet, il est maintenant largement accepté que le rapport LDL-C/HDL-C est un bien meilleur marqueur du risque de développer la MCV, comportant à la fois un indice de l'état des voies métaboliques du cholestérol pro- et anti-athérogène. Fait très important à noter ici, la simple

mesure du HDL-C, isolée ou en rapport avec le LDL-C, ne donne toutefois aucun indice sur la qualité du transport inverse du cholestérol qui est garant de l'intégrité anti-inflammatoire et anti-oxydante des particules HDL. En d'autres mots, et on l'a souligné précédemment, des niveaux de HDL-C élevés peuvent, à la limite, témoigner d'un transport inverse du cholestérol partiellement compromis à l'intérieur duquel les HDL auraient un pouvoir anti-athérogène diminué. Comme exemple, citons deux études qui ont démontré que l'inactivation du gène du récepteur sélectif du HDL-C au foie chez la souris, SR-B1, mène à une augmentation significative des taux de HDL-C, mais également au développement précoce de l'athérosclérose. De plus, il est amusant de voir que l'inverse a également été démontré, soit que la suractivation de SR-B1 chez la souris mène à une diminution des niveaux de HDL-C et retarde le développement de l'athérosclérose. Ces deux expériences démontrent donc bien l'importance des HDL par rapport à leur cycle plutôt qu'à la simple mesure des niveaux de HDL-C.

Ainsi, mesurer la cinétique de l'apoA-I de façon conjointe aux concentrations de HDL-C est une excellente façon d'avoir un aperçu de la dynamique générale du transport inverse du cholestérol. Dans notre étude, le traitement à la simvastatine est associé à un taux de production plus élevé de l'apoA-I comparativement à l'atorvastatine alors que le taux de catabolisme de l'apoA-I est similaire pour les deux traitements. Ces données permettent donc de penser que le traitement à la simvastatine augmente davantage la capacité du processus de transport inverse du cholestérol à collecter le cholestérol en périphérie, vu la plus grande quantité d'apoA-I en circulation comparativement à l'atorvastatine. L'intérêt toujours grandissant pour les études de cinétique tient principalement à l'information unique qu'il est possible d'en tirer, i.e. la dynamique des protéines et des lipides dans l'organisme. Cependant, force est d'avouer que ce type d'étude représente une grande quantité de travail et requiert la maîtrise d'un certain nombre de techniques (isolement de protéine, dérivation, modélisation) et d'appareils coûteux (GC-MS). En ce sens, la simplification des méthodes reliées aux études cinétiques mènerait sans doute à une exploration plus poussée de la dynamique du métabolisme des lipides. À l'heure actuelle, il est cependant pratiquement impossible que ce type de mesure soit un jour un outil clinique, considérant l'efficacité relativement bonne des marqueurs déjà utilisés en clinique pour prédire la MCV et la

complexité et les coûts inhérents à l'étude de la cinétique. Dans le domaine de la recherche, par contre, la cinétique est un outil puissant qu'il serait hautement intéressant d'appliquer à des domaines d'études autres que le métabolisme lipidique. Par exemple, toujours en demeurant dans le domaine de la MCV, il serait très pertinent d'étudier la cinétique des protéines impliquées dans la réponse inflammatoire liée à ce type de maladie. Quels moyens physiologiques modulent les niveaux de protéine C-réactive chez les obèses? Quels sont les mécanismes qui modulent la variation des concentrations d'adiponectine chez ces mêmes individus? Des réponses, du moins partielles, à ces questions pourraient être fournies grâce aux outils utilisés dans la réalisation des présents travaux de recherche.

Dans un autre ordre d'idées, on considère aujourd'hui une grande étendue de facteurs pouvant être reliés à la détérioration du métabolisme énergétique et de la condition physique. Parmi ceux-ci se trouvent les niveaux de triglycérides élevés, les niveaux de HDL-C faibles, l'obésité, la résistance à l'insuline menant au diabète de type II, l'hypertension, etc. Ces facteurs forment un ensemble auquel on a attribué la dénomination de « syndrome métabolique ». De ce fait, il n'est plus maintenant question, en clinique comme en recherche, de considérer de façon isolée le cholestérol (total ou LDL), la triglycéridémie ou la résistance à l'insuline dans l'étiologie de la MCV. Le courant de pensée à l'heure actuelle en recherche cardiovasculaire est que tous ces facteurs seraient inter-reliés et témoigneraient tous de la détérioration du métabolisme énergétique. Les plus récentes études montrent à quel point l'incidence de l'obésité est sans cesse croissante au sein des populations industrialisées, et particulièrement en Amérique du Nord.[84] L'adoption progressive et généralisée d'un style de vie hautement sédentaire incluant peu d'activité physique et une alimentation riche en gras saturé et en cholestérol peut expliquer en partie la progression fulgurante de l'incidence de l'obésité et du syndrome métabolique. Au niveau de la société, l'accroissement des coûts reliés à cette explosion de l'obésité et de ses complications stimule grandement la recherche scientifique et mène continuellement à la découverte de nouveaux mécanismes physiologiques, de nouvelles voies métaboliques, qui auraient un rôle à jouer dans la pathogenèse liée la MCV. Cette multiplication des causes possibles de l'athérosclérose mène évidemment à l'allongement de la liste des avenues de traitement et de prévention. Dans un tel contexte, la modulation parallèle de plusieurs facteurs de risque semble le traitement

optimal et les agents thérapeutiques que sont les statines, à cause de leurs effets pléiotropes, représentent un traitement de choix. En guise d'exemple, il a été proposé que la mise en place d'une réponse inflammatoire chronique serait une composante importante dans le développement de la MCV et des études sur les statines ont démontré que ces dernières peuvent potentiellement retarder le déclenchement du processus inflammatoire. Ceci s'ajoute à la liste déjà longue des effets bénéfiques reliés à l'utilisation des statines en clinique. En fait, l'efficacité des statines à réduire la mortalité associée à la maladie coronarienne aiguë est telle qu'on pourrait facilement tracer un parallèle entre leur venue dans le domaine de la médecine moderne et la découverte de la pénicilline et des antibiotiques au début des années 1950. On se rappellera qu'à cette époque la première cause de décès était la maladie infectieuse et l'avènement des antibiotiques avait grandement aidé à réduire le nombre de décès relié à ce type de pathologie. De plus, de la même façon que la recherche a permis l'élaboration d'antibiotiques toujours plus puissants, on a toutes les raisons de croire que prochainement de nouvelles statines avec un potentiel de réduction des concentrations de LDL-C encore plus impressionnant que celui des statines de 3^e génération, tel que l'atorvastatine, feront leur apparition. À ce titre, la Food and Drug Administration des États-Unis a approuvé en août 2003 la commercialisation d'une nouvelle statine produite et commercialisée par la compagnie Astra-Zeneca. Cette statine, la rosuvastatine, dont on a effleuré le nom précédemment, a été démontrée pour apporter des réductions de 8% supérieures des concentrations de LDL-C comparativement à l'atorvastatine, la statine la plus puissante à ce niveau, à dose de 10 à 80 mg/jour. En se référant à la règle du 5-7 mentionnée plus haut, une dose de rosuvastatine de 10 mg/jour équivaut donc à une dose d'atorvastatine supérieure à 20 mg/jour ou à une dose de simvastatine supérieure à 40 mg/jour.[85] De plus, la rosuvastatine induit des augmentations significativement supérieures des niveaux de HDL-C comparativement aux autres statines présentement disponibles. Aucune étude d'intervention n'a encore démontré l'efficacité de la rosuvastatine à réduire l'incidence de la maladie coronarienne mais son importante efficacité à moduler favorablement le profil lipidique indique qu'elle pourrait s'avérer un outil majeur dans le traitement et la prévention des MCV dans un avenir rapproché.

Finalement, il est naturel et d'une importance capitale de souligner, avant de conclure, que la solution au problème de l'explosion de l'incidence de l'obésité et de la maladie cardiovasculaire ne doit pas nécessairement et uniquement passer par une intervention pharmacologique systématique. On rappellera que des études ont clairement démontré que l'assainissement des habitudes de vie, par la pratique d'activités sportives et une alimentation équilibrée, a des bénéfices au niveau de la santé qui se comparent avantageusement aux effets observés sous différents types d'interventions pharmacologiques, dont le traitement aux statines.[48] Il serait donc primordial, au sein des populations à risque comme chez les Nord-Américains, de promouvoir par divers moyens l'adoption d'un style de vie sain.

Conclusion

En conclusion, la grande efficacité des statines pour prévenir et traiter la MCV été démontrée. Leur efficacité réside dans leur forte capacité à réduire les niveaux de LDL-C en circulation. Des études ont rapporté que la capacité des statines à augmenter les concentrations de HDL-C est un autre effet bénéfique majeur de ce type de traitement pharmacologique. À ce sujet, des études ont démontré que la simvastatine et l'atorvastatine, les deux statines les plus populaires en clinique, n'ont pas le même impact sur les concentrations de HDL-C à hautes doses. Nos travaux expliquent, du moins en partie, cette différence d'impact par un taux de production et une quantité totale d'apoA-I en circulation plus élevés sous traitement à la simvastatine que sous atorvastatine. En terminant, malgré l'efficacité et le perfectionnement constant du traitement pharmaceutique de la MCV, l'assainissement des habitudes de vie (exercice et alimentation) devrait être au cœur des discussions entourant l'établissement de mesures visant à diminuer l'incidence de ce type de maladie dans les populations industrialisées.

Références

1. Murray, C.J. and A.D. Lopez, *Mortality by cause for eight regions of the world: Global Burden of Disease Study*. Lancet, 1997. **349**(9061): p. 1269-76.
2. Srivastava, R.A. and N. Srivastava, *High density lipoprotein, apolipoprotein A-I, and coronary artery disease*. Mol Cell Biochem, 2000. **209**(1-2): p. 131-44.
3. Genest, J., Jr. and J. Cohn, *Plasma triglyceride-rich lipoprotein and high density lipoproteins disorders associated with atherosclerosis*. J Investig Med, 1998. **46**(8): p. 351-8.
4. Assmann, G. and J.R. Nofer, *Atheroprotective effects of high-density lipoproteins*. Annu Rev Med, 2003. **54**: p. 321-41.
5. Ginsberg, H.N., *Nonpharmacologic management of low levels of high-density lipoprotein cholesterol*. Am J Cardiol, 2000. **86**(12A): p. 41L-45L.
6. Rubins, H.B., et al., *Gemfibrozil for the secondary prevention of coronary heart disease in men with low levels of high-density lipoprotein cholesterol. Veterans Affairs High-Density Lipoprotein Cholesterol Intervention Trial Study Group*. N Engl J Med, 1999. **341**(6): p. 410-8.
7. Wierzbicki, A.S. and D.P. Mikhailidis, *Dose-response effects of atorvastatin and simvastatin on high-density lipoprotein cholesterol in hypercholesterolaemic patients: a review of five comparative studies*. Int J Cardiol, 2002. **84**(1): p. 53-7.
8. Genest, J., *Lipoprotein disorders and cardiovascular risk*. J Inherit Metab Dis, 2003. **26**(2-3): p. 267-87.
9. Gagné C., G.D., *Les dyslipoprotéïnémies: l'approche clinique*. 2e ed, ed. M.F. Canada. 1997. 157.
10. Tulenko, T.N. and A.E. Sumner, *The physiology of lipoproteins*. J Nucl Cardiol, 2002. **9**(6): p. 638-49.
11. Steiner, A., *Cholesterol in arteriosclerosis with special reference to coronary arteriosclerosis*. Med Clin North Am, 1950. **34**(3): p. 673-83.
12. Croston, G.E., et al., *Androgen receptor-mediated antagonism of estrogen-dependent low density lipoprotein receptor transcription in cultured hepatocytes*. Endocrinology, 1997. **138**(9): p. 3779-86.
13. Herz, J., et al., *Surface location and high affinity for calcium of a 500-kd liver membrane protein closely related to the LDL-receptor suggest a physiological role as lipoprotein receptor*. Embo J, 1988. **7**(13): p. 4119-27.
14. Mann, C.J., et al., *Inhibitory effects of specific apolipoprotein C-III isoforms on the binding of triglyceride-rich lipoproteins to the lipolysis-stimulated receptor*. J Biol Chem, 1997. **272**(50): p. 31348-54.
15. Slater, J. and V. Rill, *Coronary artery disease: new insights into the pathophysiology, prevalence, and early detection of a monster menace*. Semin Ultrasound CT MR, 2004. **25**(2): p. 113-21.
16. Williams, K.J. and I. Tabas, *The response-to-retention hypothesis of early atherogenesis*. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 1995. **15**(5): p. 551-61.
17. von Eckardstein, A., J.R. Nofer, and G. Assmann, *High density lipoproteins and arteriosclerosis. Role of cholesterol efflux and reverse cholesterol transport*. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2001. **21**(1): p. 13-27.

18. Fielding, C.J. and P.E. Fielding, *Cellular cholesterol efflux*. *Biochim Biophys Acta*, 2001. **1533**(3): p. 175-89.
19. Rothblat, G.H., et al., *Cell cholesterol efflux: integration of old and new observations provides new insights*. *J Lipid Res*, 1999. **40**(5): p. 781-96.
20. de la Llera-Moya, M., et al., *Scavenger receptor BI (SR-BI) mediates free cholesterol flux independently of HDL tethering to the cell surface*. *J Lipid Res*, 1999. **40**(3): p. 575-80.
21. Hara, S., et al., *Lysophosphatidylcholine promotes cholesterol efflux from mouse macrophage foam cells*. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 1997. **17**(7): p. 1258-66.
22. Zha, X., et al., *Secretory vesicular transport from the Golgi is altered during ATP-binding cassette protein A1 (ABCA1)-mediated cholesterol efflux*. *J Biol Chem*, 2003. **278**(12): p. 10002-5.
23. Asztalos, B., et al., *Role of free apolipoprotein A-I in cholesterol efflux. Formation of pre-alpha-migrating high-density lipoprotein particles*. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 1997. **17**(9): p. 1630-6.
24. Stein, O. and Y. Stein, *Atheroprotective mechanisms of HDL*. *Atherosclerosis*, 1999. **144**(2): p. 285-301.
25. Francis, G.A., R.H. Knopp, and J.F. Oram, *Defective removal of cellular cholesterol and phospholipids by apolipoprotein A-I in Tangier disease*. *J Clin Invest*, 1995. **96**(1): p. 78-87.
26. Brooks-Wilson, A., et al., *Mutations in ABCA1 in Tangier disease and familial high-density lipoprotein deficiency*. *Nat Genet*, 1999. **22**(4): p. 336-45.
27. Aiello, R.J., et al., *Increased atherosclerosis in hyperlipidemic mice with inactivation of ABCA1 in macrophages*. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2002. **22**(4): p. 630-7.
28. Conrad, P.A., et al., *Caveolin cycles between plasma membrane caveolae and the Golgi complex by microtubule-dependent and microtubule-independent steps*. *J Cell Biol*, 1995. **131**(6 Pt 1): p. 1421-33.
29. Fielding, C.J., A. Bist, and P.E. Fielding, *Caveolin mRNA levels are up-regulated by free cholesterol and down-regulated by oxysterols in fibroblast monolayers*. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1997. **94**(8): p. 3753-8.
30. Babbitt, J., et al., *Murine SR-BI, a high density lipoprotein receptor that mediates selective lipid uptake, is N-glycosylated and fatty acylated and colocalizes with plasma membrane caveolae*. *J Biol Chem*, 1997. **272**(20): p. 13242-9.
31. Ng, D.S., *Insight into the Role of LCAT from Mouse Models*. *Rev Endocr Metab Disord*, 2004. **5**(4): p. 311-8.
32. Breznan, D., et al., *The lipid composition of high-density lipoprotein affects its re-absorption in the kidney by proximal tubule epithelial cells*. *Biochem J*, 2004. **379**(Pt 2): p. 343-9.
33. Kalopissis, A.D. and J. Chambaz, *Transgenic animals with altered high-density lipoprotein composition and functions*. *Curr Opin Lipidol*, 2000. **11**(2): p. 149-53.
34. O'Connell, B.J. and J. Genest, Jr., *High-density lipoproteins and endothelial function*. *Circulation*, 2001. **104**(16): p. 1978-83.
35. Drexler, H., *Endothelial dysfunction: clinical implications*. *Prog Cardiovasc Dis*, 1997. **39**(4): p. 287-324.
36. Yuhanna, I.S., et al., *High-density lipoprotein binding to scavenger receptor-BI activates endothelial nitric oxide synthase*. *Nat Med*, 2001. **7**(7): p. 853-7.

37. Spieker, L.E., et al., *High-density lipoprotein restores endothelial function in hypercholesterolemic men*. *Circulation*, 2002. **105**(12): p. 1399-402.
38. Nofer, J.R., et al., *High density lipoprotein-associated lysosphingolipids reduce E-selectin expression in human endothelial cells*. *Biochem Biophys Res Commun*, 2003. **310**(1): p. 98-103.
39. Nofer, J.R., et al., *Suppression of endothelial cell apoptosis by high density lipoproteins (HDL) and HDL-associated lysosphingolipids*. *J Biol Chem*, 2001. **276**(37): p. 34480-5.
40. Tamagaki, T., et al., *Effects of high-density lipoproteins on intracellular pH and proliferation of human vascular endothelial cells*. *Atherosclerosis*, 1996. **123**(1-2): p. 73-82.
41. Kimura, T., et al., *Sphingosine 1-phosphate may be a major component of plasma lipoproteins responsible for the cytoprotective actions in human umbilical vein endothelial cells*. *J Biol Chem*, 2001. **276**(34): p. 31780-5.
42. Navab, M., et al., *HDL and the inflammatory response induced by LDL-derived oxidized phospholipids*. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2001. **21**(4): p. 481-8.
43. Zhu, H., et al., *Low density lipoprotein receptor-related protein-mediated membrane translocation of 12/15-lipoxygenase is required for oxidation of low density lipoprotein by macrophages*. *J Biol Chem*, 2003. **278**(15): p. 13350-5.
44. Navab, M., et al., *Normal high density lipoprotein inhibits three steps in the formation of mildly oxidized low density lipoprotein: steps 2 and 3*. *J Lipid Res*, 2000. **41**(9): p. 1495-508.
45. Durrington, P.N., B. Mackness, and M.I. Mackness, *Paraoxonase and atherosclerosis*. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2001. **21**(4): p. 473-80.
46. Navab, M., et al., *Mildly oxidized LDL induces an increased apolipoprotein J/paraoxonase ratio*. *J Clin Invest*, 1997. **99**(8): p. 2005-19.
47. Navab, M., et al., *The Yin and Yang of oxidation in the development of the fatty streak. A review based on the 1994 George Lyman Duff Memorial Lecture*. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 1996. **16**(7): p. 831-42.
48. Zimmet, P. and C.R. Thomas, *Genotype, obesity and cardiovascular disease--has technical and social advancement outstripped evolution?* *J Intern Med*, 2003. **254**(2): p. 114-25.
49. Barter, P., *HDL: a recipe for longevity*. *Atheroscler Suppl*, 2004. **5**(2): p. 25-31.
50. Bocher, V., et al., *PPARs: transcription factors controlling lipid and lipoprotein metabolism*. *Ann N Y Acad Sci*, 2002. **967**: p. 7-18.
51. von Eckardstein, A. and G. Assmann, *Prevention of coronary heart disease by raising high-density lipoprotein cholesterol?* *Curr Opin Lipidol*, 2000. **11**(6): p. 627-37.
52. 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.
53. Farnier, M., *Place des différentes statines*. *La Presse Médicale*, 1999. **28**(36): p. 2002-2010.
54. Stein, E.A., M. Lane, and P. Laskarzewski, *Comparison of statins in hypertriglyceridemia*. *Am J Cardiol*, 1998. **81**(4A): p. 66B-69B.
55. Wierzbicki, A.S., R. Poston, and A. Ferro, *The lipid and non-lipid effects of statins*. *Pharmacol Ther*, 2003. **99**(1): p. 95-112.

56. Shepherd, J., et al., *Prevention of coronary heart disease with pravastatin in men with hypercholesterolemia. West of Scotland Coronary Prevention Study Group.* N Engl J Med, 1995. **333**(20): p. 1301-7.
57. Downs, J.R., et al., *Primary prevention of acute coronary events with lovastatin in men and women with average cholesterol levels: results of AFCAPS/TEXCAPS. Air Force/Texas Coronary Atherosclerosis Prevention Study.* JAMA, 1998. **279**(20): p. 1615-22.
58. *Scandinavian Simvastatin Survival Study Group. Randomised trial of cholesterol lowering in 4444 patients with coronary heart disease: the Scandinavian Simvastatin Survival Study (4S).* Lancet, 1994. **344**(8934): p. 1383-9.
59. Sacks, F.M., et al., *The effect of pravastatin on coronary events after myocardial infarction in patients with average cholesterol levels. Cholesterol and Recurrent Events Trial investigators.* N Engl J Med, 1996. **335**(14): p. 1001-9.
60. *Prevention of cardiovascular events and death with pravastatin in patients with coronary heart disease and a broad range of initial cholesterol levels. The Long-Term Intervention with Pravastatin in Ischaemic Disease (LIPID) Study Group.* N Engl J Med, 1998. **339**(19): p. 1349-57.
61. Collins, R., et al., *Effects of cholesterol-lowering with simvastatin on stroke and other major vascular events in 20536 people with cerebrovascular disease or other high-risk conditions.* Lancet, 2004. **363**(9411): p. 757-67.
62. Ridker, P.M., et al., *Long-term effects of pravastatin on plasma concentration of C-reactive protein. The Cholesterol and Recurrent Events (CARE) Investigators.* Circulation, 1999. **100**(3): p. 230-5.
63. Ikeda, U. and K. Shimada, *Statins and monocytes.* Lancet, 1999. **353**(9169): p. 2070.
64. Negre-Aminou, P., et al., *Inhibition of proliferation of human smooth muscle cells by various HMG-CoA reductase inhibitors; comparison with other human cell types.* Biochim Biophys Acta, 1997. **1345**(3): p. 259-68.
65. Bellosta, S., et al., *HMG-CoA reductase inhibitors reduce MMP-9 secretion by macrophages.* Arterioscler Thromb Vasc Biol, 1998. **18**(11): p. 1671-8.
66. Jones, P., et al., *Comparative dose efficacy study of atorvastatin versus simvastatin, pravastatin, lovastatin, and fluvastatin in patients with hypercholesterolemia (the CURVES study).* Am J Cardiol, 1998. **81**(5): p. 582-7.
67. Kastelein, J.J., et al., *Comparison of effects of simvastatin versus atorvastatin on high-density lipoprotein cholesterol and apolipoprotein A-I levels.* Am J Cardiol, 2000. **86**(2): p. 221-3.
68. Ballantyne, C.M., et al., *Effect on high-density lipoprotein cholesterol of maximum dose simvastatin and atorvastatin in patients with hypercholesterolemia: results of the Comparative HDL Efficacy and Safety Study (CHESS).* Am Heart J, 2003. **146**(5): p. 862-9.
69. Jones, P.H., et al., *Comparison of the efficacy and safety of rosuvastatin versus atorvastatin, simvastatin, and pravastatin across doses (STELLAR* Trial).* Am J Cardiol, 2003. **92**(2): p. 152-60.
70. Hunninghake, D.B., et al., *Comparative effects of simvastatin and atorvastatin in hypercholesterolemic patients with characteristics of metabolic syndrome.* Clin Ther, 2003. **25**(6): p. 1670-86.

71. Wolfe, R.R., *Radioactive and stable isotope tracers in medicine. Principles and practice of kinetic analysis.* 1992.
72. Brinton, E.A., S. Eisenberg, and J.L. Breslow, *Elevated high density lipoprotein cholesterol levels correlate with decreased apolipoprotein A-I and A-II fractional catabolic rate in women.* J Clin Invest, 1989. **84**(1): p. 262-9.
73. Brinton, E.A., S. Eisenberg, and J.L. Breslow, *Increased apo A-I and apo A-II fractional catabolic rate in patients with low high density lipoprotein-cholesterol levels with or without hypertriglyceridemia.* J Clin Invest, 1991. **87**(2): p. 536-44.
74. Brinton, E.A., S. Eisenberg, and J.L. Breslow, *Human HDL cholesterol levels are determined by apoA-I fractional catabolic rate, which correlates inversely with estimates of HDL particle size. Effects of gender, hepatic and lipoprotein lipases, triglyceride and insulin levels, and body fat distribution.* Arterioscler Thromb, 1994. **14**(5): p. 707-20.
75. Pont, F., et al., *High-density lipoprotein apolipoprotein A-I kinetics in obese insulin resistant patients. An in vivo stable isotope study.* Int J Obes Relat Metab Disord, 2002. **26**(9): p. 1151-8.
76. Lamarche, B., et al., *Triglyceride enrichment of HDL enhances in vivo metabolic clearance of HDL apo A-I in healthy men.* J Clin Invest, 1999. **103**(8): p. 1191-9.
77. Rashid, S., et al., *Lipolytically modified triglyceride-enriched HDLs are rapidly cleared from the circulation.* Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2002. **22**(3): p. 483-7.
78. Velez-Carrasco, W., et al., *Dietary restriction of saturated fat and cholesterol decreases HDL ApoA-I secretion.* Arterioscler Thromb Vasc Biol, 1999. **19**(4): p. 918-24.
79. Brinton, E.A., S. Eisenberg, and J.L. Breslow, *A low-fat diet decreases high density lipoprotein (HDL) cholesterol levels by decreasing HDL apolipoprotein transport rates.* J Clin Invest, 1990. **85**(1): p. 144-51.
80. Schaefer, J.R., et al., *Metabolic basis of high density lipoproteins and apolipoprotein A-I increase by HMG-CoA reductase inhibition in healthy subjects and a patient with coronary artery disease.* Atherosclerosis, 1999. **144**(1): p. 177-84.
81. Watts, G.F., et al., *Differential regulation of lipoprotein kinetics by atorvastatin and fenofibrate in subjects with the metabolic syndrome.* Diabetes, 2003. **52**(3): p. 803-11.
82. Bilz, S., et al., *Effects of atorvastatin versus fenofibrate on apoB-100 and apoA-I kinetics in mixed hyperlipidemia.* J Lipid Res, 2004. **45**(1): p. 174-85.
83. Welty, F.K., et al., *Interrelationships between human apolipoprotein A-I and apolipoproteins B-48 and B-100 kinetics using stable isotopes.* Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2004. **24**(9): p. 1703-7.
84. *The obesity epidemic, metabolic syndrome and future prevention strategies.* Eur J Cardiovasc Prev Rehabil, 2004. **11**(1): p. 3-8.
85. Scott, L.J., M.P. Curran, and D.P. Figgitt, *Rosuvastatin: a review of its use in the management of dyslipidemia.* Am J Cardiovasc Drugs, 2004. **4**(2): p. 117-38.