

JULIE RIOPEL-MEUNIER

**LES EFFETS D'UNE SUPPLÉMENTATION EN
HUILE DE POISSON ET/OU JUS DE
CANNEBERGES SUR LA FONCTION
ENDOTHÉLIALE 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.)

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

2008

RÉSUMÉ

Les travaux présentés dans ce mémoire ont pour but d'examiner les effets d'une supplémentation en huile de poisson (FO) avec ou sans consommation en jus de canneberges (JC) sur la vasodilatation de l'artère brachiale induite par une hyperémie (FMD) provoquée chez l'homme. Pour cela, 86 hommes ont été divisés aléatoirement en 4 groupes : 1) placebo, n=16, 2) 500mL/jour JC, n=23, 3) 2.3g/jour FO, n=22 et 4) FO+JC, n=25. La FMD a été mesurée avant et après l'intervention par une échographie de l'artère brachiale. Les mesures ont été effectuées au repos ainsi que 60 et 90 secondes suivant l'hyperémie. Nous avons observé que la valeur au repos, FMD60 et FMD90 étaient significativement différentes entre le début et la fin uniquement pour le groupe ayant consommé du JC. Toutefois aucune différence significative n'a été observée pour les groupes ayant consommé des FO et FO*JC. Nous avons aussi observé que les changements de FMD60 et FMD90 ainsi que celles avec nitroglycérine sublinguale étaient négativement associés avec le diamètre artériel brachial.

AVANT-PROPOS

Je redoutais le moment d'écrire cette page puisque cette page annonce la fin. La fin d'un très beau périple dans l'univers de l'INAF. Je me rappelle encore mes premiers pas dans ce pavillon où nouvellement arrivée à Québec, je me trouvais un emploi-étudiant à préparer des repas pour les participants. Rien n'arrive pour rien que je me suis dit et en effet, rien n'arrive pour rien puisque j'ai eu la piqûre pour la recherche, pour ce monde où dépassement rime avec horaire de la journée. Merci Amélie de m'avoir si bien accueilli dans ton équipe et d'avoir répondu à mes si nombreuses interrogations face aux études graduées... merci Sandra de m'avoir écouté, de m'avoir fait rire, tu es ma François Pérusse au féminin! Quelques sessions plus tard, je continuais mon périple à l'INAF en tant, cette fois-ci, qu'étudiante à la maîtrise au sein d'une équipe qui m'a fait sentir chez moi. Une Aglaée d'un calme exemplaire, un Guillaume à qui la vie ne fait pas peur et dont le vin n'a aucun secret (même dans un tiroir! ☺) et une Sonia, professionnelle de recherche, qui n'a pas tardé à devenir plus qu'un « boss », elle est devenue une amie. À vous trois, mille mercis pour notre belle complicité, nos dîners et tout simplement votre présence. Cette équipe n'aurait pas pu se concrétiser si quelqu'un ne l'avait pas formé: Charles. Je me rappelle encore le stress que j'éprouvais en rentrant dans ton bureau pour te demander à la fin de mon stage si je pouvais poursuivre à la maîtrise au sein de ton équipe. Quel privilège et surtout quelle fierté j'ai éprouvé à ce moment. Et encore aujourd'hui, je suis très fière d'avoir fait partie de ton équipe. Il me semble que tout paraissait simple, j'aurais continué au doctorat à t'entendre parler tellement tout semblait facile! ☺ Merci Charles pour ta si grande écoute, ton énorme disponibilité et ton sens de l'humour qui a su me faire rire lorsque j'en avais besoin.

Mes années à l'INAF sont synonymes de tant de plaisir et de beaux moments dont les soupers arrosés de vin dans un des nombreux restaurants asiatiques de Québec et les dîners sushis. Merci à Dr Jean-Charles qui me parle toujours malgré son titre rendu officiel, merci à Mélissa de m'avoir fait découvrir Wasabi... merci à Iris, la team Portfolio, pour ton oreille, nos histoires de chats, nos escapades à vélos... merci à Annie L., Rosanne., mini-Annie, Geneviève, Hélène. À vous tous, vous avez été ma famille d'accueil de Québec.

L'étape INAF est terminée, mais je souhaite plus que tout au monde que notre amitié perdure...

Et que dire des amitiés qui perdurent... depuis le bac, Cat, Djou, Sarah, Audrey, Maryse et Chantal, vous avez été mes moments d'évasion. Si vous saviez combien de fois, vous m'avez fait décompresser et juste apprécier la vie sans ses tracas... Que la vie est belle entourée de votre amitié! Sab, Karine, Jo, Ju, Élise...mes vieilles sœurs cosmiques... malgré la distance, j'ai toujours su que vous étiez là pour moi... on est relié par les astres! Bébés, emplois, vie conjugale... nous sommes toutes plus ou moins rendues là et je sais que malgré nos horaires chargés, rien ne nous fera perdre nos vieilles traditions, nos cafés, notre complicité. ☺

Maman, Papa, Annie, chacun votre tour, vous avez été des modèles pour moi. Maman, j'ai réussi, et je sais que tu as toujours cru en moi, en mes capacités, même quand moi j'en doutais... comment as-tu su? Merci pour ton appui et tout ton amour... Papa, depuis que je suis toute petite une blague n'attend pas l'autre et quel merveilleux remède contre les inquiétudes de la vie... Je l'ai toujours dit, « le plus fort, c'est mon père »... ☺ Annie, ma sœur, je n'ai qu'un souhait, être capable un jour de te rendre l'appareil... merci d'avoir hérité de l'humour de papa et merci d'être un si beau modèle pour moi.

Eric...je ne sais pas par où commencer et surtout comment le dire... merci toi aussi d'avoir cru en moi, de m'avoir tellement encouragé et d'avoir passé certains moments à jouer à tes jeux vidéo sans son simplement pour ne pas me déranger... Tu as toujours été mon petit havre où me réfugier par beaux ou mauvais temps... Merci de m'apprendre tant de chose sur la vie et de me permettre de m'épanouir de plus en plus chaque jour...La vie à tes côtés me rend si heureuse et moi aussi, je sais que de très belles choses nous attendent... je suis là à tes côtés, c'est déjà bien commencé! Je t'aime tant...

Merci à vous tous, merci de tout cœur... c'est la fin d'un chapitre, mais l'histoire continue...

TABLE DES MATIÈRES

RÉSUMÉ.....	ii
AVANT-PROPOS.....	iii
TABLE DES MATIÈRES.....	v
LISTE DES TABLEAUX.....	vii
LISTE DES FIGURES.....	viii
LISTE DES ABBRÉVIATIONS.....	ix
CHAPITRE 1 : INTRODUCTION GÉNÉRALE.....	10
CHAPITRE 2 : ATHÉROSCLÉROSE.....	13
2.1 LA PROGRESSION DE LA PLAQUE D'ATHÉROSCLÉROSE.....	13
2.1.1 La formation.....	13
2.1.2 L'évolution.....	16
2.2 FACTEURS DE RISQUE.....	18
2.2.1 Facteurs traditionnels.....	18
2.2.2 Non traditionnels.....	24
CHAPITRE 3 : LA DYSFONCTION ENDOTHÉLIALE, LE STRESS OXYDATIF ET LE RÉGIME ALIMENTAIRE.....	28
3.1 ARTÈRE NORMALE.....	28
3.1.1 L'endothélium.....	28
3.2 DYSFONCTION ENDOTHÉLIALE.....	33
3.3 LE STRESS OXYDATIF.....	35
3.4 L'INFLUENCE DU RÉGIME ALIMENTAIRE SUR LE STRESS OXYDATIF ET LA DYSFONCTION ENDOTHÉLIALE.....	37
3.4.1 Fruits et légumes.....	37
3.4.2 Consommation de poisson.....	39
3.5 DYSFONCTION ENDOTHÉLIALE : MESURE D'ÉVALUATION.....	41
CHAPITRE 4 : LES EFFETS DE L'ALIMENTATION SUR LA SANTÉ CARDIOVASCULAIRE.....	48
4.1 LES ACIDES GRAS POLYINSATURÉS OMÉGA-3.....	48
4.1.1 Les principales sources.....	48
4.1.2 La dose et la forme d'administration.....	50
4.1.3 Les mécanismes d'action.....	50
4.1.4 Les effets cardioprotecteurs des acides gras polyinsaturés oméga-3.....	51
4.1.5 Les effets des acides gras polyinsaturés oméga-3 sur la fonction endothéliale.....	53
4.2 POLYPHÉNOLS CONTENUS DANS LA CANNEBERGE.....	54
4.2.1 Les principaux composés.....	55

4.2.2 La dose et la forme d'administration.....	55
4.2.3 Les mécanismes d'action	56
4.2.4 Les effets cardioprotecteurs des canneberges	57
4.2.5 Les effets des canneberges sur la fonction endothéliale	59
CHAPITRE 5 : OBJECTIFS ET HYPOTHÈSES.....	64
CHAPITRE 6 : LES EFFETS D'UNE SUPPLÉMENTATION EN HUILE DE POISSON ET/OU JUS DE CANNEBERGES SUR LA FONCTION ENDOTHÉLIALE CHEZ L'HOMME	65
CHAPITRE 7 : CONCLUSION GÉNÉRALE.....	86
CHAPITRE 8 : BIBLIOGRAPHIE	91

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1. Facteurs circulants utilisés comme marqueurs biologiques de la fonction endothéliale.

Tableau 2. Risque relatif de MCV en fonction de la consommation de fruits et légumes.

Tableau 3. Effets cardioprotecteurs des oméga-3.

Tableau 4. Études des effets de la canneberge sur le risque de MCV chez l'humain.

LISTE DES FIGURES

Figure 1. Évolution de la plaque d'athérosclérose.

Figure 2. Contribution des LDL oxydées à l'athérogénèse.

Figure 3. Voie de synthèse du NO par la synthèse de l'oxyde nitrique dans la cellule productrice et activation du GMPc dans la cellule réceptrice.

Figure 4. La vasodilatation par le NO peut être dépendante et indépendante de l'endothélium.

Figure 5. Le rôle de la dysfonction endothéliale dans la pathogénèse d'événement cardiovasculaire.

Figure 6. Des modifications oxydatives des LDL seraient responsables de l'athérosclérose.

Figure 7. Le métabolisme des gras essentiels.

Figure 8. Effet des polyphénols dans le maintien de l'intégrité de l'endothélium vasculaire.

LISTE DES ABBRÉVIATIONS

MCV :	Maladies cardiovasculaires
ADH :	Acide docosahexaénoïque (<i>Docosahexaenoic acid</i>)
AEP :	Acide eicosapentaénoïque (<i>Eicosapentaenoic acid</i>)
VCAM -1:	Molécule d'adhésion de cellule vasculaire (<i>Vascular adhesion molecules</i>)
ICAM-1 :	Molécule d'adhésion intercellulaire (<i>Intracellular adhesion molecules</i>)
LDL :	Lipoprotéine de faible densité (<i>Low density lipoprotein</i>)
HDL :	Lipoprotéine de haute densité (<i>High density lipoprotein</i>)
NO :	Oxyde nitrique (<i>Nitric oxide</i>)
ROS :	Espèce réactive de l'oxygène (<i>Reactive oxygen species</i>)
HTA :	Hypertension artérielle
ET-1 :	Endothéline
FMD :	Vasodilatation induite par hyperémie (<i>Flow-mediated vasodilation</i>)
FO :	Huile de poisson (<i>Fish oil</i>)
JC :	Jus de canneberges
TG :	Triglycérides
CRP :	Protéine C réactive (<i>C-reactive protein</i>)

CHAPITRE 1 : INTRODUCTION GÉNÉRALE

Les maladies cardiovasculaires (MCV) constituent la première cause de mortalité dans la société moderne (1) ainsi qu'au Canada où environ 3 décès sur 10 à chaque année sont liés aux MCV (2). De nombreuses études ont permis d'identifier les principaux facteurs de risque associés à la maladie tout comme plusieurs publications et rapports en font état (2;3). Bien qu'il soit impossible de modifier l'âge, le sexe et l'hérédité, il est par contre possible d'agir sur les autres facteurs de risque tels le tabagisme, la sédentarité, l'excès de poids, l'hypertension, l'hypercholestérolémie, le diabète (type 1 et 2) et le stress.

Le point de départ de ces pathologies semble être l'endothélium vasculaire. En effet, l'activité de cette couche cellulaire tapissant les vaisseaux sanguins est souvent altérée dans diverses conditions telles le diabète, l'hypercholestérolémie, l'hypertension, et le tabagisme (4). Dès lors, les cellules endothéliales constituent une cible privilégiée afin de prévenir les divers troubles rencontrés au niveau du système vasculaire.

Les risques cardiovasculaires sont liés généralement aux lipoprotéines de faible densité (LDL) que l'on surnomme «tueur silencieux» à cause des conséquences de son accumulation pathologique sur la paroi interne des artères. L'athérosclérose est une de ces manifestations. L'athérosclérose concerne un ensemble de dérèglements qui se caractérisent par la modification des parois artérielles causée par des plaques d'athérome. Ces dernières entraînent l'épaississement, l'endurcissement et la fragilisation des parois artérielles, provoquant soit leur obstruction, soit leur rupture, et causant des dégâts d'une très grande gravité, souvent mortels. Le cholestérol LDL et son oxydation jouent un rôle important dans la formation des plaques d'athérome. Il y a oxydation du cholestérol en raison du stress oxydatif. Le stress oxydatif est en fait un déséquilibre entre les antioxydants et les radicaux libres en faveur des seconds. Les radicaux libres sont impliqués dans l'oxydation de plusieurs substances dans l'organisme.

L'athérosclérose peut être considérée comme une conséquence à long terme d'une condition inflammatoire chronique des artères principales (5), dans laquelle la dysfonction endothéliale (6) joue un rôle clef. La fonction endothéliale est évaluée dans la circulation coronarienne par la mesure de la réactivité vasculaire.

L'alimentation a un impact majeur sur le profil de risque de MCV et notamment sur les concentrations circulantes de lipides et lipoprotéines. Les spécialistes de la santé encouragent la consommation d'acides gras mono/polyinsaturés en remplacement des gras saturés et *trans*. Entre autre, la consommation régulière de poissons et d'huile de poissons (riche en acide eicosapentaénoïque (EPA) et docosahexaénoïque (DHA)) améliorent le profil lipidique (particulièrement les TG plasmatiques) et diminuent le risque global de MCV (7). Les études épidémiologiques relatives à la consommation d'aliments contenant une concentration élevée d'oméga-3, comme le poisson, ont clairement démontré que ces aliments étaient responsables d'une baisse de la survenue de MCV. Le type de lipide consommé peut avoir un impact important sur la fonction endothéliale (8;9). Une alimentation riche en acides gras oméga-3 peut améliorer la vasodilatation de l'endothélium-dépendant contrairement aux acides gras saturés et *trans* qui peuvent la détériorer.

Lors des dernières années, le stress oxydatif a été pointé du doigt comme étant la cause principale de la dysfonction endothéliale dans l'athérosclérose (10). Toutefois, en plus de contribuer à la quantité de fibres de la diète, il semble qu'une grande consommation de fruits et de légumes fournisse de nombreux composés antioxydants responsables, du moins en partie, de la diminution du risque de MCV chez les individus consommant beaucoup de fruits et légumes (11). Les antioxydants sont des substances chimiques qui empêchent les radicaux libres d'oxyder notre matériel physiologique et donc, empêchent nos molécules d'être endommagées. Les polyphénols sont des molécules aux propriétés antioxydantes qui, de façon particulière, aident à lutter contre les radicaux libres et à se protéger du cancer, des MCV. On les retrouve en abondance à l'état naturel dans les fruits, les légumes, le thé vert, le vin rouge et le cacao.

L'objectif spécifique de ce mémoire est donc d'observer l'effet d'une supplémentation en acides gras oméga-3 et/ou jus de canneberge sur la fonction endothéliale chez une cohorte d'hommes en santé présentant de l'obésité abdominale.

Ce mémoire comporte plusieurs sections. Une revue de la littérature s'attardant principalement aux facteurs de risque et à la formation de l'athérosclérose est d'abord présentée au chapitre 2. Ensuite, les liens unissant la dysfonction endothéliale, le stress oxydatif et l'alimentation seront présentés au chapitre 3. Par la suite, les effets de l'alimentation sur la santé cardiovasculaire et la fonction endothéliale seront expliqués dans le chapitre 4. Les résultats de mon projet sont présentés sous forme d'un article original qui sera soumis en cours d'année 2009. Finalement, la dernière partie repose sur la discussion et la conclusion de ces travaux en lien avec les applications cliniques.

CHAPITRE 2 : ATHÉROSCLÉROSE

L'athérosclérose est un processus pathologique qui conduit à l'épaississement de la paroi de l'intima des artères. Les dépôts de cholestérol dans la paroi artérielle déclenchent des phénomènes complexes qui aboutissent à la formation des plaques d'athérome. Ces plaques formées de cholestérol, de protéines et de diverses cellules, peuvent progressivement réduire la lumière de l'artère et provoquer un accident vasculaire. L'athérosclérose est donc la cause sous-jacente de la majeure partie des problèmes cardiaques et circulatoires graves. L'athérosclérose est responsable de la plus grande partie des décès dans les pays occidentalisés et apparaît en nette progression dans les pays en voie de développement, comme si cette maladie était le reflet du progrès social. Elle apparaît comme une maladie dégénérative de l'être humain, vraisemblablement responsable depuis toujours, avec les pathologies valvulaires, de la majorité des MCV. Si les pathologies valvulaires rhumatismales ont aujourd'hui presque disparu des pays développés, l'athérosclérose reste quant à elle toujours présente et toujours aussi meurtrière.

2.1 LA PROGRESSION DE LA PLAQUE D'ATHÉROSCLÉROSE

La plaque d'athérosclérose se développe au sein de la paroi vasculaire. Les mécanismes de sa formation sont complexes : les acteurs clés de cette formation sont les lipoprotéines et l'inflammation. Les principales lipoprotéines impliquées sont les LDL, dont les transformations sont à l'origine de leur athérogénicité, densification, oxydation ou transformation enzymatiques. Les mécanismes inflammatoires sont également impliqués dans l'athérogénèse.

2.1.1 La formation

La description de l'athérosclérose fait intervenir plusieurs stades évolutifs successifs : la strie lipidique, la lésion fibro-lipidique et la plaque compliquée. Les acteurs qui jouent un rôle prépondérant dans la genèse de la plaque sont maintenant connus : les lipoprotéines et 4 types cellulaires : les macrophages, les cellules endothéliales, les cellules musculaires lisses et les lymphocytes. Plusieurs mécanismes s'associent pour aboutir à la formation de

la plaque : la pénétration des lipoprotéines dans l'intima artériel ; le recrutement des monocytes et leur transformation en macrophages, puis en cellules spumeuses ; la réaction inflammatoire ; enfin, la formation de la chape fibreuse (ou fibromusculaire).

La toute première étape de l'athérosclérose est l'accumulation des LDL dans l'intima (voir figure 1 A). Il s'agit d'un phénomène passif qui est secondaire à un déséquilibre entre les entrées et les sorties ; la quantité de LDL dans la circulation est un élément déterminant de la formation des plaques d'athérosclérose. Cette phase d'infiltration lipidique est suivie de modifications oxydatives des LDL. Il s'agit d'une étape absolument indispensable à la formation de la plaque ; en effet, la présence de macrophages dans la paroi vasculaire semble liée à la présence de LDL oxydées. L'oxydation des LDL se déroule, dans l'espace intimal, et fait intervenir différents mécanismes enzymatiques et non enzymatiques (12).

La deuxième phase implique les monocytes circulants qui adhèrent à la surface de l'endothélium (voir figure 1 B), le traversent et se transforment en macrophages, puis en cellules spumeuses. L'endothélium normal a les capacités d'inhiber l'adhésion des monocytes circulants ; le recrutement des monocytes circulants passe donc par une étape de « dysfonction » et/ou « d'activation » endothéliale. Cette activation qui conduit à l'expression à la surface endothéliale de molécules d'adhésion dépend largement, du moins au début, de la présence de LDL oxydées dans l'intima (par la suite, elle sera aussi entretenue par les cytokines inflammatoires exprimées par les cellules de la plaque). Ces molécules d'adhésion (VCAM-1 : *vascular cell adhesion molecule* ou ICAM-1 : *intercellular adhesion molecule*) ont la capacité de se lier à des ligands de la famille des intégrines présents sur la membrane des leucocytes. Un certain nombre de monocytes circulants peuvent ainsi adhérer à la surface de l'endothélium.

Après adhésion (voir figure 1 C), le monocyte pénètre dans l'espace sous-endothélial où il se transforme en macrophage. Ces étapes sont sous l'influence de divers facteurs : le *monocyte chemotactic protein-1* est nécessaire au passage des monocytes entre les cellules endothéliales, tandis que le *monocyte-colony stimulating factor* est nécessaire à la différenciation des monocytes en macrophages et à leur prolifération. Les macrophages

alors présents dans l'espace sous endothélial jouent un rôle clef dans de nombreuses étapes de l'athérosclérose (production de cytokines inflammatoires, de métalloprotéinases). Dans un premier temps, un certain nombre d'entre-eux se transforment en cellules spumeuses en captant les LDL oxydées ; cette captation se fait par l'intermédiaire de récepteurs « scavengers » (13;14). Dès l'infiltration de la paroi artérielle par les macrophages, ceux-ci vont y entraîner une réaction inflammatoire chronique qui sera d'une importance capitale pour la croissance de la plaque (phénomène d'auto-amplification). Les macrophages produisent de nombreuses cytokines pro-inflammatoires qui augmentent l'activation endothéliale, favorisent l'adhésion de nouveaux monocytes ainsi que leur passage entre les jonctions endothéliales ; les cytokines pro-inflammatoires peuvent aussi induire l'expression par les cellules de la plaque de métalloprotéinases qui ont une activité de dégradation de la matrice extra-cellulaire. Ces réactions sont toutefois le résultat d'équilibres complexes : certaines cytokines ont à l'inverse une action anti-inflammatoire ; de même, l'activité des métalloprotéinases est neutralisée par les inhibiteurs de métalloprotéinases.

Les lipides de la plaque sont d'abord essentiellement intracellulaires, et aussi extracellulaires ; à ce stade, ils se regroupent pour former un amas appelé coeur lipidique ou centre athéromateux. La plaque athéroscléreuse adulte se caractérise par la formation d'une chape fibromusculaire qui « isole » le centre lipidique de la lumière artérielle (15). La chape fibreuse est composée de cellules musculaires lisses et de protéines de matrice extracellulaire (collagène, élastine, protéoglycanes). Les cellules musculaires lisses proviennent de la média ; elles migrent à travers la limitante élastique interne vers l'intima où elles prolifèrent sous l'influence de facteurs de croissance. Cette réaction de croissance est tributaire d'un changement de phénotype des cellules musculaires lisses. L'intégrité de la chape fibreuse est un élément déterminant de la stabilité des plaques d'athérosclérose (16).

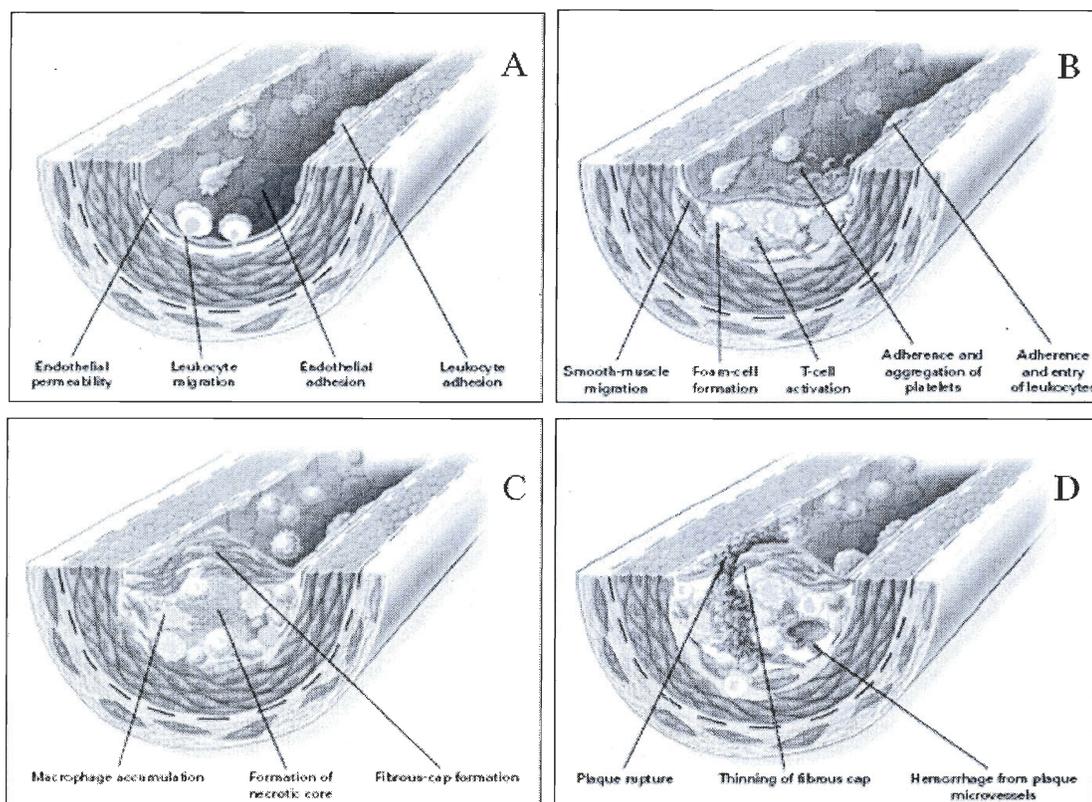


Figure 1. Évolution de la plaque d'athérosclérose. Tirée de (17).

2.1.2 L'évolution

L'évolution de la plaque d'athérosclérose se déroule sur de nombreuses années. (18). L'évolution de la plaque entraîne la réduction du diamètre de l'Artère, mais dans la majorité des cas d'infarctus du myocarde, c'est la rupture d'une plaque instable entraînant la formation d'un thrombus obstruant complètement la lumière qui provoquera un événement ischémique aigu. Pour qu'une plaque d'athérosclérose entraîne des manifestations ischémiques chroniques, il faut habituellement qu'elle soit responsable d'une sténose réduisant la lumière artérielle de plus de 50% en diamètre par rapport à un segment sain adjacent ; en raison de l'atteinte souvent notable des segments supposés sains et du fait qu'une réduction de 50% en diamètre entraîne une réduction beaucoup plus importante en surface, les plaques responsables d'une sténose « significative » en sont déjà à un stade très avancé de leur évolution. L'évolution vers la sténose d'un segment artériel, siège d'une plaque, dépend de la progression de la plaque en elle-même et des

modifications de la taille du vaisseau qui lui sont associées (phénomène de remodelage artériel).

La progression de la plaque d'athérosclérose vers la sténose est un phénomène très lent. Les deux composants de la plaque adulte (le centre lipidique et la partie fibreuse) y contribuent par l'infiltration lipidique, l'accumulation de cellules spumeuses et la prolifération de cellules musculaires lisses avec synthèse de matrice extracellulaire. Les plaques très évoluées sont aussi souvent la conséquence de l'incorporation de matériel thrombotique s'étant formé lors d'une rupture silencieuse.

L'augmentation de volume d'une plaque n'entraîne pas nécessairement d'effet proportionnel sur la lumière artérielle. Jusqu'à un stade déjà avancé, le développement de la plaque dans la paroi du vaisseau peut être compensé par une augmentation de taille du vaisseau ; ce phénomène a été décrit sous le terme de remodelage *compensateur*. Une lumière artérielle de taille normale est donc tout à fait compatible avec l'existence de plaques athéroscléreuses très volumineuses. Toutefois, lorsque le remodelage compensateur a atteint son maximum, toute augmentation de taille de la plaque retentit sur la lumière artérielle. D'autres formes de remodelage ayant des conséquences néfastes ont aussi été décrites. Le remodelage *constrictif* est l'inverse du remodelage compensateur, avec une diminution de calibre du vaisseau en regard d'une plaque qui n'aurait pas eu en elle même le potentiel d'entraîner une sténose significative ; les mécanismes exacts qui conduisent au remodelage constrictif sont imparfaitement connus mais font vraisemblablement intervenir des phénomènes de fibrose au niveau de l'adventice et/ou de la média.

Dans certains cas, les segments athéroscléreux ne vont pas évoluer vers la sténose, mais au contraire vers la formation d'anévrismes qui pourront dans certaines conditions et en fonction de leur localisation se rompre et entraîner des complications très graves (voir figure 1 D). Les mécanismes physiopathologiques mis en jeu ne sont pas encore tous élucidés, mais on sait que le développement des anévrismes nécessite une destruction et une désorganisation des éléments structuraux de la matrice extracellulaire et surtout des fibres d'élastine. Structures protéiques très résistantes, ces composants ne peuvent être

dégradés que par des enzymes particuliers à forte activité protéolytique constituant la famille des métalloprotéinases.

2.2 FACTEURS DE RISQUE

Plusieurs facteurs de risque ont été associés au développement des MCV. Certains facteurs de risque, nommés facteurs traditionnels, sont connus depuis longtemps, alors que les facteurs de risque dits non-traditionnels ne sont connus que depuis quelques années et font encore l'objet de plusieurs études.

2.2.1 Facteurs traditionnels

1.2.1.1 Diabète

La responsabilité de l'hyperglycémie dans l'athérogénèse s'établit sur des données biochimiques et épidémiologiques. Le risque absolu de MCV est similaire entre les personnes diabétiques de type 1 et de type 2, soit environ quatre fois plus grand que les personnes non diabétiques (19). Certaines études longitudinales ont évalué l'incidence et/ou la progression des MCV chez des populations diabétiques de type 1 (19). Les résultats de *VEURODIAB IDDM Complications Study* indiquent une prévalence de 10% de MCV, prévalence qui augmente avec l'âge et la durée du diabète (20). Le risque de développer une MCV est associé à des concentrations plasmatiques élevées de triglycérides (TG) et faibles de lipoprotéine de haute densité (HDL). De plus, un ratio taille/hanche élevé est également associé à un profil métabolique altéré et ce, particulièrement chez les hommes, suggérant l'existence du syndrome métabolique chez les patients diabétiques de type 1 (20). Il existe une distinction importante au niveau des facteurs de risque de la MCV entre les personnes diabétiques de type 1 et de type 2. Dans le diabète de type 2, la dyslipidémie, c'est-à-dire des concentrations plasmatiques élevées de LDL-C et de TG et faibles de HDL-C, serait le facteur le plus important pour expliquer les événements de MCV (21). Selon Laakso, l'hyperglycémie serait aussi un facteur de risque de MCV dans le diabète de type 2, mais ce

dernier serait moins important que la dyslipidémie (21). À l'opposé, Letho et ses collaborateurs (22) rapportent que chez les patients diabétiques de type 1, la piètre qualité du contrôle glycémique, ayant comme conséquence une hyperglycémie, dominerait par rapport aux autres facteurs de risque de MCV. L'hyperglycémie, indépendamment des autres facteurs de risque, augmente le risque de MCV (23) et est également associée à des anomalies dans la composition des lipoprotéines les rendant plus athérogéniques. De plus, l'hyperglycémie a aussi été associée à une augmentation de la glycation des lipoprotéines (24) et à une induction et une aggravation de la résistance à l'insuline et de l'hyperinsulinémie, deux désordres métaboliques reliés à une augmentation du risque de MCV (25). En effet, l'hyperglycémie accélère la formation de thrombus chez les patients diabétiques (26) et à long terme, entraîne la glycation irréversible des protéines sur la paroi artérielle, ce qui peut contribuer au développement de complications vasculaires (26). Puisqu'un mauvais contrôle glycémique contribue de façon importante au développement de complications microvasculaires dans le diabète de type 1, il est raisonnable d'assumer qu'un traitement approprié, via une insulinothérapie intensive, pourrait réduire les risques de MCV. Le gain de poids, particulièrement au niveau abdominal, pourrait expliquer partiellement l'absence d'effet bénéfique de l'insulinothérapie intensive sur le risque de MCV remarqué dans l'étude du DCCT. Par contre, l'étude *Epidemiology of Diabetes Interventions and Complications* (EDIC) a récemment révélé que les patients diabétiques sous insulinothérapie intensive présentaient 50% moins de MCV comparativement à ceux traités avec l'insulinothérapie conventionnelle (46 vs 98 événements) (27).

2.2.1.2 Dyslipidémie

Selon les Enquêtes sur la santé cardiovasculaire de 1985 à 1990, chez 45 % des hommes et 43 % des femmes, le taux de cholestérol plasmatique total était supérieur au taux recommandé de 5.2 mmol/l (2). Les dyslipidémies représentent un facteur de risque cardiovasculaire important puisque dans 99 % des cas, elles sont responsables d'athérosclérose. En effet, les lipoprotéines sont athérogènes, c'est-à-dire qu'ils peuvent se déposer sur la paroi de nos artères et former des plaques d'athérome. L'athérosclérose correspond à l'épaississement de la paroi des grosses artères (aorte abdominale, coronaires,

artères cérébrales, artères de jambes) et leur obstruction par des plaques d'athérome. L'obstruction progressive des artères diminue l'arrivée de sang et d'oxygène vers les tissus. Les artères les plus touchées par l'athérosclérose sont les coronaires, irriguant le cœur, à l'origine de l'insuffisance coronarienne. Au moment de la rupture de la plaque et de la présence d'un thrombus, l'obstruction complète des coronaires, privant le cœur d'oxygène, est responsable de l'infarctus du myocarde.

Les dyslipidémies sont un autre facteur de risque cardiovasculaire majeur. Le cholestérol et les TG sont des lipides qui ont un rôle dans la constitution et le maintien de l'intégrité des membranes cellulaires et dans la production d'hormones essentielles dans certaines fonctions vitales (comme le cortisol ou la vitamine D produits à partir du cholestérol). C'est l'excès de ces lipides appelé hyperlipémie (hypercholestérolémie, hypertriglycéridémie ou hyperlipémie mixte avec excès de cholestérol et de TG) qui est néfaste et est considéré comme un des facteurs de risque majeurs d'athérosclérose.

Le cholestérol et les TG sont transportés dans le sang par des particules appelées lipoprotéines. Parmi elles, les plus importantes sont les LDL et les HDL.

Le LDL en excès s'accumule plus facilement dans la paroi des artères après avoir subi une oxydation (LDL oxydée) et favorise ainsi la formation de la plaque d'athérosclérose. À l'inverse le HDL en excès favorise le métabolisme du cholestérol au niveau du foie et a ainsi un rôle protecteur contre la plaque d'athérosclérose. Enfin, les TG en excès favorisent l'oxydation du LDL, la baisse du HDL-C et la formation de caillots expliquant ainsi leur rôle néfaste dans l'athérosclérose (voir figure 2). Un bilan lipidique doit être donc régulièrement réalisé chez un individu à risque ou ayant atteint l'âge adulte afin de donner les conseils nécessaires ou de débiter, le cas échéant, un traitement hypocholestérolémiant. L'augmentation du taux de LDL peut être liée à des anomalies génétiques ou à certains états pathologiques (comme l'hypothyroïdie), mais également à une mauvaise alimentation déficiente (excès d'apport en graisses saturées par rapport aux graisses insaturées). L'augmentation du taux de TG dans le sang peut être favorisée par la consommation

excessive d'alcool, de sucre simple, par l'obésité, le diabète et la prise d'œstrogènes (contraceptifs ou hormones de remplacement après la ménopause).

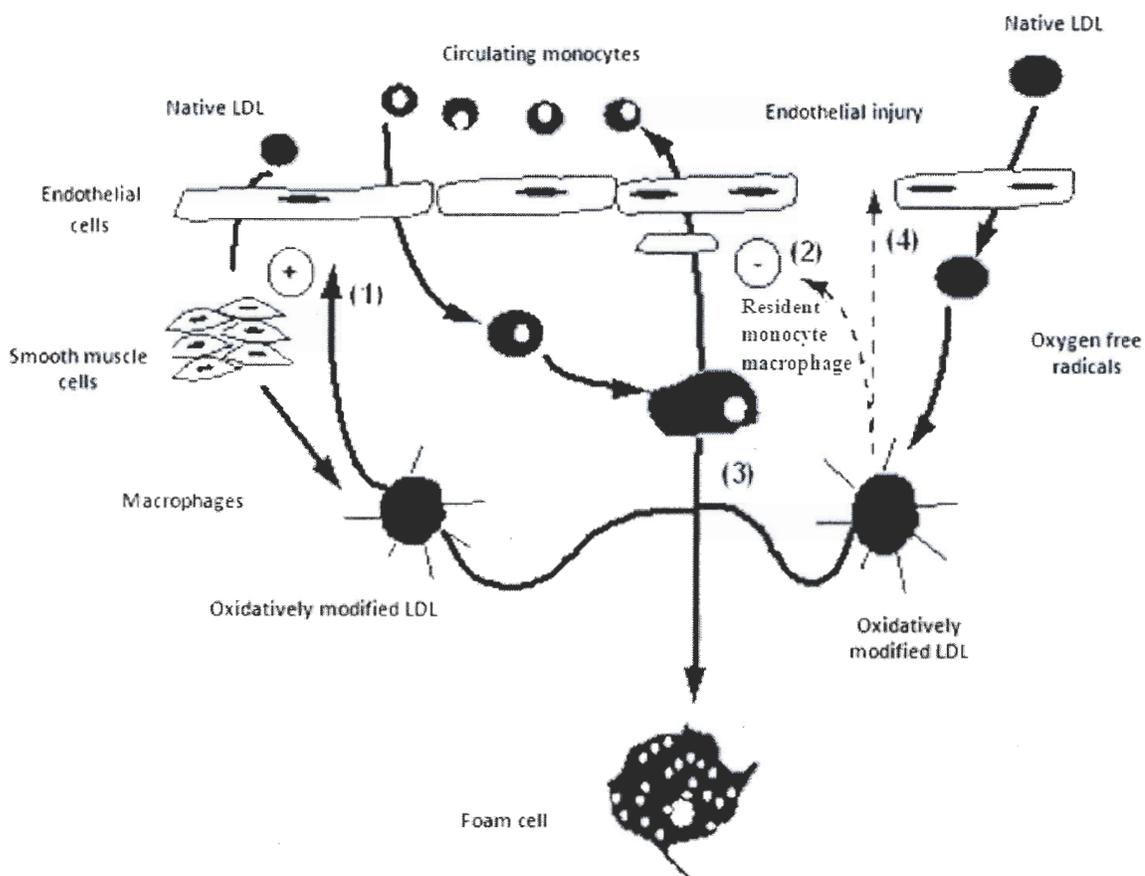


Figure 2. Contribution des LDL oxydées à l'athérogénèse. Tirée de (28)

2.2.1.3 Tabagisme

Le tabagisme est un facteur de risque majeur qui contribue aux MCV. Par l'observation de certains animaux exposés expérimentalement à la fumée (29) ou par certaines études transversales chez l'homme (30), on a pu établir une corrélation entre un excès de monoxyde de carbone dans l'air et un excès de plaques athérosclérotiques.

Une hypothèse pour le mode d'action du monoxyde de carbone est « l'hyperperméabilité capillaire ». L'intoxication au monoxyde de carbone provoque une augmentation de la

perméabilité capillaire. L'hypothèse d'Astrup (29) est que cette augmentation de la perméabilité endothéliale entraîne un œdème de la paroi et un passage accru des macromolécules avec dépôt des particules lipidiques. Cette hypothèse de la perméabilité accrue ne fait pas partie des grands courants d'explications théoriques de l'athérosclérose (31). Mais pour certains auteurs, la perméabilité accrue et les processus de transport des macromolécules au travers de la paroi artérielle jouent un rôle dans la vitesse d'apparition et la répartition des plaques d'athérosclérose (32).

Plus récemment, des troubles de la réactivité de l'endothélium ont été mis en évidence chez des fumeurs réguliers, avec une hyper-réactivité aux stimuli vasoconstricteurs (33). Ces résultats se rapprochent d'expériences antérieures montrant une augmentation des métabolites urinaires de la prostacycline chez les fumeurs sains, témoignant d'une modification chronique des fonctions endothéliales (34). Ils permettent peut-être de rattacher le tabagisme à l'athérosclérose via la dysfonction endothéliale qu'il provoque (35).

Des expériences chez les animaux (36) et des observations chez l'homme (37) ont conduit à l'hypothèse de la toxicité vasculaire de la nicotine. Chez le rat, l'administration de nicotine dans l'eau des animaux provoque une augmentation de la perméabilité de l'endothélium et la mort des cellules endothéliales (36). On trouve aussi un effet toxique du tabac sur l'endothélium de l'artère du cordon ombilical de femmes fumeuses avec un œdème de l'endothélium et une dysfonction des liaisons intercellulaires (37). Cette toxicité du tabac sur les cellules endothéliales rejoindrait les effets du monoxyde de carbone pour expliquer l'athérosclérose par l'accumulation de certaines macromolécules dans la paroi artérielle.

Il existe donc des arguments expérimentaux montrant que l'intoxication tabagique s'accompagne d'une dysfonction de l'endothélium avec dysfonction et mort accrues des cellules endothéliales et apparition de plaques d'athérosclérose. Il n'y a actuellement aucune étude sur la régression de ces anomalies à l'arrêt du tabac.

2.2.1.4 Hypertension

Comme l'hypercholestérolémie, l'hypertension (HTA) est l'un des facteurs de risque cardiovasculaire les mieux étudiés et la relation entre le niveau tensionnel et la mortalité cardiovasculaire par accident vasculaire cérébral est quasi superposable à celle observée avec l'hypercholestérolémie (38). Ainsi, la mortalité cardiovasculaire est multipliée par trois lorsque les pressions systoliques est supérieur à 160 mmHg. L'élévation de la pression diastolique est également corrélée au risque cardiovasculaire (surtout d'infarctus du myocarde et d'accident vasculaire cérébral) (39).

Plus récemment, un lien a été établi entre la pression pulsée qui représente la différence entre les pressions systoliques et diastoliques et le risque cardiovasculaire (40). La pression pulsée est un reflet de la rigidité artérielle. Dans les artères rigides, l'augmentation de pression concerne davantage la systolique (car l'onde de pression est moins amortie par la paroi) ce qui entraîne une augmentation de la différentielle donc de la pression pulsée. La pression pulsée apparaît comme un facteur particulièrement discriminant chez les sujets âgés ou d'âge moyen. L'effet bénéfique de l'abaissement des chiffres tensionnel par le traitement est indiscutable quel que soit l'âge. Il est plus marqué concernant le risque vasculaire cérébral (baisse de 40% en moyenne) que d'infarctus du myocarde (abaissé d'environ 16%) (41).

2.2.1.5 Âge

L'âge constitue un des facteurs de risque les plus importants. En effet, l'incidence et la mortalité des MCV augmentent considérablement avec l'âge. Bien que le vieillissement s'accompagne également de la modification d'autres facteurs de risque (élévation tension artérielle, du taux de cholestérol), il est indéniable que la dégénérescence naturelle de la paroi artérielle a un impact direct, indépendamment des autres facteurs de risque, sur la survenue des accidents cardiovasculaires (42).

2.2.2 Non traditionnels

2.2.2.1 Infection/inflammation

Le lien entre l'inflammation et l'athérosclérose a été étudié en détail dans des articles de revue (43;44). Ces derniers ont décrit comment, même aux stades précoces du processus athérosclérotique, l'endothélium se révèle plus susceptible d'attirer les leucocytes, qui, sont des médiateurs de défenses de l'hôte et de l'inflammation (7-9). Le mécanisme par lequel l'endothélium attire les leucocytes fait intervenir l'expression de diverses molécules d'adhésion. L'une des plus importantes d'entre elles est VCAM-1, qui se lie aux types de leucocytes observés aux premiers stades des athéromes (43-45).

On pense que le processus multifactoriel qui conduit à l'expression de facteurs comme la VCAM-1 comporte une diminution de la concentration d'oxyde nitrique (NO), un vasodilatateur puissant et un composé anti-inflammatoire (susceptible d'inhiber l'expression de la VCAM-1) libéré par l'endothélium (43). Cette diminution de la production de NO peut être attribuable à la contrainte de cisaillement. Parmi les autres modifications proinflammatoires et proathérogènes qui peuvent survenir dans ce scénario, on compte une régulation positive de ICAM-1 et une augmentation de la production de protéoglycanes. Par ailleurs, on considère maintenant que la protéine C réactive (CRP) joue un rôle actif dans le processus de l'athérogénèse. Certaines données permettent en effet de supposer qu'elle inhibe directement la production de NO par l'endothélium (46;47), tout en favorisant la production d'endothéline 1 (ET-1) (48), un vasoconstricteur puissant, et des molécules d'adhésion, telles que l'ICAM-1 et la VCAM-1 (48;49). Des données récentes permettent également de penser que la CRP peut favoriser la resténose et la formation néointimale, en partie en augmentant la production d'espèces oxygénées activées induites par l'angiotensine (50). Ces facteurs, produits par les cellules musculaires lisses vasculaires, se lient aux particules lipoprotéiques, facilitant ainsi leur rétention dans la paroi vasculaire et stimulant l'oxydation et l'inflammation. Le processus inflammatoire dans la paroi vasculaire conduit à la formation de cellules spumeuses macrophages et de facteurs de croissance, lesquels sont des éléments clés de la progression des lésions.

Tout en jouant un rôle dans la formation et la progression des athéromes, l'inflammation peut aussi contribuer à précipiter certains événements par la déstabilisation et la rupture des plaques. Les macrophages activés dégradent le collagène pour affaiblir la chape fibreuse de la plaque et stimulent la production du facteur tissulaire (procoagulant principal dans la thrombose).

2.2.2.2 Sédentarité

Le risque de MCV est deux à trois fois plus important chez les sujets sédentaires que chez ceux pratiquant une activité physique régulière (51). La sédentarité est souvent associée à la surcharge pondérée, à l'hypertension artérielle, au tabagisme et à un profil lipidique défavorable (avec des taux élevés de LDL-C et de TG et un taux de HDL-C bas). La pratique d'une activité physique régulière privilégiant les efforts d'endurance a souvent un effet bénéfique sur l'ensemble de ces facteurs et réduit de façon significative le risque cardiovasculaire tant en prévention primaire qu'en prévention secondaire.

2.2.2.3 État postprandial

L'hypothèse d'une relation de causalité entre lipémie postprandiale et athérosclérose a été proposée dès 1979 par Zilversmit (52). Depuis, de nombreuses études cliniques et mécanistiques sont venues établir cette relation comme revue récemment par *Lopez-Miranda et al* (53). De nombreuses études ont permis de montrer qu'une accumulation postprandiale augmentée et retardée des lipoprotéines riches en TG est associée au risque d'accident cardiovasculaire chez l'homme et la femme (54;55). Plusieurs autres études ont établi une relation entre épaisseur intima-media de la carotide, un marqueur du risque coronarien et de l'amplitude de la lipémie postprandiale (56). D'un point de vue mécanistique, on a pu montrer que les lipoprotéines riches en TG et surtout les résidus de lipoprotéines riches en TG qui s'accumulent en période postprandiale peuvent s'enrichir en cholestérol, être cytotoxiques pour les cellules, pénétrer la paroi des artères et participer au processus de développement de la plaque d'athérome. Cette élévation postprandiale peut aussi augmenter la proportion de LDL petites et denses et diminuer les HDL-C. Enfin, la

lipémie postprandiale a été associée à l'augmentation de facteurs procoagulants, à l'activation des plaquettes et à une détérioration de l'intégrité de l'endothélium vasculaire.

2.2.2.4 Homocystéine

L'homocystéine est un acide aminé produit normalement par le métabolisme. Un haut taux d'homocystéine dans le sang est associé aux MCV athérosclérotiques. Le rôle proathérogène de l'hyperhomocystéinémie a ensuite été confirmé par l'utilisation de modèles animaux et par des études cliniques et épidémiologiques chez l'homme. La majorité des enquêtes d'observation ont rapporté l'existence d'une forte association entre l'hyperhomocystéinémie et l'ensemble des maladies occlusives artérielles incluant les pathologies cérébro-vasculaires, les cardiopathies ischémiques et les atteintes artérielles périphériques (57). Parallèlement, l'ensemble des études prospectives conduites chez des patients atteints de MCV déclarées, ou de maladies conférant un risque cardiovasculaire accru au moment de l'inclusion, a montré que l'homocystéinémie était prédictive de la survenue d'accidents cardiovasculaires. En revanche, des études prospectives conduites chez des sujets sains au moment de l'inclusion ont apporté des résultats contradictoires, la moitié d'entre elles concluant au caractère causal de l'hyperhomocystéinémie dans les manifestations cliniques de l'athérosclérose, alors que l'autre moitié retenait l'absence de relation de causalité (58). Si ces différents travaux ne permettent pas d'affirmer que l'hyperhomocystéinémie constitue un facteur de risque cardiovasculaire indépendant, ils démontrent sans conteste qu'elle contribue activement au développement des MCV chez les sujets à haut risque. Plus récemment, quelques études transversales ont recherché, chez des sujets asymptomatiques pour les pathologies cardiovasculaires, une association entre l'hyperhomocystéinémie et la présence d'altérations structurales et fonctionnelles précliniques de la paroi artérielle. Sur le plan fonctionnel, l'hyperhomocystéinémie a été associée à une altération de la vasodilatation dépendante de l'endothélium (59). D'un point de vue structural, il a été démontré que l'augmentation de l'homocystéinémie était associée à un remodelage de l'artère carotide, indépendamment des déterminants connus du diamètre et de l'épaisseur artérielle, et suggéré que l'hyperhomocystéinémie pouvait également constituer un marqueur d'athérosclérose préclinique (60).

2.2.2.5 Obésité

Chez l'adulte, l'obésité est souvent associée à la présence d'une athérosclérose précoce. En effet, l'examen post-mortem d'artères de jeunes adultes (15-34 ans) décédés accidentellement a démontré que l'étendue des stries lipidiques et des lésions plus complexes (plaque fibreuse, plaque avec calcification ou ulcération) dans la coronaire droite et dans l'aorte abdominale était associée à l'obésité et à l'épaisseur du panicule adipeux (61;62).

Même si la relation de cause à effet entre l'obésité et l'athérosclérose pourrait être tributaire des co-morbidités associées à l'obésité, l'HTA, l'intolérance au glucose et la dyslipidémie, les études des cohortes de Framingham (63) et du Manitoba (64) ont toutes deux rapporté que l'obésité prédisait de façon indépendante les MCV, particulièrement chez la femme (63). Cette association semblait plus prononcée chez les individus âgés de moins de 50 ans, renforçant ainsi l'idée que l'obésité induit une athérosclérose précoce. Sur la base de ces résultats, *l'American Heart Association* a statué que l'obésité constituait un facteur de risque majeur modifiable, plutôt qu'un facteur de risque indépendant, pour le développement des MCV (65).

CHAPITRE 3 : LA DYSFONCTION ENDOTHÉLIALE, LE STRESS OXYDATIF ET LE RÉGIME ALIMENTAIRE

3.1 ARTÈRE NORMALE

Les artères distribuent un sang à haute pression éjecté des ventricules cardiaques vers les différents tissus du corps. Les artères doivent s'accommoder des grandes variations de pression engendrées par l'activité cardiaque. Pour y parvenir, elles sont entourées de fibres musculaires lisses capables de se contracter ou de se dilater en fonction des signaux nerveux et hormonaux reçus.

3.1.1 L'endothélium

3.1.1.1 Sa structure et ses rôles

Dans des conditions physiologiques normales, l'endothélium forme une couche semi-perméable entre les éléments circulant du sang et la paroi du vaisseau sanguin; il sécrète aussi des substances vasoactives afin de réguler le tonus de l'artère, de maintenir une surface antithrombotique, de moduler les réponses inflammatoires et d'inhiber la prolifération des cellules musculaires lisses (66).

La principale substance protectrice synthétisée par l'endothélium est l'oxyde nitrique (NO), synthétisé par la synthase d'oxyde nitrique (NOS). Le NO relaxe les cellules musculaires lisses et inhibe l'agrégation des plaquettes. De plus, le NO stimule la prolifération des cellules endothéliales, permettant ainsi la réparation des blessures à l'endothélium, et il inhibe la prolifération des cellules musculaires lisses. Le NO est aussi un puissant anti-oxydant, qui élimine les espèces réactives d'oxygène (ROS), dont l'anion superoxyde, qui peuvent endommager l'endothélium.

Ainsi, l'endothélium diminue le tonus vasculaire à l'aide du NO et de l'EDHF («endothelium-derived hyperpolarizing factor») et il équilibre l'effet vasodilatateur de ces substances à l'aide de peptides vasoconstricteurs, tels que la ET-1 et l'angiotensine II. La balance des effets de ces substances dictera donc le tonus vasculaire. Il est à noter que l'hypercholestérolémie induit une surexpression du récepteur de l'angiotensine II, pouvant augmenter ainsi les effets de l'angiotensine II et amener une hausse sensible de la pression sanguine contribuant au développement de la dysfonction endothéliale (67).

3.1.1.2 La synthèse et les rôles de l'oxyde nitrique

Le NO est produit, entre autres, par les cellules endothéliales, les cardiomyocytes, les cellules musculaires, les macrophages, les plaquettes, le foie, le cerveau et le système nerveux périphérique (68). Le NO est synthétisé à partir de l'acide aminé précurseur L-arginine dans une réaction d'oxydation, laquelle s'effectue en cinq étapes et est catalysée par l'enzyme NO synthase (NOS). Cette réaction complexe exige la présence des co-substrats O₂ et nicotinamide adénine dinucléotide phosphate réduit (NAD(P)H), ainsi que de nombreux cofacteurs, tels que la flavine adénine dinucléotide, la flavine mononucléotide et la tetrahydrobiopterine (haut de la figure 3) (69-71). Une fois synthétisé, le NO diffuse alors librement à travers les membranes cellulaires. Au niveau des cellules musculaires lisses, le NO se lie à la guanylate cyclase soluble intracytoplasmique qui produit alors de grandes quantités de guanosine 5'-monophosphate cyclique, ce qui a pour effet d'induire une vasorelaxation (bas de la figure 3) (70;72).

La production continue de NO par l'isoforme endothéliale NOS (eNOS) aide à maintenir un tonus vasculaire physiologique (73;74). Cependant, des agonistes comme l'acétylcholine et l'insuline peuvent augmenter la production endothéliale de NO et sont ainsi capables de moduler le tonus vasculaire (côté droit de la figure 4) (72;75). D'autre part, certains agents pharmacologiques sont des donneurs de NO et peuvent ainsi stimuler directement la guanylate cyclase soluble, sans qu'il y ait activation de l'enzyme NOS, et ainsi produire de grandes quantités de GMPc et induire une vasorelaxation indépendante de l'endothélium (côté gauche de la Figure 4).

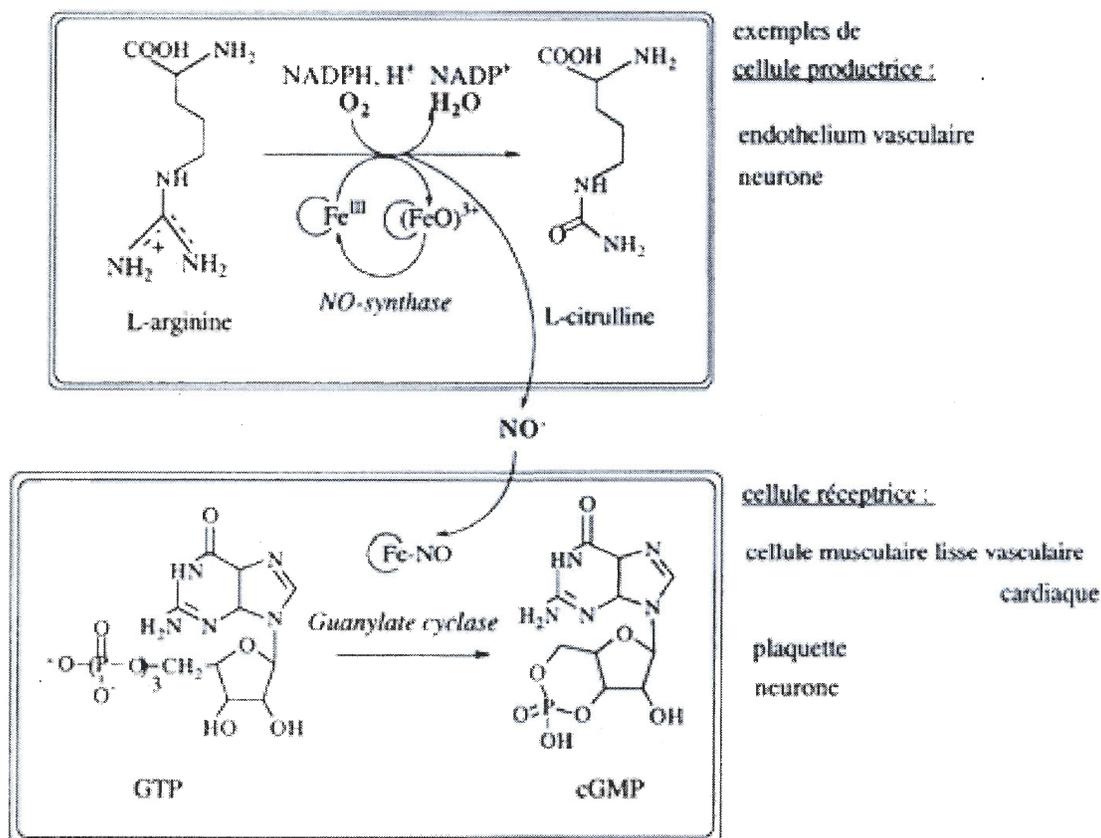


Figure 3. Voie de synthèse du NO par la synthèse de l'oxyde nitrique dans la cellule productrice et activation du GMPc dans la cellule réceptrice. Tirée de (72).

En plus de son rôle clé dans la régulation du tonus vasculaire et, virtuellement, dans tous les processus de relaxation vasculaire du type endothélium-dépendant, les études ont très vite démontré que son implication s'étendait à de nombreuses autres fonctions. Notamment, il a été démontré que le NO exerce un contrôle inhibiteur sur la production et libération de plusieurs facteurs endothéliaux vasoconstricteurs, dont l'ET-1. Le NO interfère aussi avec plusieurs événements clés dans le développement de l'athérosclérose, dont l'adhésion des plaquettes, l'adhésion des leucocytes et des monocytes à la surface des cellules endothéliales des parois vasculaires et dans l'expression des molécules pro-inflammatoires, telles que VCAM-1. Le NO diminue aussi la perméabilité endothéliale et exerce des effets anti-mitogéniques sur les cellules musculaires lisses vasculaires, en inhibant la croissance et la prolifération de ces cellules. De plus, le NO apparaît comme un inhibiteur endogène du TNF- α («tumor necrosis factor») et inhibe l'oxydation des LDL (69;74;76).

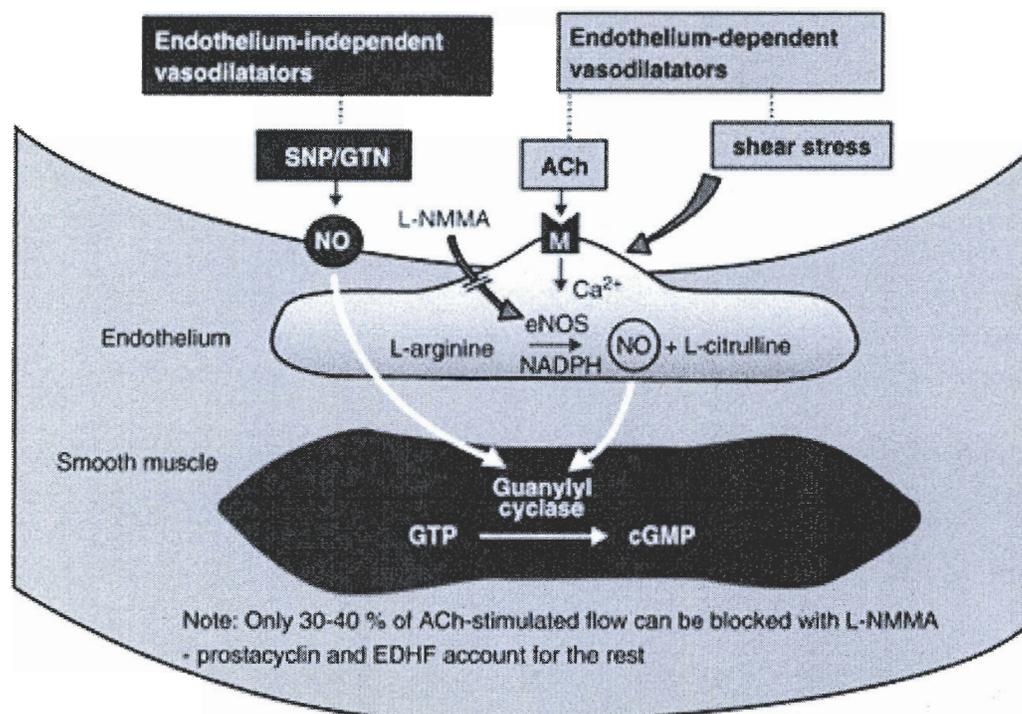


Figure 4. La vasodilatation par le NO peut être dépendante et indépendante de l'endothélium. Tirée de (77).

La formation de NO diffère selon l'isoforme NOS activé et provoque des effets différents selon le tissu impliqué. Par exemple, lorsque le NO est produit en grande quantité par l'isoforme iNOS (synthase de l'oxyde nitrique inductible), le NO agit plutôt comme agent cytotoxique et antimicrobien par le biais des macrophages dans le système immunitaire, alors que s'il est produit en quantité plus modérée par l'isoforme nNOS (synthase de l'oxyde nitrique neuronale), le NO est plutôt impliqué, entre autres, dans la neurotransmission, la plasticité neuronale, l'alimentation et l'hyperalgie. La biodisponibilité du NO est dépendante de son taux de production et d'inactivation qui survient généralement par sa liaison avec des ROS comme le dioxygène (O_2^-) (76).

3.1.1.3 L'expression et l'activité de l'enzyme eNOS

L'enzyme eNOS est exprimée dans les cellules endothéliales et les plaquettes (69) et elle produit des quantités de NO de l'ordre du picomole (73). Elle est la principale source de NO dans les cellules endothéliales (69). Le contrôle du tonus vasculaire est un processus

hautement sensible, de petits changements dans l'expression et/ou l'activité de la protéine eNOS sont susceptibles d'avoir un impact important sur la fonction vasculaire et plus particulièrement dans l'évolution de certaines conditions pathologiques (69). L'activité de l'enzyme eNOS peut être régulée par différents facteurs dont, principalement, des changements dans la concentration intracellulaire de calcium, ce qui affecte sa liaison avec la calmoduline (69;74). En effet, il a été démontré que certains agonistes, comme l'acétylcholine et la bradykinine, pouvaient stimuler eNOS en augmentant les concentrations de calcium cytosolique (76). La liaison de ces substances vasodilatatrices à leur récepteur a pour effet d'induire une augmentation de la production du phosphatidylinositol-3-phosphate, ce qui en retour entraîne une augmentation de la libération du calcium par le réticulum endoplasmique, de même qu'une augmentation de la liaison de ce dernier à la calmoduline (69;70). Le complexe ainsi formé peut se fixer à la protéine eNOS et ainsi augmenter son activité (76). D'autre part, la protéine eNOS peut aussi être activée par une autre voie, c'est-à-dire de façon indépendante au calcium (69;76). Une étape importante de cette activation est la phosphorylation de la protéine eNOS. Cette étape permet la dissociation de eNOS de la membrane plasmique, ce qui rend ainsi possible son activation. L'activation de eNOS peut également se faire par des stimuli physiques, tels que l'augmentation des forces de cisaillement, de l'étirement des parois artérielles (78). D'ailleurs, de récents résultats démontrent que les forces de cisaillement peuvent activer la protéine AMP kinase qui stimule la phosphorylation de la protéine eNOS dans les cellules endothéliales, entraînant ainsi son activation et la production de NO (79).

Généralement, l'enzyme eNOS est exprimée de façon constitutive, mais plusieurs facteurs peuvent aussi stimuler son expression. Tout d'abord, la région du promoteur du gène de la protéine eNOS contient des éléments qui répondent aux oestrogènes (69), aux forces de cisaillement, aux stéroïdes, aux protéines activatrices 1 et 2, au facteur nucléaire-1 et à l'adénosine 5'-monophosphate cyclique (76;80). L'expression de la protéine eNOS est aussi régulée à la hausse par l'entraînement physique (69), la lysophosphatidylcholine, le facteur de croissance des cellules endothéliales vasculaires, l'insuline et par une faible concentration de LDL oxydées (76). Inversement, l'expression de l'enzyme eNOS est réduite par l'hypoxie (69), le TNF- α et une forte concentration de LDL oxydées (76). En

effet, contrairement aux autres isoformes, l'enzyme eNOS subit deux modifications post-transductionnelles, soit la myristylation et la palmitoylation qui rendent possible sa liaison avec la protéine cavéoline associée à la membrane et son inactivation (74). De plus, l'enzyme eNOS a la propriété de répondre non seulement à une variété d'agents neurohormonaux, mais aussi à des forces hémodynamiques (69). Normalement, la protéine eNOS est fixée à la membrane des cellules endothéliales et est associée aux cavéolines (72). Cette structure membranaire complexe est sensible à la pression des fluides qui s'exerce sur la membrane (72). La pression sanguine constitue le principal mécanisme de régulation de l'activité de l'enzyme eNOS dans l'endothélium des mammifères (72).

3.2 DYSFONCTION ENDOTHÉLIALE

L'endothélium est l'un des plus grands organes du corps. Il tapisse l'intérieur des artères, des artérioles, des capillaires, des veinules et des veines. Les cellules endothéliales représentent la barrière interne du tissu vasculaire et elles jouent un rôle important dans la physiologie cardiovasculaire. En plus de contrôler le tonus artériel, elles régulent l'agrégation plaquettaire, le remodelage des vaisseaux sanguins et la perméabilité vasculaire. L'endothélium est un organe qui synthétise et sécrète différentes substances vasoactives telles que le NO, les prostacyclines, la ET-1 et l'angiotensine II (81). Son action est régie par différents stimuli chimiques et physiques. La perte de capacité de l'endothélium à remplir ses fonctions constitue un état pathologique appelé dysfonction endothéliale. La dysfonction endothéliale est associée à plusieurs pathologies et elle a été caractérisée dans l'obésité, la résistance à l'insuline, l'hypercholestérolémie, l'hypertension artérielle et le diabète (82) (voir figure 5).

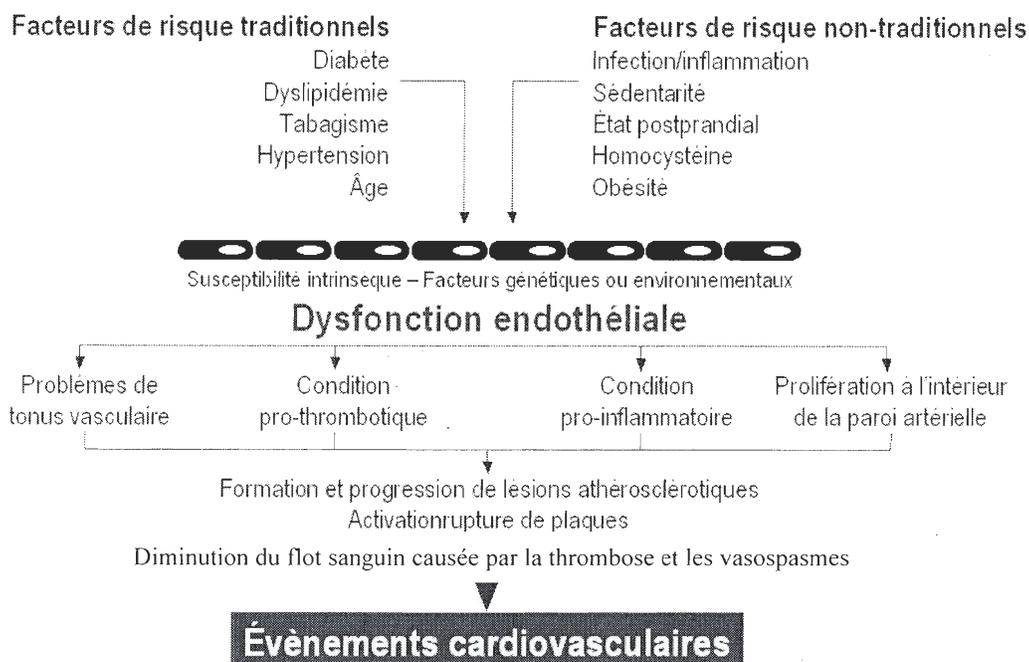


Figure 5. Le rôle de la dysfonction endothéliale dans la pathogénèse d'événement cardiovasculaire. Adaptée de (83).

Plusieurs études portant sur la dysfonction endothéliale considèrent celle-ci comme étant une diminution de la bioactivité du NO suite à une diminution de sa production ou à une augmentation de sa consommation. Le NO et ET-1, le plus puissant agent vasoconstricteur endogène, sont des antagonistes mutuels. Ils agissent l'un sur l'autre afin de maintenir un équilibre dans le tonus vasculaire. Dans une situation de dysfonction endothéliale où la biodisponibilité du NO diminue, l'effet vasoconstricteur de l'ET-1 prend le dessus et peut causer des dommages vasculaires importants en plus de promouvoir l'athérogénèse. Chez l'homme obèse et diabétique, des niveaux élevés d'ET-1 circulante ont été rapportés. L'utilisation d'un bloqueur du récepteur ETA de la ET-1 chez ces sujets a permis d'améliorer la vasodilatation endothélium-dépendante et la production de NO (84). Il a aussi été établi qu'il existe une forte corrélation entre le stress oxydatif et la dysfonction endothéliale. Lors de MCV, l'élévation de la production de l'anion O_2^- - semble être à l'origine de cette dysfonction endothéliale (85). Une étude, effectuée sur un modèle animal d'hypertension, a rapporté que de la dysfonction endothéliale était observée seulement lorsque l'expression de eNOS et la production de O_2^- étaient simultanément augmentées, menant ainsi à la formation de peroxy-nitrite (86). D'autre part, tel que mentionné

précédemment, l'insuline exerce son effet vasodilatateur, lequel constitue un important déterminant physiologique de son action glucorégulatrice, via la production et libération de NO par les cellules endothéliales. Par conséquent, une réduction de la biodisponibilité du NO via la neutralisation de ce médiateur par l'anion O_2^- peut contribuer de manière significative à l'établissement de la résistance à l'insuline et de l'hyperinsulinémie, en réduisant le recrutement capillaire et ainsi la distribution de l'insuline et du glucose à travers les tissus insulino-sensibles.

3.3 LE STRESS OXYDATIF

Dans les systèmes biologiques, le stress oxydatif est la conséquence d'un déséquilibre entre la production de radicaux libres et leur destruction par des systèmes de défense anti-oxydantes. Les radicaux libres peuvent engendrer des dommages importants sur la structure et le métabolisme cellulaire en dégradant de nombreuses cibles : protéines, lipides et acides nucléiques. Les radicaux libres sont une forme particulière d'espèces chimiques (atomes ou molécules) qui possèdent un électron célibataire (ou non apparié). Le champ magnétique créé par sa rotation, ou spin, n'est donc pas compensé par la rotation en sens inverse d'un électron apparié. Cette propriété rend les radicaux libres aptes à réagir avec différentes molécules, notamment lors de réactions en chaîne dont l'exemple le plus connu est celui de la peroxydation des lipides. Ainsi parmi les radicaux formés chez les êtres vivants, l'anion radicalaire superoxyde, comme le NO ne sont pas très réactifs, mais constituent des radicaux précurseurs pouvant être activés en d'autres espèces plus réactives.

La faible réactivité de ces deux radicaux O_2^- et NO permet d'ailleurs leur utilisation par l'organisme comme médiateurs régulant des fonctions biologiques telles la respiration et la vasodilatation capillaire (87;88). Par contre des radicaux comme les radicaux peroxy ou surtout le radical hydroxyl, sont extrêmement réactifs, et ce avec la plupart des molécules des tissus vivants. D'autres espèces dérivées dites « espèces réactives de l'oxygène » comme le peroxyde d'hydrogène ou le nitroperoxyde, ne sont pas des radicaux, mais sont elles aussi réactives et peuvent être des précurseurs de radicaux. L'ensemble des radicaux libres et de leurs précurseurs est souvent appelé « espèces réactives de l'oxygène ». Les

dommages liés à un stress oxydatif se traduisent par diverses altérations biochimiques intracellulaires telles que l'oxydation de l'ADN (89;90), des protéines (91), la perturbation de l'homéostasie du calcium intracellulaire ou encore la peroxydation des lipides (92).

En 1989, Steinberg et al. ont proposé l'hypothèse que l'athérosclérose découlait de modifications oxydatives des LDL (93). Cette hypothèse est basée sur la supposition que l'oxydation représente une modification biologique analogue aux modifications chimiques découvertes par Brown et Goldstein (94) concernant les cellules spumeuses. En conséquence, la LDL oxydée contribuerait à l'athérogenèse en 1) facilitant le recrutement des monocytes circulant dans les espaces intimaux, 2) inhibant la capacité des macrophages à quitter l'espace intimal, 3) en augmentant le taux de captation de lipoprotéines menant à la formation de cellules spumeuses, 4) en étant cytotoxique par la perte de l'intégrité membranaire (94). La figure 6 synthétise l'hypothèse selon laquelle des changements

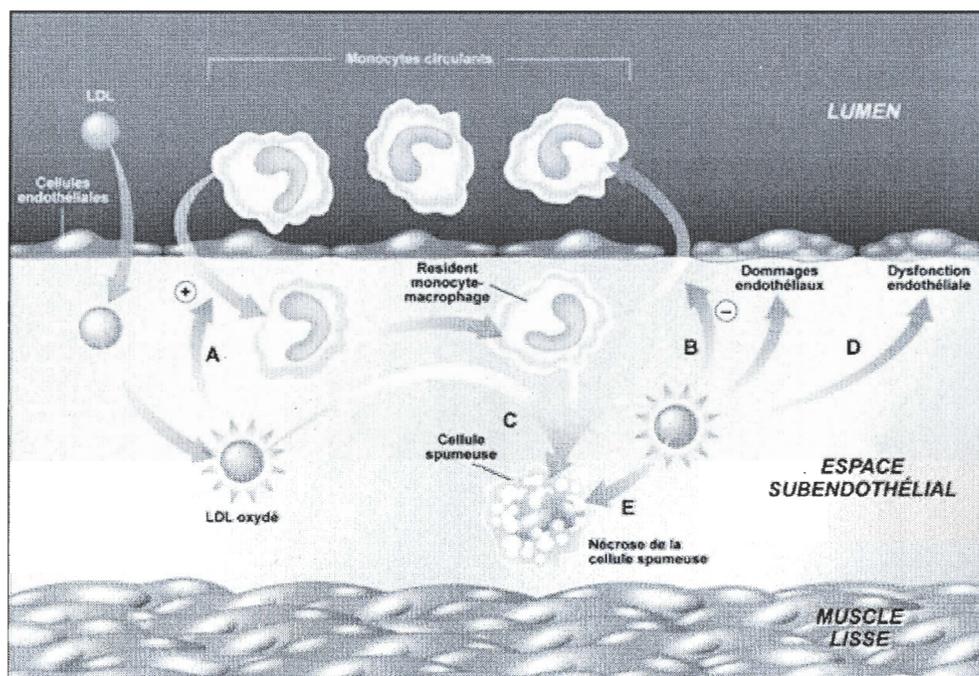


Figure 6. Des variations oxydatives des LDL seraient responsables de l'athérosclérose. Tirée de (95).

oxydatifs seraient impliquées dans l'athérosclérose (94).

L'exposition des cellules vasculaires dans un milieu qui contient des métaux de transition modifie également le LDL de telle sorte qu'elle est connue par le récepteur des macrophages (96). Il est maintenant démontré que l'oxydation de la particule LDL, et par conséquent de sa partie apolipoprotéine B-100, la rend susceptible d'être reconnue par le récepteur éboueur (scavenger) du macrophage (97). Par ailleurs, plusieurs études indiquent que le stress oxydant est une caractéristique de plusieurs facteurs de risque de l'athérosclérose tels que le diabète (98), l'hypertension (99) et le tabagisme (100). De plus, il est maintenant bien établi que le stress oxydatif est une conséquence secondaire importante de l'inflammation. Le processus inflammatoire est modulé par les activités de plusieurs familles d'enzymes incluant les cyclooxygénases, les lipooxygénases et les peroxydases. Toutes ces enzymes ont des fonctions catalytiques capables de produire des radicaux libres (101). Il y a donc une grande quantité de données qui lient les événements oxydatifs à la pathogenèse des MCV (101).

3.4 L'INFLUENCE DU RÉGIME ALIMENTAIRE SUR LE STRESS OXYDATIF ET LA DYSFONCTION ENDOTHÉLIALE

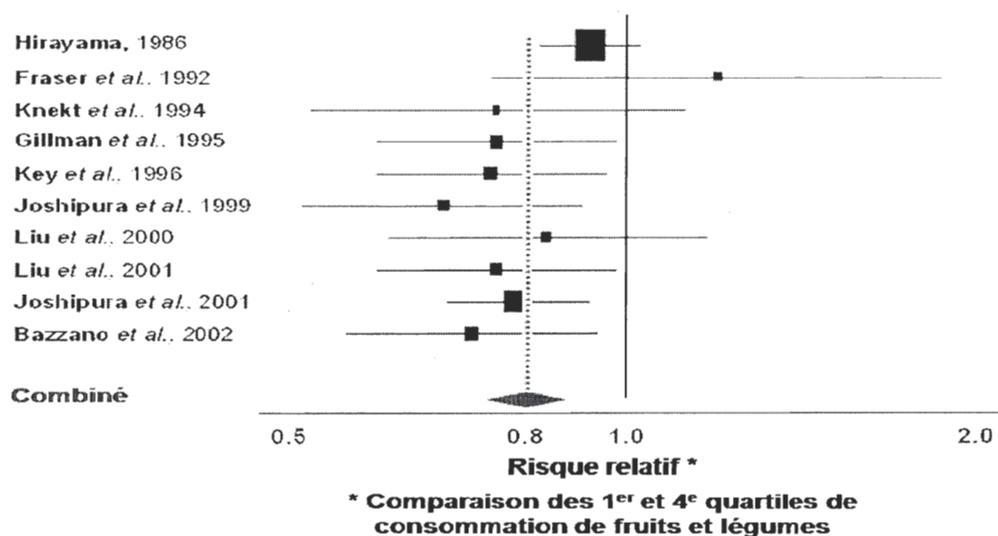
L'alimentation saine développe un corps en santé et est essentielle pour maintenir un poids santé. De plus, depuis les dernières décennies les recherches se sont axées sur certains aliments afin de vérifier leurs effets sur diverses pathologies. Les fruits et légumes, riches en fibres et antioxydants ainsi que les poissons, riches en acides gras polyinsaturés sont au cœur de multiples recherches sur la prévention des MCV, autant aux niveaux primaires que secondaires.

3.4.1 Fruits et légumes

Des études (102) ont révélé que la consommation de fruits et de légumes était associée à une réduction significative du risque de cardiopathie ischémique, après ajustement pour

certaines variables confondantes (voir tableau 1). Ainsi, l'augmentation d'une portion par jour de fruits et de légumes était associée à une réduction de 7% des cardiopathies ischémiques chez la femme et de 4% chez l'homme. Le risque le plus faible était noté pour une consommation élevée de légumes crucifères (brocoli, chou-fleur, chou), de légumes verts feuillus, de fruits citrins ainsi que pour les fruits et les légumes riches en vitamine C. Dans le même ordre d'idées, les résultats impliquant 9608 adultes sans MCV au départ suggèrent qu'après un suivi de 19 ans les hommes et les femmes qui consommaient trois portions ou plus de fruits et de légumes par jour comparativement à ceux qui en consommaient moins d'une portion présentaient une prévalence d'accidents vasculaires cérébraux de 27 % inférieure, 42 % moins de risque de mourir d'un accident vasculaire cérébral, 24 % moins de mortalité par cardiopathie ischémique, 27 % moins de mortalité par MCV et 15 % moins de mortalité pour toutes les causes de mortalité après ajustement pour les facteurs de risques reconnus pour la MCV (67). Toutefois, certaines études épidémiologiques n'ont rapporté aucun effet significatif associé à la consommation de fruits et de légumes ou encore une relation inverse non significative entre la consommation de fruits et de légumes et la MCV (78-80). Finalement, les résultats d'une méta-analyse résultant de l'analyse de 14 études épidémiologiques (trois cas-témoins et 11 prospectives) démontrent qu'une augmentation de la consommation équivalente à 150 g/jr de fruits et de légumes était associée à une réduction de 16 % de la mortalité cardiovasculaire (81).

Tableau 1. Risque relatif de MCV en fonction de la consommation de fruits et légumes. Adapté de (102).



Ainsi, l'apport en fruits et légumes serait associé à une réduction du risque de MCV (81;82). Cependant, les mécanismes impliqués ont été très peu documentés jusqu'à maintenant. Il a été entre autre suggéré que l'augmentation de la consommation de fruits et de légumes serait associée à une réduction de la tension artérielle (83) sans toutefois avoir d'effet sur les concentrations de lipides plasmatiques (83;84). Récemment, Esmailzadeh et *al.* ont rapporté qu'un apport élevé en fruits et légumes était associé à un risque plus faible de syndrome métabolique qui pourrait être, en partie, attribuable à de plus faibles concentrations de CRP, un marqueur du processus inflammatoire considéré comme un facteur de risque pour la MCV (85). Malgré un ajustement pour certaines variables alimentaires, les sujets de cette étude qui consommaient plus de fruits et de légumes consommaient également moins de viande, plus de produits céréaliers à grains entiers et moins de produits raffinés. Il est donc difficile de déterminer, dans un tel contexte, si l'effet est réellement attribuable aux fruits et légumes seulement ou au mode alimentaire en général qui était vraisemblablement plus favorable.

3.4.2 Consommation de poisson

L'alimentation méditerranéenne est reconnue pour les types de gras qu'elle contient dont entre autres les acides gras oméga-3. Depuis maintenant plus de 20 ans, de nombreuses études ont documenté les effets de ces acides gras sur la santé. L'intérêt pour la relation existante entre le poisson et la MCV est grandissant depuis qu'il a été mis en évidence que le faible taux de MCV chez les populations Esquimaux du Groenland pourrait être lié en partie à leur plus grande consommation de produits marins, et ce, malgré le fait que leur apport en matières grasses soit relativement élevé (39 %) (144; 145). Plusieurs études prospectives ont rapporté un effet protecteur associé à la consommation de poisson sur la MCV, lorsque le poisson était consommé en quantité modérée, soit l'équivalent d'un repas de poisson gras par semaine (146-152). En effet, certaines études ont montré qu'une consommation de poisson, même modeste, était associée à une réduction de 50 % de la mortalité coronarienne (146-150), et ce, avec un effet modeste sur l'incidence d'infarctus du myocarde (152) sans toutefois réduire le risque de mortalité cardiaque non subite ou d'infarctus du myocarde non fatal (151). La première étude d'intervention en prévention

secondaire à s'être attardée aux effets du poisson fut la *Diet and Reinfarction Trial* (153). Cette étude a démontré que la consommation d'au moins deux repas de poisson gras par semaine ou 0.5g d'acide eicosapentanoïque (EPA) et d'acide docosahexanoïque (DHA) par jour entraînait une réduction de la mortalité totale et coronarienne de 29 % chez des patients coronariens sans affecter les concentrations de lipides plasmatiques. Des résultats similaires ont été rapportés lors d'une étude d'intervention en prévention secondaire, la *GISSI Prevenzione Trial* (154; 155). L'ingrédient clé qui pourrait expliquer en partie les effets protecteurs associés à la consommation de poisson sur la MCV, et qui a attiré l'attention des scientifiques au cours des dernières années, serait la présence d'acides gras polyinsaturés oméga-3 EPA et DHA qui auraient possiblement des effets sur l'agrégation plaquettaire (156) de même que le processus inflammatoire (157; 158). De plus, la plupart des études effectuées tant chez l'animal, principalement chez le rat (159), que chez l'humain (160-163) ont rapporté que les huiles de poisson pouvaient entraîner une réduction de la triglycéridémie. Cette diminution de la triglycéridémie a souvent été remarquée à jeun (160-163), mais également en période post prandiale (164) et serait le résultat d'une augmentation de l'activité de la lipoprotéine lipase. Il a également été rapporté que des quantités modérées d'huile de poisson (deux à quatre grammes/jour) administrées sur une longue période d'intervention (trois à neuf mois) pouvaient être suffisantes pour exercer un effet positif sur la triglycéridémie à jeun (162;163;165). Devant le poids des évidences scientifiques en faveur de la consommation de poisson, le comité de l'*American Heart Association* a émis en 2003 de nouvelles recommandations concernant la consommation d'acides gras oméga-3. Malgré le fait que la quantité idéale qui favoriserait un état de santé optimal n'ait pas été déterminée, l'*American Heart Association* (103) considère, à la lumière des études prospectives en prévention secondaire réalisées jusqu'à maintenant, qu'une dose de 0.5 à 1.5g de EPA et DHA par jour pourrait réduire de façon significative le nombre de cas de mortalité cardiovasculaire et en prévention secondaire, toutes les causes de mortalité (153; 154).

3.5 DYSFONCTION ENDOTHÉLIALE : MESURE D'ÉVALUATION

La dysfonction endothéliale est impliquée de façon précoce dans la physiopathologie des MCV. Son exploration clinique permet de détecter les sujets à risque de complications et d'évaluer l'effet des traitements utilisés dans ces maladies.

Les méthodes biologiques présentent l'avantage de leur simplicité sur le plan clinique puisqu'il s'agit généralement de dosages de facteurs circulants d'origine endothéliale, réalisés à partir de prélèvements sanguins ou urinaires par des méthodes immunologiques courantes (voir tableau 2). Cependant, ces dosages peuvent nécessiter des conditions délicates de prélèvement ou d'analyse non disponibles en routine. Ils sont parfois réalisés sur un échantillon frais et peuvent imposer des contraintes diététiques importantes.

Tableau 2. Facteurs circulants utilisés comme marqueurs biologiques de la fonction endothéliale. Adapté de (104).

Vasodilatateurs	Nitrates et nitrites (métabolites du monoxyde d'azote), 6-kéto PGF _{1α} (métabolite de la prostacycline)
Vasoconstricteurs	Endothéline-1, angiotensine II, thromboxane A ₂ , radicaux libres de l'oxygène, prostaglandine H ₂
Marqueurs de l'inflammation	Protéine C-réactive, molécules d'adhésion cellulaire (sélectine P et E, ICAM, VCAM), MCP-1 (monocyte chemoattractant protein), interleukines (IL-6, IL-8), TNF-α (tumor necrosis factor)
Marqueurs de l'hémostase	Activateur tissulaire du plasminogène (tPA), inhibiteur de l'activateur du plasminogène (PAI-1), facteur Von Willebrand (vWF), thrombomoduline
Autres	Dérivés asymétriques de la L-arginine (ADMA), microparticules apoptoïques, facteurs de croissance (VEGF)

Les méthodes pharmacologiques consistent à étudier le fonctionnement de l'endothélium en mesurant généralement les effets vasomoteurs qui accompagnent l'administration locale de substances agissant par son intermédiaire. Ces dernières, acétylcholine, substance P ou bradykinine, se fixent sur des récepteurs spécifiques situés à la surface de l'endothélium et entraînent la libération, dans la lumière vasculaire et au sein de la paroi, de facteurs comme le NO, qui agissent sur les cellules musculaires lisses sous-jacentes en les relaxant. Cette vasodilatation endothélium-dépendante est comparée à celle obtenue après administration d'un donneur exogène de NO comme le nitroprussiate de sodium qui agit directement sur les cellules musculaires lisses et permet d'évaluer leur capacité à se relaxer. L'administration de ces substances de façon locale, réalisée à des doses qui ne s'accompagnent pas d'effets hémodynamiques systémiques ou de stimulation du système nerveux central, permet l'étude de l'endothélium dans son environnement physiologique et en l'absence d'éventuels effets confondants liés aux modifications de la pression artérielle ou du tonus neurogène central.

Entre autre, comme moyen pharmacologique, il y a l'évaluation des effets de l'acétylcholine sur la résistance vasculaire de l'avant-bras. Cette dernière, qui est calculée au moyen de la mesure du débit local et de la pression artérielle systémique, traduit essentiellement la réponse endothéliale des artères de résistance de ce territoire (105). Plusieurs méthodes sont disponibles pour la mesure du débit de l'avant-bras, mais la pléthysmographie est très largement utilisée. Son principe repose sur la mesure de l'augmentation du volume de l'avant-bras après un arrêt momentané du retour veineux au moyen d'un brassard pneumatique placé au niveau du bras et gonflé à une pression de 40 à 50 mmHg. Cette pression permet l'occlusion veineuse sans modifier la perfusion artérielle. Ainsi, en procédant par brèves occlusions, il est possible d'enregistrer des augmentations de volume du bras qui sont proportionnelles à son débit de perfusion. Le lit vasculaire de la main est généralement exclu par gonflage, à une pression suprasystolique, d'un second brassard placé au niveau du poignet durant la période de mesure du débit de l'avant-bras. La mesure des variations de volume de l'avant-bras a été réalisée initialement au moyen de pléthysmographes remplis d'eau ou d'air (83;105). Ces dispositifs sont actuellement abandonnés au profit d'appareils à jauges de contrainte permettant la mesure des variations

du diamètre de l'avant-bras et le calcul des variations correspondantes de volume (105). Le bras controlatéral est fréquemment utilisé comme contrôle pour s'assurer de l'absence d'effet systémique des substances administrées et tenir compte de la survenue d'éventuelles modifications hémodynamiques.

Cependant, cette méthode repose sur l'évaluation du débit sanguin global de l'avant-bras et prend en compte les variations de volume liées au débit artériel, mais également celles des territoires veineux. De ce fait, les réponses observées après administration de substances vasoactives pourraient témoigner de la réactivité artérielle et veineuse. De plus, elle conduit au calcul simultané de la résistance artériolaire des territoires cutanés et musculaires de l'avant-bras. Cependant, l'exclusion de la main, qui comporte une importante proportion de territoire cutané, permet de considérer que le débit mesuré au niveau de l'avant-bras correspond pour 70 % au débit musculaire et pour 30 % au débit cutané. Cette approche a largement contribué à l'étude des anomalies endothéliales artériolaires rapportées chez l'homme au cours du vieillissement et dans de nombreuses situations pathologiques. Son inconvénient est essentiellement représenté par l'aspect invasif de l'administration intra-artérielle des substances étudiées bien que la survenue d'événements graves liés à la ponction artérielle soit exceptionnelle. Le débit régional peut également être évalué en utilisant un dispositif Doppler couplé à un angiomètre permettant la mesure respectivement de la vitesse sanguine et du diamètre artériel. Ce débit est alors égal au produit de la vitesse sanguine par la section interne artérielle. Cette approche permet l'étude de la résistance artériolaire, en aval du site de mesure du diamètre et de la vitesse sanguine, en supprimant, comparativement à la pléthysmographie, l'influence du compartiment veineux et en l'absence d'hypothèse géométrique quant au volume de l'avant-bras. Cependant, elle suppose l'utilisation de dispositifs de mesure précis du diamètre tels que l'echotracking haute résolution.

Il est aussi possible d'étudier l'endothélium des artères de résistance coronaires en évaluant les effets de l'acétylcholine administrée lors du cathétérisme sur le débit coronaire obtenu par angiographie quantitative et Doppler intrac coronaire (106). De plus, l'évaluation de la fonction endothéliale des veines superficielles peut être réalisée par la méthode d'Aellig

(107). Elle permet de mesurer, au moyen d'un dispositif électromagnétique, le diamètre des veines superficielles.

Les méthodes utilisant un stimulus physique ou métabolique sont essentiellement utilisées pour l'étude de l'endothélium des artères de conductance et reposent sur le principe de la dilatation débit-dépendante. L'augmentation du débit local est généralement obtenue, comme nous l'avons vu précédemment, en abaissant la résistance vasculaire régionale en aval du site de mesure du diamètre de l'artère de conductance étudiée. Cependant, cette vasodilatation artériolaire d'aval est ici provoquée non par un agent pharmacologique, mais par l'ischémie dans le cas de l'hyperémie postischémique, par l'augmentation des besoins métaboliques cardiaques dans le cas du test au froid et par l'augmentation de la température cutanée locale dans celui du chauffage cutané distal. L'amplitude de la dilatation débit-dépendante est alors comparée à celle obtenue en réponse à l'administration sublinguale de dérivés nitrés. Les méthodes les plus utilisées pour la mesure de ces réponses reposent sur l'échographie (83) et sur l'echotracking vasculaire haute résolution, pour les artères de conductance périphériques, et sur l'angiographie couplée à l'analyse d'image, pour les artères coronaires épicaudiques. En effet, la précision de l'imagerie conventionnelle n'est pas suffisante pour réaliser ces mesures. L'amplitude de la réponse vasodilatatrice de l'artère radiale ou d'une artère coronaire épicaudique est de l'ordre de 10 à 15 % de son diamètre en réponse à l'acétylcholine comme à l'augmentation du débit (200 à 450 μm) chez le sujet sain et peut atteindre 20 à 30 % (400 à 600 μm) de sa lumière après trinitrine. Dans ce contexte, l'echotracking vasculaire apparaît comme la méthode de référence, car sa précision de mesure est la plus importante (\approx 10-20 μm). Cependant, les méthodes échographique (mode B) et angiographique couplées à l'analyse d'image, comme l'imagerie par résonance magnétique, sont utilisables mais nécessitent, sur le plan statistique, des effectifs importants pour détecter une différence entre deux populations ou l'effet d'un traitement, dans la mesure où leur précision individuelle est plus faible (50-60 μm pour l'échographie mode B suivie d'un traitement de signal).

L'hyperémie postischémique repose sur la diminution de la résistance vasculaire régionale lors de l'ischémie et sur l'hyperémie qui accompagne sa brusque suppression (108). La

mesure concomitante du diamètre de l'artère de conductance, en amont de la zone ischémique, permet l'étude de la dilatation débit-dépendante de ces artères au niveau périphérique chez l'homme. Cette méthode a été proposée, il y a environ quinze ans, pour l'étude de la dilatation débit-dépendante des artères de conductance périphériques et a connu un grand développement depuis la mise en évidence du rôle de l'endothélium dans cette réponse (109;110). L'ischémie d'aval est généralement provoquée par la mise en place d'un brassard pneumatique qui est gonflé à une pression supérieure à la pression systolique. Le brassard est disposé au niveau du poignet, lors de l'étude de la dilatation débit-dépendante radiale et humérale (108), et à l'extrémité inférieure de la cuisse, lors de l'étude de la dilatation débit-dépendante de l'artère fémorale commune. Cette ischémie s'accompagne d'un effondrement de la résistance en aval du brassard de compression. La tolérance de cette manœuvre est généralement bonne en dépit de durées d'ischémies importantes pouvant atteindre 15 minutes. À la fin de la période d'ischémie, le dégonflage rapide du brassard restaure la continuité entre les segments vasculaires d'amont, à haute résistance, et le compartiment d'aval, à faible résistance, et s'accompagne d'une élévation du débit, caractéristique de l'hyperémie postischémique, suivie dans le temps d'une augmentation du diamètre de l'artère étudiée qui correspond à la dilatation débit-dépendante. L'hyperémie postischémique ne s'accompagne pas de modifications de la pression artérielle et de la fréquence cardiaque (110;111). De plus, le maintien du débit à sa valeur basale lors de la levée de l'ischémie, au moyen d'un second brassard incomplètement occlusif, empêche la survenue de la dilatation humérale, correspondant à son caractère débit-dépendant (109). De même, l'enregistrement intra-artériel de la pression humérale a permis de confirmer que cette dilatation s'observe sans modification significative de la pression pulsée, rendant peu probable l'hypothèse d'une modification de diamètre secondaire à la modification de la pression locale (109;111). Enfin, l'amplitude de la dilatation débit-dépendante est corrélée à l'aire sous la courbe de vélocité, témoignant d'un lien entre l'intensité du stimulus hyperémique et l'amplitude de la vasodilatation débit-dépendante (104;110). Dans ce contexte, cette méthode, couplée à l'administration intra-artérielle locale d'un inhibiteur de la NO-synthase, a permis de montrer chez l'homme que la dilatation débit-dépendante des artères de conductance périphériques est essentiellement due à la libération de NO pour des durées d'ischémie allant de 3 à 5 minutes (111).

L'hyperémie post-ischémique est parfois réalisée en plaçant le brassard à la racine du membre alors que la dilatation débit-dépendante est étudiée en aval. Cette procédure devrait être abandonnée au profit de l'ischémie d'aval. En effet, dans cette situation, l'artère de conductance étudiée est elle-même placée dans la zone ischémique et le mécanisme de sa réponse dilatatrice n'est plus uniquement débit-dépendant mais passe en partie par l'action dilatatrice directe des facteurs libérés lors de l'ischémie sur l'artère de conductance. Ainsi, le rôle du NO dans cette réponse apparaît diminué malgré l'augmentation du volume musculaire ischémié et de l'amplitude de l'hyperémie qui l'accompagne (112).

La dilatation débit-dépendante des artères de conductance périphérique, comme l'artère radiale ou humérale, est significativement corrélée à l'amplitude des réponses endothéliales des artères coronaires épicaudiques et à l'étendue de l'athérosclérose coronarienne (113). Son caractère non invasif permet cependant de l'appliquer de façon répétitive à des sujets asymptomatiques, notamment des enfants et des jeunes adultes. Les études qui ont mis en œuvre cette technique ont permis d'obtenir des informations précieuses sur les effets de différents facteurs de risque dans le développement de l'athérome. Ainsi, une dysfonction endothéliale a été mise en évidence à un stade précoce chez l'hypercholestérolémique et chez le fumeur (114). Le tabagisme passif et actif est associé à une altération de la dilatation débit-dépendante, partiellement réversible à l'arrêt de l'intoxication (114). De même, la reproductibilité de cette méthode a permis de démontrer qu'une diminution des lipides sanguins et/ou une activité physique régulière permettaient d'améliorer la dysfonction endothéliale observée dans différents types de pathologies (104;111;114). Cependant, la réalisation de ces épreuves fonctionnelles nécessite un long apprentissage et le respect de conditions d'exploration standardisées.

Afin de diminuer la variabilité des réponses observées, il est préférable de réaliser les mesures à distance d'un repas riche en graisses, au même moment de la journée, voire du cycle menstruel chez les femmes non ménopausées. De plus, des facteurs comme la durée de l'ischémie et les temps de mesure utilisés après le dégonflage doivent être standardisés pour permettre la comparaison de séries de mesures. En effet, il a été montré, en utilisant des durées d'ischémie comprises entre 3 et 10 minutes, que l'amplitude et le temps de

survenue du pic de diamètre sont d'autant plus importants que la durée de l'ischémie qui le précède est longue (104). De même, il a été montré que le temps de survenue du pic de diamètre pour une durée d'ischémie donnée variait d'un sujet à l'autre : l'enregistrement continu dans le temps est donc préférable à la mesure discontinue du diamètre lors de l'hyperémie postischémique (115).

Ces différentes approches sont actuellement utilisées en recherche, mais leur développement devrait permettre de les utiliser dans l'avenir pour le diagnostic et la prise en charge précoce de la dysfonction endothéliale en pratique clinique.

CHAPITRE 4 : LES EFFETS DE L'ALIMENTATION SUR LA SANTÉ CARDIOVASCULAIRE

Le dynamisme de la recherche en nutrition a mené à de nouveaux concepts concernant l'influence de l'alimentation sur les facteurs de risque des MCV.

4.1 LES ACIDES GRAS POLYINSATURÉS OMÉGA-3

Il existe différents type de gras (ou lipides) dans les aliments que nous consommons et leurs effets sur la santé peuvent être protecteurs ou dommageables. Un excès de gras saturés, de gras trans et de cholestérol alimentaire est nuisible pour la santé cardiovasculaire alors que la consommation quotidienne de gras monoinsaturés et polyinsaturés est bénéfique. Les acides gras oméga-3 font partie des gras polyinsaturés à privilégier dans notre alimentation. On dit qu'ils sont des acides gras « essentiels », car notre corps est incapable d'en fabriquer et que nous devons nécessairement en manger pour satisfaire nos besoins.

4.1.1 Les principales sources

Certains acides gras sont dits « essentiels », car l'organisme ne peut les synthétiser par lui-même. Les besoins doivent donc être comblés par la consommation d'aliments ou de suppléments. Ces acides gras polyinsaturés (de type oméga-3 et oméga-6) participent à une foule de processus importants : la constitution et l'intégrité des membranes cellulaires, le bon fonctionnement des systèmes cardiovasculaire, cérébral, hormonal et inflammatoire. La consommation et l'absorption d'oméga-3 et d'oméga-6 permet donc au corps de fabriquer des substances primordiales pour son bon fonctionnement (voir figure 7).

Les oméga-3, l'acide alpha-linolénique, se retrouvent dans certaines sources végétales, telles que l'huile de canola et de graines de lin, tandis que pour les deux autres membres de

4.1.2 La dose et la forme d'administration

Les oméga-3 et leurs propriétés font l'objet de nombreuses recherches chaque année, ce qui entraîne une évolution rapide et des mises à jour fréquentes dans les recommandations nutritionnelles à leur sujet. Voici un bref état de la situation.

Plusieurs pays, ainsi que l'Organisation mondiale de la santé, ont émis des recommandations au sujet de l'apport en oméga-3, qui se résument ainsi (103) :

Acide alpha-linolénique : de 0.8 g à 1.1 g/jour

EPA + DHA : de 0.3 g à 0.5 g/jour

En 2004, un comité réunissant des experts internationaux a fixé l'apport idéal en acide alpha-linolénique à 0.7 % des kilocalories quotidiennes, soit 1.5 g par jour pour une alimentation fournissant 2 000 kilocalories (125). Ces experts recommandent également un apport minimal de 500 mg par jour d'EPA/DHA pour le maintien d'une bonne santé cardiovasculaire.

Ces données n'ont pas encore été entérinées par les autorités américaines et canadiennes. Dans ces deux pays, l'apport suffisant en acide alpha-linolénique est, pour l'instant, fixé à 1.1 g par jour pour les femmes, et à 1.6 g pour les hommes, soit environ 0.5% de l'apport énergétique. Aucun apport n'est fixé pour l'EPA/DHA. Ces recommandations sont critiquées par certains experts, qui les estiment insuffisantes pour permettre une réduction des maladies coronariennes en Amérique du Nord.

4.1.3 Les mécanismes d'action

Plusieurs mécanismes pourraient être à la base des effets cardioprotecteurs des acides gras oméga-3, notamment des effets antiarythmiques (103;118;126;127), antiathérogéniques

(118;126;127), antithrombotiques (103;118;126-128), antiinflammatoires (103;118;126;128) et vasoprotecteurs (103;118;126-128). Plus particulièrement, les effets antiarythmiques pourraient découler de l'action au niveau des canaux ioniques membranaires (103;117;127-129) et de l'excitation électrique des membranes (117;127). En effet, des études portant sur les effets des acides gras polyinsaturés oméga-3 sur les canaux ioniques de myocytes ventriculaires ont été effectuées (117;130). Xiao *et al.*, tout comme Leifert *et al.* (131), ont démontré que l'EPA et le DHA inhibent le courant sodique I_{Na} (129). Ils ont aussi démontré que ces mêmes acides gras inhibent le courant calcique I_{Ca} (132). Kang *et al.* ont quant à eux démontré que l'effet sur le courant sodique s'effectue par la liaison directe des acides gras aux sous-unités protéiques du canal (130). D'autres études ont aussi démontré une inhibition du courant potassique transitoire sortant I_{t0} et du courant potassique rectifiant retardé I_K (117). Pour ce qui est de l'excitabilité électrique des membranes, Kang *et al.* ont observé que les acides gras polyinsaturés oméga-3 ont un effet sur plusieurs paramètres reliés au potentiel d'action. En effet, ils augmentent le seuil nécessaire pour qu'un potentiel d'action soit déclenché. De plus, le potentiel membranaire de repos devient plus négatif. Finalement, ils augmentent la période réfractaire. Tous ces effets ont comme conséquence une diminution de l'excitabilité membranaire. Cela découlerait de l'action de ces acides gras au niveau des canaux ioniques (133). Les acides gras polyinsaturés oméga-3 pourraient aussi avoir un effet au niveau de la fluidité des membranes. En effet, une augmentation de la fluidité membranaire a été observée en présence d'oméga-3 (131). Toutefois, Pound *et al.* ont énoncé qu'il était improbable que les effets des oméga-3 au niveau des courants ioniques membranaires et des arythmies soient dus à une interaction avec les phospholipides de la membrane, en raison de la trop faible proportion de ces acides gras par rapport aux phospholipides, aux concentrations auxquelles les effets antiarythmiques ont été observés (134).

4.1.4 Les effets cardioprotecteurs des acides gras polyinsaturés oméga-3

Bang *et al.* ont observé que les niveaux de TG, de lipoprotéines de très faible densité (VLDL) et de cholestérol étaient plus bas chez les Eskimos du Groenland comparativement aux habitants du Danemark, tandis que le niveau d'acides gras polyinsaturés était plus

élevé. Ils ont émis l'hypothèse que ces acides gras, provenant de l'ingestion de mammifères marins, pourraient être responsables de cette diminution et par conséquent pourraient être en lien avec la faible incidence d'occlusions coronariennes observée chez cette population (135).

Par la suite, plusieurs études ont démontré des effets cardioprotecteurs des acides gras polyinsaturés oméga-3 (voir tableau 3), notamment au niveau des arythmies cardiaques (136-139), des maladies coronariennes (140-142), des MCV (140), des accidents vasculaires cérébraux (143;144), de l'infarctus du myocarde (143;145), de la mort subite cardiaque (146-149) et de la mortalité cardiovasculaire ou de toutes autres causes (141;145;149-151). Une des études les plus importante est GISSI-Prevenzione qui a observé une diminution de la mortalité, du nombre d'infarctus du myocarde non fatal et du nombre d'accident vasculaire cérébral chez un groupe de patients ayant survécu à un infarctus récent assigné à la prise de suppléments d'acides gras polyinsaturés oméga-3 (143). Quelques années plus tard, une évaluation des bénéfices a été effectuée, et une diminution de la mortalité totale, ainsi que de la mort subite cardiaque, a été observée. Ces dernières observations supportent l'hypothèse que les acides gras polyinsaturés oméga-3 possèdent un effet antiarythmique et/ou antifibrillatoire (149). Jusqu'à maintenant, la majorité des études effectuées relativement aux arythmies cardiaques, tant *in vitro* que clinique, se rapportent aux arythmies ventriculaires (136-139;148); très peu ayant analysé l'impact des acides gras oméga-3 au niveau auriculaire et sont majoritairement des études très récentes (152;153). Une étude analysant les effets des oméga-3 n'a rapporté aucune association entre la consommation d'acides gras oméga-3 et la réduction de la fibrillation ou du flutter auriculaire. Toutefois, certaines limitations de l'étude ont peut être influencé les résultats, notamment quant à la prise des suppléments d'huile de poisson. En effet, cela n'a pas été pris en compte dans les habitudes de vie et alimentaires des personnes incluses. De ce fait, il est possible que la division des groupes en fonction de leurs consommations d'oméga-3 ne reflète pas totalement leurs expositions à ces acides gras (154).

Tableau 3. Effets cardioprotecteurs des oméga-3. Adapté de (155).

Effet cardiovasculaire	Mécanisme
Anti-arythmique	Améliore la fluidité membranaire Prévient la fibrillation auriculaire
Anti-thrombotique	Diminue l'agrégation plaquettaire
Anti-athérogène	Diminue l'hyperplasie de l'intima
Anti-inflammatoire	Réduit la production d'eicosanoïdes pro-inflammatoires (prostaglandines) Réduit les concentrations de protéine C-réactive
Améliore la fonction endothéliale	Effet direct sur la fonction endothéliale vasomotrice
Diminue la pression artérielle	Par les 3 précédents effets cardiovasculaires
Améliore les profils lipidiques et de risque cardiovasculaire	Diminue la synthèse hépatique de TG et les lipoprotéines de très basse densité (VLDL) résultant des bas niveaux de TG Augmente les niveaux de lipoprotéines de haute densité (HDL) Abaisse les niveaux d'apolipoprotéine B-100

4.1.5 Les effets des acides gras polyinsaturés oméga-3 sur la fonction endothéliale

Les acides gras n-3 ont un effet direct sur la fonction vasculaire grâce à l'absorption et l'intégration dans le muscle lisse vasculaire et les cellules endothéliales. La prolifération des cellules du muscle lisse vasculaire joue un rôle important dans la pathogenèse de l'athérosclérose. Les acides gras n-3 peuvent inhiber la prolifération des cellules du muscle lisse par la modulation de signaux de croissance ou la synthèse ADN (156;157), ce qui est liée à la quantité de lipides peroxydes formés dans les cellules (158). Terano et al (157) ont proposé que l'EPA inhibe la prolifération des cellules musculaires lisses vasculaires à travers les voies de transduction de signal liés à un certain nombre de facteurs de croissance. Par exemple, EPA inhiberait la liaison de plaquettes dérivées du facteur de croissance à ses récepteurs de surface, pour supprimer l'activation de la protéine kinase C. En outre, les acides gras n-3 inhibent les cyclines et de leurs sous-unités catalytiques

(cycline-dépendent kinase), qui contrôlent la progression du cycle cellulaire par l'intermédiaire de la synthèse de l'ADN, et supprime la transformation du facteur de croissance (156).

Les cellules endothéliales sont également importantes pour la fonction des cellules musculaires lisses, le remodelage vasculaire et le maintien de la tonicité vasculaire à la fois par la vasoconstriction et la vasodilatation (159). L'oxyde nitrique (NO) est le principal composé responsable de la vasodilatation des artères et a des effets inhibiteurs sur l'agrégation plaquettaire et l'adhérence des leucocytes, et la prolifération des cellules du muscle lisse (160). La dysfonction endothéliale est associée au risque de coronaropathie et l'élément déclencheur de l'athérosclérose. Les acides gras n-3 peuvent accroître la production de facteur dérivé de l'endothélium de relaxation vasculaire (EDRF), qui est réduite dans l'athérosclérose (161). Dans une étude, l'effet à la fois de EPA et de DHA améliore de la vasodilatation de l'endothélium-dépendant chez les sujets ayant une hypercholestérolémie (162). En outre, des études *in vitro* suggèrent que la relaxation de l'endothélium-dépendant avec les acides gras n-3 est due au NO mis en circulation (163). Cette conclusion est appuyée par le fait que l'EPA stimule la production de NO par les cellules endothéliales et induit la relaxation de l'endothélium-dépendant chez des espèces bovine (164). Ces études suggèrent que les acides gras n-3 provoqueraient l'augmentation de la vasodilatation de l'endothélium-dépendant chez les patients avec MCV.

4.2 POLYPHÉNOLS CONTENUS DANS LA CANNEBERGE

La canneberge est un fruit appartenant à la famille des éricacées (airelle, myrtille). On l'appelle aussi airelle à gros fruits, airelle des marais et son nom latin est *Vaccinium macrocarpon*. Cette grosse baie rouge foncé a une chair ferme et croquante et une saveur fruitée légèrement âpre et astringente. Elle est constituée de plus de 80% d'eau et de 10% de glucides. Elle renferme des flavonoïdes, des anthocyanidines, du catéchol, des triterpénoïdes, des acides organiques (citrique, malique, quinique, benzoïque, glucuronique, etc.) et de la vitamine C (165). Cultivée dans les états septentrionaux des États-Unis et du Canada, la canneberge pousse à l'état sauvage sur des arbustes d'une hauteur de 10 à 20 centimètres.

4.2.1 Les principaux composés

Les principaux constituants de la canneberge sont les flavonoïdes dont on connaît les propriétés anti-tumorales, anti-virales, anti-inflammatoires, ainsi que des flavonols pigments végétaux (hydroxy 3 flavones), des anthocyanes qui jouent également un rôle de pigmentation de la plante, et des procyanidols (tanins faisant partie du groupe des polyphénols).

4.2.2 La dose et la forme d'administration

L'extrait de canneberge sous forme de jus ou de comprimé a prouvé son efficacité. On trouve 3 sortes de jus : le pur jus sans dilution d'excipients est moins utilisé à cause de sa saveur acide ; le jus cocktail contient 26 % à 33 % de pur jus, de l'eau et du saccharose ou/et du fructose et le jus concentré qui correspond au pur jus concentré cinq fois. Les comprimés ou les capsules contiennent du jus déshydraté. Enfin, des baies fraîches ou congelées sont également proposées.

Actuellement, peu d'informations sont disponibles sur la consommation quotidienne de polyphénols végétaux dans l'alimentation. Une étude réalisée aux États-Unis a évalué une consommation quotidienne de 1 g/j de flavonoïdes (166). Les plus grandes quantités de flavonoïdes ingérées proviennent des boissons et des fruits (420 mg par le café, le thé, le vin, le chocolat et la bière et 290 mg par les fruits et les jus de fruit) (167). Une étude plus récente, réalisée aux Pays-Bas, a estimé la consommation moyenne quotidienne de flavonols et de flavones à 23 mg (168;169). Ces résultats sont similaires à ceux rapportés par Justesen (170), qui a estimé la consommation de flavonoïdes au Danemark à 28 mg/j. La consommation quotidienne d'anthocyanes aux États-Unis a été évaluée à 180–215 mg/j (166). Des extraits riches en anthocyanes, tels que les extraits de myrtille et de sureau, sont disponibles commercialement. Ainsi, s'ils sont utilisés comme complément nutritionnel, les apports journaliers en anthocyanes sont considérablement augmentés. C'est pourquoi, il est encore difficile d'évaluer la consommation totale de polyphénols et plus particulièrement d'anthocyanes dans l'alimentation.

L'absorption, la distribution et la métabolisation des anthocyanes n'ont été que très sommairement étudiées. Il est donc difficile de calculer les paramètres pharmacocinétiques des polyphénols et plus particulièrement des anthocyanes absorbées quotidiennement dans l'alimentation, notamment en raison de la complexité des structures chimiques de ces composés. Un dosage des flavonoïdes dans le plasma humain de sujets n'ayant pas eu d'apport supplémentaire en polyphénols a permis de révéler la présence de ces composés à une concentration comprise entre 0.5 et 1.6 μM (171). Les études de Matsumoto et al. (172) ont déterminé les paramètres d'absorption de la delphinidine-3-ruténoside (D3R), de la cyanidine-3-ruténoside, de la delphinidine-3- glucoside et de la cyanidine-3-glucoside administrées oralement à des rats (800 $\mu\text{mol/kg}$ de poids). Ils ont mis en évidence une concentration plasmatique maximale d'anthocyanes. Les résultats montrent que les quatres anthocyanes sont présents dans le plasma et dans l'urine des sujets ayant absorbé ce mélange. Ces résultats suggèrent que les anthocyanes sont directement absorbés et distribués dans le sang (172).

4.2.3 Les mécanismes d'action

La propriété des polyphénols la mieux décrite est leur activité antioxydante et leur capacité à piéger les radicaux libres. Les flavonoïdes inactivent et stabilisent les radicaux libres grâce à leur groupement hydroxyle fortement réactif. Ils sont également capables de chélater les ions métalliques (largués à partir de leurs protéines de fixation ou de transport) qui peuvent renforcer ces effets délétères par la production des radicaux hydroxyles (173). En tant qu'antioxydants, les polyphénols sont capables d'inhiber la carcinogenèse. Les polyphénols sont aussi des inhibiteurs enzymatiques à l'égard de l'aldose réductase, de la phospholipase A2 et des enzymes de l'inflammation : la cyclooxygénase et la lipo-oxygénase (174).

Les polyphénols agissent sur les vaisseaux sanguins sous forme d'activité vitaminique « P » (175). Cette activité intervient dans le maintien d'une perméabilité vasculaire normale. Ils sont, de ce fait, utilisés dans certains états pathologiques caractérisés par un défaut affectant la perméabilité vasculaire (176). Les polyphénols sont responsables d'une augmentation de

la résistance des capillaires. Cette activité serait en rapport avec les effets de certains polyphénols sur les plaquettes, les leucocytes et sur les enzymes intervenant dans la coagulation sanguine.

In vitro, plusieurs polyphénols sont capables de modifier le métabolisme de l'acide arachidonique plaquettaire (177). C'est ainsi que la myricétine et la quercétine bloquent l'action des cyclo-oxygénase et lipoxigénase à des concentrations relativement élevées.

L'activité des polyphénols comme piègeurs de radicaux libres étant bien établie, des études récentes suggèrent qu'ils seraient également de puissants piègeurs du radical NO (178). Celui-ci étant élaboré par plusieurs types de cellules, notamment les cellules endothéliales et les macrophages. De plus, la libération de NO due à l'activité NO synthase est importante dans le maintien de la dilatation des vaisseaux sanguins (179). Certains polyphénols ayant la propriété d'inhiber la cyclooxygénase, comme la quercétine, pourrait jouer un rôle important dans le blocage de la vasodilatation due à la relaxation exercée par NO sur les cellules musculaires lisses de l'endothélium vasculaire (NO/ EDRF, facteur relaxant dérivant de l'endothélium).

4.2.4 Les effets cardiprotecteurs des canneberges

La canneberge renferme différents types de flavonoïdes, de puissants antioxydants qui permettent de neutraliser les radicaux libres du corps et, ainsi, prévenir l'apparition des MCV, de certains cancers et de diverses maladies liées au vieillissement. Les trois principales classes de flavonoïdes des canneberges sont les anthocyanines (responsables de la coloration rouge), les flavonols et les proanthocyanines. La capacité antioxydante de la canneberge fait désormais l'unanimité auprès de la communauté scientifique. La mesure de son activité antioxydante a permis de la classer bonne première parmi onze fruits, dont la pomme, le raisin rouge, la fraise, le pamplemousse et la pêche (180). De plus, elle a été identifiée comme étant le fruit contenant la quantité la plus élevée de composés phénoliques parmi une liste de vingt fruits reconnus antioxydants. Notons dans ces deux études, le bleuet n'apparaissait pas dans la liste des fruits évalués. Dans une étude parue

subséquemment (181), celui-ci s'est mieux classé que la canneberge, qui est arrivée deuxième à ce chapitre. Plusieurs effets positifs sont ressorties des diverses études parues sur les effets de la canneberge (voir tableau 4).

Tableau 4. Études chez l'humain étudiant l'effet des canneberges sur le profil de risque de MCV.

Auteurs	Modèle	Dose (durée)	Résultats
Vinson JA ACS Meeting 2003- Résumé	Hommes et femmes	250, 500 et 750 ml CJ/jour (3 x 4 semaines)	<ul style="list-style-type: none"> • Augmentation des HDL • Diminution des LDL • Augmentation de la capacité antioxydante
Wilson T et al. Life Sciences (2005) 54:856-861	Hommes	Extrait de canneberges	<ul style="list-style-type: none"> • Diminution de l'oxydation des LDL (in vitro)
Chambers & Camire Diabetes Care (2005) 54: 856-861	Hommes et femmes	Poudre de CJ (240 ml/jour) 12 semaines	<ul style="list-style-type: none"> • Aucun changement dans les lipides
Ruel G et al. Metabolism (2005) 54:856-861	Hommes en santé	7 ml/kg de poids (14 jours)	<ul style="list-style-type: none"> • Augmentation de la capacité antioxydante • Diminution des LDL oxydés
Ruel G et al. Br J Nutr (2006) 96: 357-364	Hommes avec surplus de poids	125, 250 et 500 ml CJ/jour (3 x 4 semaines)	<ul style="list-style-type: none"> • Augmentation des HDL • Aucun changement des LDL • Diminution de NOx
Duthie S et al. Eur J Nutr (2006) 45:113-122	Femmes en santé	Chassé-croisé avec placebo 750 ml CJ/jour (4 semaines)	<ul style="list-style-type: none"> • Aucun changement des lipides • Aucun changement du stress oxydatif
Ruel G et al. Br J Nutr (2007) Sous presse	Hommes avec surplus de poids	125, 250 et 500 ml CJ/jour (3 x 4 semaines)	<ul style="list-style-type: none"> • Diminution des LDL oxydées • Diminution des VCAM-1 • Diminution des ICAM-1 • Aucun changement de E-sélectine
Couillard C. Observation non publiées	Hommes avec surplus de poids	Chassé-croisé avec placebo 500 ml CJ/jour (4 semaines)	<ul style="list-style-type: none"> • Aucun changement des lipides • Aucun changement du stress oxydatif • Aucun changement de la fonction endothéliale • Diminution de la rigidité artérielle

De façon générale, les recherches indiquent que la consommation de flavonoïdes dans les aliments et les boissons peut diminuer le risque d'athérosclérose (182), processus menant à l'apparition des MCV. De plus, des recherches in vitro démontrent que les flavonoïdes empêcheraient l'oxydation des LDL de même que l'agrégation des plaquettes sanguines, deux autres facteurs de risque des MCV (182). Toutefois, les mécanismes à l'origine de l'effet cardioprotecteur des canneberges ne sont pas très bien connus. En effet, une seule étude clinique a été réalisée sur le sujet. Notre laboratoire a démontré que la consommation quotidienne d'environ 600 ml de jus de canneberge pendant deux semaines est associée à une diminution de la quantité de LDL oxydées en circulation (183), un marqueur du risque de MCV récemment identifié (184). Bien que le contenu en flavonoïdes de la canneberge soit le principal responsable de l'effet protecteur face aux MCV, il est important de noter que la synergie entre plusieurs composés contenus dans le fruit pourrait accentuer les bénéfices des flavonoïdes (182).

4.2.5 Les effets des canneberges sur la fonction endothéliale

La consommation d'aliments riches en polyphénols réduit le développement de nombreuses pathologies, telles que le cancer, l'ischémie cardiaque, l'athérosclérose et l'hypertension (168;169;185). Cela peut-être expliqué par le fait que ces composés ont la capacité de modifier de nombreux facteurs impliqués dans la genèse de ces maladies. Les polyphénols sont en effet capables d'abaisser la pression artérielle chez le rat (186;187), d'empêcher l'oxydation des LDL (188), d'inhiber la prolifération des cellules musculaires lisses vasculaires (189), d'empêcher l'agrégation plaquettaire (190), de stabiliser les cellules immunitaires et de promouvoir le relâchement des cellules musculaires lisses vasculaires (191). Ils ont ainsi été décrits comme étant des antioxydants, anti-agrégants plaquettaires, anti-inflammatoires, anti-allergènes, anti-thrombotiques et anti-tumoraux (185). Leurs propriétés sont liées au fait qu'ils peuvent moduler l'activité de nombreuses protéines intracellulaires (les protéines kinases, les phospholipases, l'adénylate cyclase, les ATPases, les cyclo-oxygénases, les NOS ou le cytochrome P450) et agir sur différents types cellulaires (les cellules musculaires lisses ou cardiaques, nerveuses ou diverses cellules tumorales) (185). Au niveau des cellules endothéliales, les polyphénols sont capables de

moduler l'activité, l'expression et/ou la sécrétion de divers facteurs impliqués dans le maintien d'une surface endothéliale anticoagulante, fibrinolytique et par conséquent anti-thrombogène (185). Par exemple, ils abolissent l'expression du facteur tissulaire, initiant la cascade de la coagulation, ou de molécules d'adhésion (tels que ICAM-1, VCAM-1 ou la E-sélectine), permettant le recrutement et l'adhésion des cellules du sang circulant. Les polyphénols peuvent aussi induire l'expression de l'activateur tissulaire de plasminogène (PAI-1) et de l'urokinase, responsables de la fibrinolyse. Une réduction de 58 % de la taille du thrombus, chez des rats ayant consommé du vin rouge pendant 10 jours, illustre parfaitement les effets fibrinolytiques et antithrombotiques des polyphénols (190). De nombreuses pathologies sont le résultat d'une altération de la fonction anticoagulante et régulatrice du tonus vasculaire de l'endothélium. Les polyphénols et les anthocyanes ont été décrits comme étant de puissants protecteurs du système cardiovasculaire (voir figure 8). Cela n'est pas uniquement lié à leurs effets sur les macromolécules (comme les LDL oxydées) ou sur les cellules circulantes (les leucocytes et les plaquettes) mais également à leur capacité d'agir directement sur l'endothélium vasculaire.

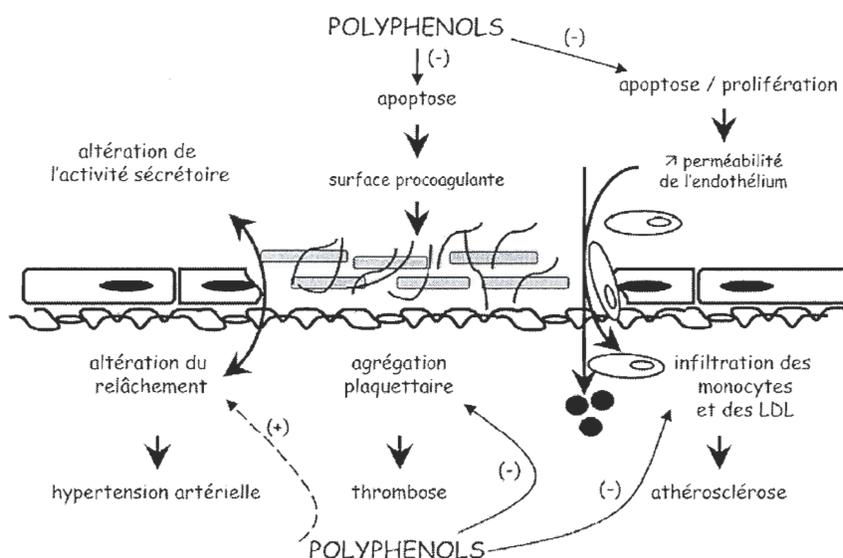


Figure 8. Effet des polyphénols dans le maintien de l'intégrité de l'endothélium vasculaire. Les symboles (-) représentent l'effet inhibiteur des polyphénols, et les symboles (+) montrent l'amélioration de la vasodilatation endothéliale par les polyphénols. LDL, lipoprotéines de basse densité. Adaptée de (192).

Une fonction physiologique importante de l'endothélium est de moduler la motricité vasculaire. En effet, de nombreuses pathologies sont associées à un dysfonctionnement de l'endothélium reflété par une altération du relâchement du vaisseau sanguin. De nombreuses études montrent qu'*in vitro*, les polyphénols induisent à faible concentration (< 10⁻² g/l) une vasodilatation dépendante de l'endothélium dépendante et à forte concentration (>10⁻¹ g/l), une vasodilatation dépendante du muscle lisse. Ces études ont été réalisées tant avec les vins rouges, les vins blancs (193), qu'avec des extraits polyphénoliques et des composés polyphénoliques purs (191). De nombreuses études ont tenté d'isoler le composé polyphénolique responsable du relâchement vasculaire. Les études menées dans notre laboratoire ont montré que les anthocyanes et les tannins condensés de faible poids moléculaire sont les composés les plus efficaces pour induire un relâchement dépendant de l'endothélium. Le travail de Burns (194) a également montré que seules les anthocyanes présentent une activité vasodilatatrice dépendante de l'endothélium. Les effets des polyphénols sur la vasomotricité sont le reflet de leur action sur l'endothélium ou directement sur les cellules musculaires lisses. Cette partie vise essentiellement à déterminer les effets des polyphénols sur les facteurs et les voies de signalisation impliqués dans la régulation de la vasomotricité par les cellules endothéliales.

De nombreuses études réalisées sur des vaisseaux isolés comme l'aorte ou l'artère mésentérique de rat montrent que des extraits concentrés de polyphénols ou des composés polyphénoliques purs induisent une relaxation des vaisseaux dépendante de la présence de l'endothélium (191;195). Il a été montré que l'action des polyphénols sur l'endothélium vasculaire est due à la production du NO, cela en mesurant directement sa production par les expériences de résonance paramagnétique électronique (191). Le dosage sanguin de NO réalisé chez l'homme a montré que 30 min après la consommation de vin rouge (1 g/kg de poids d'éthanol) et de polyphénols, le taux de NO augmente de 30 et 40 nM, respectivement. Parallèlement, une réduction de la pression sanguine de 11 mmHg et une augmentation du rythme cardiaque sont observées (196). En revanche, les mécanismes par lesquels les polyphénols activent la production endothéliale de NO ne sont pas encore clairement élucidés. De même, les travaux de Ramasamy et al. (197) montrent que les antioxydants phénoliques tels que l'acide caféique induisent la production endothéliale de

NO. Toutefois, il a été montré que toute relaxation est abolie en absence de Ca^{2+} extracellulaire, suggérant ainsi que les polyphénols peuvent induire un signal calcique dans la cellule endothéliale et de ce fait moduler directement la production de NO (198). Les polyphénols sont des composés capables de moduler l'homéostasie calcique. Ainsi, le resveratrol et la quercétine induisent une élévation de la $[\text{Ca}^{2+}]_i$ en activant préalablement des canaux K^+ ou en inhibant les Ca^{2+} -ATPases du réticulum endoplasmique dans les cellules endothéliales (199). La stimulation des cellules endothéliales par la delphinidine induit une augmentation à la fois de la teneur cytosolique en calcium ($[\text{Ca}^{2+}]_i$) et de la phosphorylation sur tyrosine de protéines intracellulaires, deux acteurs participant à la régulation de l'activité de la eNOS et par conséquent de la production de NO. Cette élévation de $[\text{Ca}^{2+}]_i$ est tributaire de l'activation de la voie de la PLC, probablement secondaire à celle d'une protéine G sensible à la toxine pertussique, et de l'activation de protéines tyrosine kinases (192). Il est aussi connu que les polyphénols peuvent moduler la teneur en NO en agissant sur les phosphodiésterases (PDE) présentes dans les cellules endothéliales : PDE2 et PDE4 (200). L'inhibition des PDE par les polyphénols et plus particulièrement par la delphinidine (201;202) augmente le NO dans les cellules endothéliales. La consommation modérée à plus long terme de polyphénols modifie également la motricité vasculaire. En effet, le gavage de rats normotendus avec des polyphénols (20 mg/kg, Provinols™) pendant 7 jours a pour effet d'améliorer la fonction endothéliale, reflétée par une relaxation plus importante à l'acétylcholine liée à une augmentation de la production de NO endothélial. De manière concomitante, une réduction de la pression artérielle sans induction d'un stress oxydatif est observée (187). La supplémentation alimentaire des rats en polyphénols (40 mg/kg, Provinols™) pendant 3 semaines produit les mêmes effets et s'accompagne d'une élévation de l'activité de la eNOS dans le ventricule gauche et dans l'aorte de ces animaux (186). Bien que cela n'ait jamais été mis en évidence dans les tissus d'animaux gavés, les polyphénols modulent non seulement directement l'expression de la eNOS mais également son activité dans divers types de cellules endothéliales. Le NO produit par la NO-synthase inductible, ne module la vasomotricité que lors des processus d'inflammation. De plus, les polyphénols ont été très largement décrits comme des inhibiteurs de l'activité NO-synthase inductible (203) suggérant une protection des polyphénols contre les effets délétères du NO.

L'ET-1 est le facteur contractant le plus puissant produit par l'endothélium. L'ET-1 est un peptide transcrit dans les cellules endothéliales en réponse à l'hypoxie, aux forces de cisaillement du flux sanguin ou à l'ischémie. Une fois liée à son récepteur, situé sur les cellules musculaires lisses vasculaires, elle induit une élévation de la $[Ca^{2+}]_i$, responsable de la contraction du vaisseau. Les effets des polyphénols sur la transduction du signal engendré par l'ET-1 n'ont été que très récemment mis en évidence par le groupe de Corder (204). Ainsi, de très faibles quantités de polyphénols de vin rouge suffisent à abolir la synthèse d'ET-1 dans les cellules endothéliales d'aorte de boeuf ($IC_{50} = 5.0 \pm 0.4 \mu\text{l/ml}$). Aucun des composés polyphénoliques purifiés (resveratrol, catéchine, épicatechine, pelargonidine, delphinidine, cyanidine), aux mêmes concentrations, n'exerce d'effet inhibiteur sur la synthèse d'ET-1, ce qui est en contradiction avec des études antérieures montrant que la quercétine ($0.5\text{--}50 \mu\text{M}$) inhibe la production d'ET-1 dans les cellules endothéliales de veine ombilicale humaine (205). À ce jour, les mécanismes d'action des polyphénols ne sont pas encore élucidés, bien que l'on puisse supposer qu'ils agissent sur les voies impliquées dans la régulation de la production d'ET-1 telles que les tyrosines kinases ou directement le NO. Aucune donnée n'est actuellement disponible quant aux effets *in vivo* des polyphénols sur la production d'ET-1. En conclusion, les polyphénols sont capables d'agir directement sur les deux facteurs endothéliaux majeurs régulant la vasomotricité. Bien que les conséquences *in vivo* d'un traitement chronique soient bien documentées en ce qui concerne le NO, celles concernant l'ET-1 restent à établir. Pourtant, il y a vraisemblablement mise en place de mécanismes de compensation puisqu'il est difficile de croire qu'une élévation de la teneur en NO et inversement qu'une diminution de la production d'ET-1 soient physiologiquement bénéfiques à long terme. Toutefois, ces propriétés sont un atout dans des situations pathologiques telles que l'hypertension artérielle.

CHAPITRE 5 : OBJECTIFS ET HYPOTHÈSES

Peu d'information existe sur la dysfonction endothéliale et le traitement avec des antioxydants et des acides gras polyinsaturés. Il est donc intéressant de voir leur effet individuel et combiné sur l'endothélium afin de comprendre davantage les mécanismes et les moyens d'améliorer la fonction endothéliale. L'objectif est alors d'observer les effets d'une supplémentation quotidienne d'huile de poisson avec ou sans supplémentation en cocktail de jus de canneberges sur la vasodilatation induite par une hyperémie (dépendante de l'endothélium) chez l'homme. L'hypothèse associée à cet objectif est que la supplémentation en jus de canneberges et oméga-3 a des effets bénéfiques sur l'hyperémie qui sont augmentées de part leur synergie.

**CHAPITRE 6 : LES EFFETS D'UNE SUPPLÉMENTATION EN HUILE DE
POISSON ET/OU JUS DE CANNEBERGES SUR LA FONCTION
ENDOTHÉLIALE CHEZ L'HOMME**

L'article composant ce chapitre s'intitule :

**Effects of n-3 PUFA Supplementation With or Without Low Calorie
Cranberry Juice Cocktail on Flow-Mediated Vasodilation in Men**

Julie Riopel-Meunier, Patrick Couture, Benoît Lamarche et Charles Couillard

RÉSUMÉ

Il a été démontré que la consommation de poisson tout comme celle de fruits et de légumes a un impact bénéfique sur le profil de risque de MCV. **Objectif :** Le but de l'étude était d'examiner les effets de l'huile de poisson (FO) avec ou sans supplémentation en jus de canneberges (JC) sur la vasodilatation induite par une hyperémie provoquée (FMD) chez l'homme. **Méthode :** Quatre-vingt-six hommes ont été divisés aléatoirement en 4 groupes : 1) placebo, n=11, 2) 500 mL/jour JC, n=13, 3) 2.3 g/jour FO, n=15 et 4) FO+JC, n=14. La FMD a été mesurée avant et après l'intervention par échographie au niveau de l'artère brachiale. Les mesures ont été effectuées au repos ainsi que 60 et 90 secondes suivant l'hyperémie. **Résultats :** Une augmentation significative du diamètre de l'artère brachiale a été observée dans le groupe JC lors des mesures au repos, à FMD60 comparativement aux autres groupes. Nous avons observé une modification significative de AD ($4.77 \pm 7.2 \%$, $p=0.042$), FMD60 ($-1.35 \pm 2.5 \%$, $p=0.0162$) et FMD90 ($+0.97 \pm 2.1 \%$, $p=0.0348$) pour le groupe JC. Nous avons aussi observé que les changements de FMD et NTG étaient négativement associés avec le diamètre de l'artère brachiale. **Conclusion :** En résumé, nous avons remarqué que la consommation journalière de JC pendant 12 semaines étaient associée à une augmentation du diamètre de l'artère brachiale au repos ainsi qu'à une diminution de pourcentage de dilatation lors de FMD. Nous avons aussi observé une diminution des TG pour les groupes ayant consommé des FO. D'autres études sont nécessaires afin de confirmer nos résultats et vérifier l'impact clinique de ces observations.

j
Effects of n-3 PUFA Supplementation With or Without Low Calorie Cranberry Juice Cocktail on Flow-Mediated Vasodilation in Men

Julie Riopel-Meunier, Patrick Couture, Benoît Lamarche, and Charles Couillard*

From the Institute of Nutraceuticals and Functional Foods, Laval University, Québec G1V 0A6, Canada and Lipid Research Center Laval University Medical Research Center, CHUL Pavilion, Québec G1V 4G2, Canada.

Corresponding author: Charles Couillard, Ph.D.
Associate Professor

Institute of Nutraceutical and Functional Foods
Department of Food Science and Nutrition
2440 boulevard Hochelaga, Room 2742
Laval University
Québec (Québec)
Canada G1V 0A6

Telephone: (418) 656-2131 ext. 12855

Fax: (418) 656-3423

E-mail: charles.couillard@inaf.ulaval.ca

Short title: n-3 PUFA, cranberry juice cocktail, endothelium-dependant vasodilation

Word Count – Abstract : 226

Text : 2850

KEY WORDS: cardiovascular diseases, cranberry juice cocktail, omega-3 polyunsaturated fatty acid, endothelial function.

Figures and tables: 6

ABSTRACT

Consumption of fish as well as fruits and vegetables have been shown to have favorable effects on CVD risk. The present study was therefore undertaken in order to compare the effects of fish oil (FO) w/wo cranberry juice cocktail (CJC) supplementation on flow-mediated vasodilation (FMD) in men. **Methods:** A group of 86 men was divided into 4 groups: 1) placebo, n=16, 2) 500 mL/day CJC, n=23, 3) 2.4 g/day of FO, n=22 and 4) CJC+FO, n=25. Before and after the intervention, FMD was measured by ultrasound echography of the brachial artery at 60 and 90 seconds after hyperemia. **Results:** We found significant difference in baseline brachial artery diameter (AD), FMD60 and FMD90 between control group and CJC group. We noted that baseline brachial artery (4.77 ± 7.2 %, $p=0.042$), FMD60 (-1.35 ± 2.5 %, $p=0.0162$) and FMD90 ($+0.97 \pm 2.1$ %, $p=0.0348$) were significantly improved following the intervention in CJC individuals only. We also found that changes in FMD and nitroglycerine-mediated vasodilation (NMD) were negatively associated with brachial AD. **Conclusion:** In summary, we found that CJC supplementation improved FMD in healthy overweight subjects and this supplementation on daily basis for 12 weeks was associated with an increase in resting brachial artery diameter. Further studies are needed to confirm our results and verify the clinical relevance of our observations.

Supported by the Canadian Institutes of Health Research

INTRODUCTION

The American Heart Association (AHA) uses the term cardiovascular disease (CVD) to describe various diseases that affect the heart and circulatory system. These diseases include coronary artery disease, hypertension, congestive heart failure, congenital cardiovascular defects, and cerebrovascular disease. CVD is a chronic disease who frequently progress as people age (1). The major causes of cardiovascular disease are tobacco use, physical inactivity, and an unhealthy diet (1).

CVD are mainly caused by a blockage of arteries that prevents blood from flowing to tissues and organs. Also, endothelial cells have long been considered as inactive and only acting as a semi permeable barrier between blood and tissues (2). However, there is a large body of evidence that now show that endothelial cells are involved in many aspects of vascular biology, including vasoconstriction and vasodilation and hence the control of blood pressure. In this regard, recent studies have shown that disturbances in endothelial function is considered as a key event in the development of CVD (3-5).

However, many studies described and established inverse relationship between the consumption of fruits and vegetables and CVD, for the most part, seem to reinforce the central role of antioxidants as protective nutrients (6-8). Oxidative stress is a central cause of endothelial dysfunction in atherosclerosis (9). Endothelial dysfunction is characterized by a decreased production and/or local bioavailability of nitric oxide (NO) (10). Therefore, brachial artery flow-mediated dilation (FMD) measurement by high-resolution ultrasonography is an applicable method that is used for the examination of endothelial function (11-13). Also, FMD is designated as an endothelium-dependent process that reflects the relaxation of a conduit artery when exposed to increased flow and, thereby, increased shear stress (10). So, an impaired FMD response reflects endothelial dysfunction (14).

In this case, among dietary interventions might protect against this dysfunction. There has been great interest in the effects of antioxidant therapy. Flavonoids are present in a large

selection of them, and thus must be considered an essential component of a healthy diet. Cranberries are one of the most important sources of flavonoids, which have a potential to protect endothelial function by their association with a reduction of oxidized LDL, intercellular cell adhesion molecule-1 (ICAM-1), vascular cell adhesion molecule-1 (VCAM-1) and E-selectin who is expressed by endothelial cells (15). Also the protective effects of diets rich in fish oil are quite strongly supported by clinical trial data (16). The omega-3 fatty acids are cardioprotective mainly due to beneficial effects on arrhythmias, atherosclerosis, inflammation, and thrombosis (17). They can improve endothelium-dependent vasodilation (18).

SUBJECTS AND METHODS

SUBJECTS

Eighty-six men from the Quebec City area were recruited through the media to participate in this 15-week intervention. In order to be eligible, the participants had to be healthy non-smokers aged between 18-70 years old with a waist circumference ≥ 90 cm and BMI ≤ 40 kg/m². Exclusion criteria included use of medication known to alter blood lipids concentrations and blood pressure as well as intake of vitamin and mineral supplements, smoking, alcohol consumption (≥ 30 mg per day). A written consent was given by each subject to participate in the study which was approved by the Medical Ethics Committee of Laval University.

INTERVENTION

Upon their entry into the study, subjects were instructed by a nutritionist to maintain their usual nutritional habits through-out the entire intervention. After 1 week run-in period consisting of consuming 500 ml/d of placebo juice and 4 placebo capsules (each containing 1000 mg of corn/soya oil, Ocean Nutrition, Mulgrave, Nova Scotia). The placebo juice has been developed by Ocean Spray Cranberries Inc. (Lakeville-Middleboro, MA, USA) and has similar properties (taste, colour, texture) as regular cranberry juice cocktail (CJC) without the cranberries. A detailed description of the PJ as been previously published (19). Following the run-in period, subjects were randomised to 1 of 4 treatments for a period of 12 weeks: 1) control, 500 ml of PJ and placebo capsule per day (n=16); 2) 500 ml CJC (n=23) and placebo capsules, 3) 4 fish oil (FO) capsules (n=22) and PJ, or 4) FO + CJC (n=25). Each FO capsules contained 1000 mg and are composed of 40% eicosapentanoic acid (EPA) and 20% docosahexanoic acid (DHA) (Ocean Nutrition, Mulgrave, Nova Scotia).

ANTHROPOMETRY

Body weight and height as well as waist and hip circumferences were measured following standardised procedures (20), and the BMI and waist-to-hip ratio were calculated.

PLASMA MEASUREMENTS

Blood samples were obtained from the subjects' antecubital vein in the morning after an overnight fast. Cholesterol and triglyceride concentrations were determined in plasma by enzymatic methods using a Technicon RA-1000 analyzer (Bayer Corporation Inc, Tarrytown, NY, USA), as previously described (21). The HDL fraction was obtained after precipitation of low-density lipoproteins cholesterol (LDL) from the infranatant ($d > 1.006$ g/mL) with heparin and $MnCl_2$ (18). The cholesterol and TG contents of the infranatant fraction were measured before and after the precipitation step. Apolipoprotein (apo) AI (plasma) and apoB (plasma, VLDL and LDL) concentrations were measured by nephelometry (Dade Behring, Mississauga, Ontario, Canada). The lyophilized serum standards for apo measurements were prepared at the Lipid Research Center of Laval University Medical Center and calibrated with reference standards obtained from the Centers for Disease Control (Atlanta, GA, USA).

ENDOTHELIAL FUNCTION MEASUREMENT

Flow-mediated dilation was determined by ultrasound imaging using a LogiqBook XP from General Electric (Phoenix, Arizona, USA). Briefly, subjects were instructed to lie supine in dimmed light room, with their left arm extended out laterally for twenty minutes. After this resting period, a clear artery image of brachial artery was obtained and 5 still images were captured at thirty seconds intervals. A cuff was then placed and inflated on the subject's left forearm. The cuff was inflated at 60 mmHg above the subject's systolic blood pressures. After three minutes of occlusion, the cuff was released to allow for reactive hyperaemia to occur. Images were captured at 60 seconds, and 90 seconds posthyperemia. Rate per cent flow-mediated dilation was utilized as an index of endothelium-dependent vasodilation.

Endothelium-independent vasodilation was also measured after administration of 0.4 mg of sublingual nitroglycerine (GTN). Images were recorded at 3, 3.5, 4 and 4.5 minutes after administration of GTN.

STATISTICAL ANALYSES

Data are presented as mean \pm SD unless stated otherwise. Pearson's correlation coefficients were calculated to test for the presence of univariate associations between variables. Student *t* tests and repeated-time ANOVA followed by Duncan test were also used in order to test for differences between groups and through the time. All statistical analyses were conducted using SAS statistical package (version 8.2, SAS Institute, Cary, NC, USA) and a *p* value ≤ 0.05 was considered significant.

RESULTS

Table 1 shows baseline physical and metabolic characteristics of the subjects. Subjects included in the study were overweight ($\text{BMI} > 25 \text{ kg/m}^2$) and their plasma lipoprotein-lipid profile was more deteriorated than what is proposed in National Cholesterol Education Program ATP III guidelines (22), except for cholesterol. The vasodilatory response of the brachial artery was found to be approximately four times greater when induced by NTG compared to the one measured after occlusive hyperaemia.

We noted no significant difference in physical characteristics following the intervention in either group (**table 2**). We found that FMD measured at 60 seconds and 90 seconds following occlusive hyperaemia was significantly lower at week 12 in subjects consuming CJC alone (**figure 1 and figure 2**), while there was no significant changes in FMD in the other groups after the 12-weeks intervention. Furthermore, the difference in the effect of the interventions in FMD across treatment did not reach statistical significance. On the other hand, resting brachial artery diameter significantly increased in the CJC group ($p=0.004$) over the 12-week period but not in the other treatment group (**figure 3**). Finally, we noted a significant correlation between changes in FMD at 60 seconds and 90 seconds and those of resting brachial artery diameter ($p=0.01$ and $p=0.0045$) (**figure 4**).

Unfortunately, no variation was noted in changes in nitroglycerine-mediated vasodilation of any group.

DISCUSSION

The major findings of this placebo-controlled study are that daily CJC consumption increases resting brachial artery diameter in overweight. To our knowledge, this is the first study to observe this effect in humans.

This dilation at resting time can be explained by few theories. Previously, *Xu and al* (23;24) demonstrated that cyaniding-3-glucoside, who was an anthocyanin present in the CJC, induced endothelial nitric oxide synthase (eNOS) promoter of bovine artery endothelial cells. Increased eNOS expression may help to improve endothelial dysfunction. So, if the expression is increased, NO production will be increased and artery dilation will be promoted. Other study suggested that a high cranberry extract promoted inhibition of angiotensin-converting enzyme. It has two primary functions: it catalyses the conversion of angiotensin I to angiotensin II, a potent vasoconstrictor (25) and it is involved in the inactivation of bradykinin, a potent vasodilator. On the other hand, the mechanism explaining the impairment of FMD in CJC subjects is unclear. It can be explained by the negative association between FMD and change in resting brachial artery diameter. Subjects with a large change in resting could not have an increase of FMD because their brachial artery was already expanded.

The present study also allowed us to observe no significant difference of FMD with FO supplementation in combination or not with CJC. These results are apparently in contradiction with previous observations showing that FMD with FO is increasing. However, difference in the dose of FO consumed by subject in the present study and duration of treatment with previous studies could partly explain the discrepancies with our observations. For example, Goodfellow et al. (18) noted an improvement of large artery endothelium-dependent with a dose of 4g/day for a 4 months treatment.

Furthermore, we saw any significant difference between groups after 12 weeks of supplementation for endothelium-independent vasodilation. It goes in the same way for *Fleischhauer and al* (26), who found no differences in the response to nitroglycerin

between the control and omega-3 fatty acid treated patients. It confirms also that vascular smooth muscle dilator responsiveness to NO is preserved, as evidenced by the normal dilator response to NTG.

In summary, our results suggest that daily supplementation of CJC may exert cardioprotective vasodilatory. However, our study also suggests that FO supplementation used in combination or not with CJC fails to improve FMD in overweight subjects. Further studies are needed to confirm our results and verify the clinical relevance of our observations.

ACKNOWLEDGEMENTS

This study was supported by the Canadian Institutes of Health Research (MOP-64438). Charles Couillard and Patrick Couture are research scholars from the Fonds de la recherche en santé du Québec (FRSQ). Charles Couillard is also supported by the Chair in Nutrition, Lipidology and Cardiovascular Disease of Laval University. Benoît Lamarche holds a Canada Research Chair in Nutrition, Functional Foods and Cardiovascular Disease. We also want to show gratitude to Dr. Jean-Charles Hogue who contributed to assessment and analysis of endothelial function measures. Finally, we would like to thank the subjects who participated in this study without whom, no clinical research would be possible.

TABLE 1

Physical and metabolic characteristics of study participants

	Means \pm SD	Range
Number of subjects	86	
Age (years)	48.9 \pm 10.5	23 – 68
Body weight (kg)	90.0 \pm 13.0	69.1 – 129.2
Body-Mass Index (kg/m ²)	29.1 \pm 3.6	23.1 – 43.0
Waist circumference (cm)	102.7 \pm 9.2	87 – 135
Waist-to-hip ratio	0.99 \pm 0.05	0.85 – 1.1
Systolic BP (mmHg)	116.1 \pm 11.7	91 – 154
Diastolic BP (mmHg)	75.9 \pm 8.2	54 – 98
Cholesterol (mmol/l)	5.15 \pm 0.79	3.82 – 7.35
Triglycerides (mmol/l)	1.98 \pm 0.87	0.88 – 7.07
LDL-cholesterol (mmol/l)	3.01 \pm 0.74	0.90 – 4.81
HDL-cholesterol (mmol/l)	0.99 \pm 0.21	0.67 – 1.55
Apolipoprotein B (g/l)	1.09 \pm 0.21	0.64 – 1.65
Brachial artery diameter (mm)	4.39 \pm 0.53	2.8 – 5.82
FMD at 60 sec (%)	3.34 \pm 2.0	1.8 – 9.1
FMD at 90 sec (%)	3.86 \pm 2.3	0.8 – 9.5
NMD at 3 min (%)	8.8 \pm 3.1	1.0 – 18.0
NMD at 3.5 min (%)	10.0 \pm 3.0	1.0 – 19.3
NMD at 4 min (%)	10.9 \pm 3.2	0.4 – 19.3
NMD at 4.5 min (%)	11.3 \pm 3.4	1.0 – 20.1

BP : blood pressure

FMD : Flow-mediated vasodilation (endothelium-dependent)

NMD : Nitroglycerine-mediated vasodilation (endothelium-independent)

TABLE 2
Physic changes between week 0 and week 12

	Week 0	Week 12	<i>P across treatment</i>
Weight (kg)			0.4197
Control	91.08 ± 13.49	91.3 ± 13.30	
CJC	86.88 ± 7.70	87.18 ± 7.54	
Omega-3	88.65 ± 14.42	88.87 ± 14.85	
CJC + omega-3	92.85 ± 15.16	93.13 ± 14.97	
BMI (kg/m²)			0.3675
Control	29.39 ± 3.56	29.47 ± 3.50	
CJC	28.26 ± 2.39	28.36 ± 2.33	
Omega-3	28.81 ± 3.73	28.88 ± 3.80	
CJC + omega-3	30.01 ± 4.25	30.12 ± 4.28	
Waist circumference (cm)			0.6289
Control	103.31 ± 9.26	102.94 ± 8.54	
CJC	100.63 ± 6.71	100.15 ± 6.04	
Omega-3	103.65 ± 10.45	103.34 ± 10.91	
CJC + omega-3	103.35 ± 10.12	103.29 ± 10.27	
WHR			0.3996
Control	0.98 ± 0.05	0.98 ± 0.05	
CJC	0.99 ± 0.06	0.99 ± 0.05	
Omega-3	1.00 ± 0.05	1.00 ± 0.05	
CJC + omega-3	0.98 ± 0.04	0.98 ± 0.04	
Systolic BP (mmHg)			0.7883
Control	118.69 ± 9.71	116.00 ± 9.72	
CJC	115.91 ± 16.53	115.30 ± 12.25	
Omega-3	114.32 ± 10.81	111.91 ± 12.20	
CJC + omega-3	116.16 ± 8.17	112.68 ± 10.34	
Diastolic BP (mmHg)			0.4779
Control	74.38 ± 8.96	74.38 ± 9.52	
CJC	76.22 ± 9.31	75.96 ± 7.65	
Omega-3	74.59 ± 6.42	73.82 ± 9.57	
CJC + omega-3	77.72 ± 8.18	74.84 ± 9.37	

FIGURE 1
Changes in flow-mediated vasodilation 60 seconds after the release of the cuff

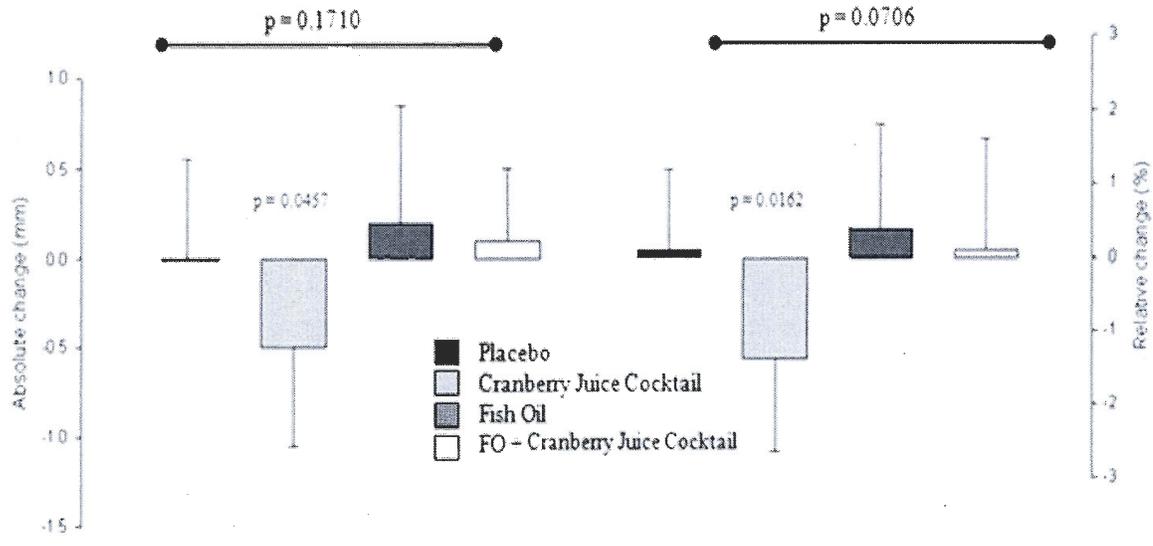


FIGURE 2

Changes in flow-mediated vasodilation 90 seconds after the release of the cuff

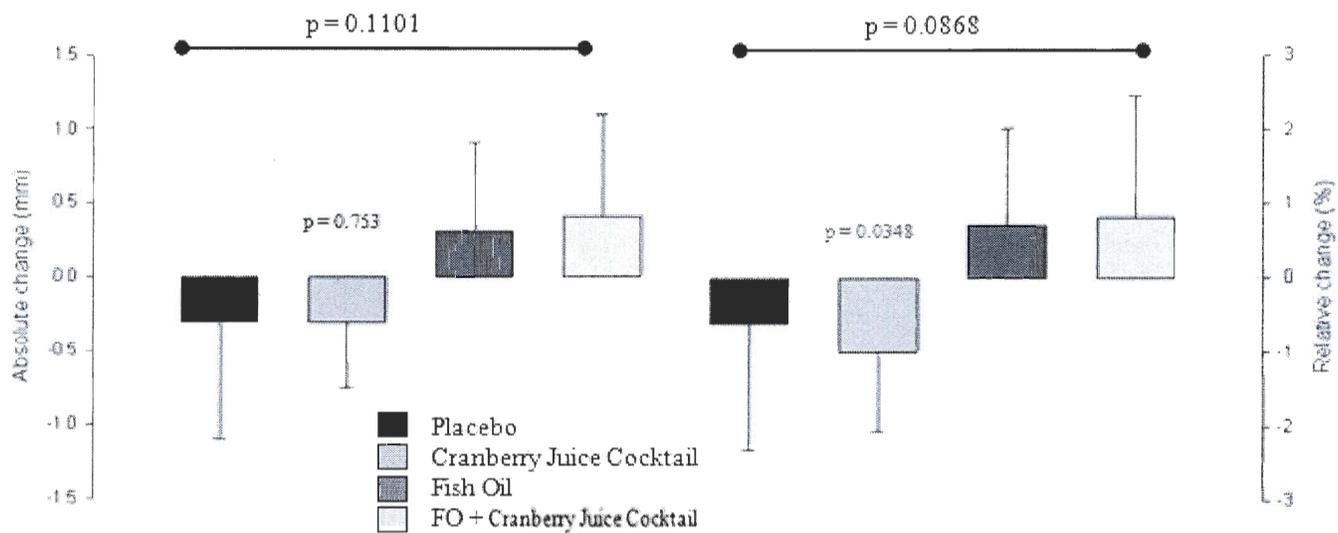


FIGURE 3
Changes in resting brachial artery diameter

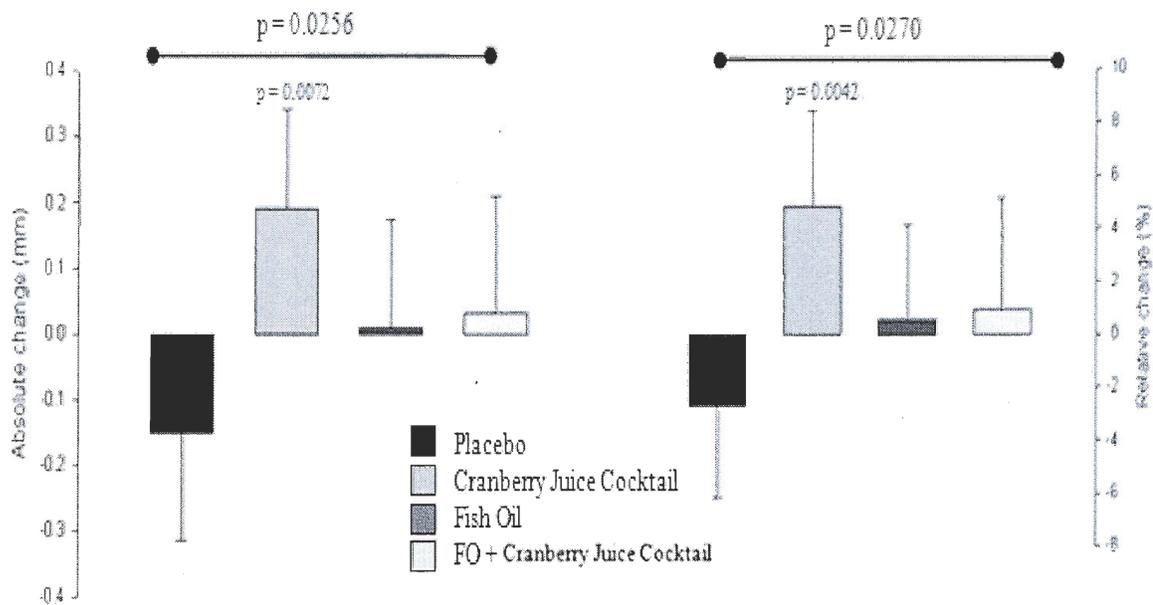
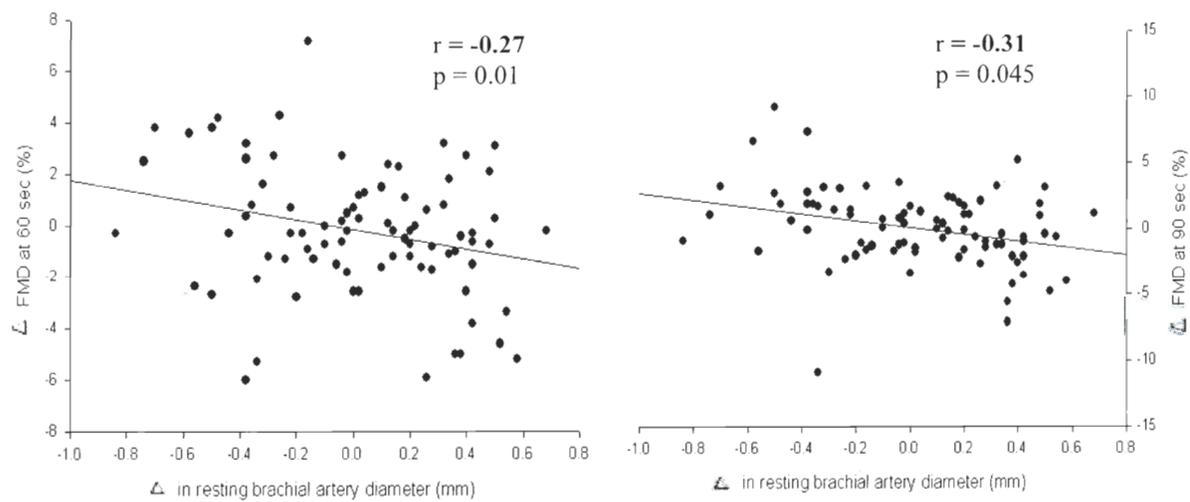


FIGURE 4

Correlation between FMD and brachial artery diameter at baseline



Reference List

1. American Heart Association. Cardiovascular Disease Statistics. <http://www.americanheart.org> (Accessed May 3th 2008).
2. Cooke JP. The endothelium: a new target for therapy. *Vasc.Med.* 2000;5:49-53.
3. Gokce N, Holbrook M, Duffy SJ et al. Effects of race and hypertension on flow-mediated and nitroglycerin-mediated dilation of the brachial artery. *Hypertension* 2001;38:1349-54.
4. Vita JA, Keaney JF, Jr. Endothelial function: a barometer for cardiovascular risk? *Circulation* 2002;106:640-2.
5. Toborek M, Kaiser S. Endothelial cell functions. Relationship to atherogenesis. *Basic Res.Cardiol.* 1999;94:295-314.
6. Duthie GG, Bellizzi MC. Effects of antioxidants on vascular health. *Br.Med.Bull.* 1999;55:568-77.
7. Marchioli R. Antioxidant vitamins and prevention of cardiovascular disease: laboratory, epidemiological and clinical trial data. *Pharmacol.Res.* 1999;40:227-38.
8. Rimm EB, Ascherio A, Giovannucci E, Spiegelman D, Stampfer MJ, Willett WC. Vegetable, fruit, and cereal fiber intake and risk of coronary heart disease among men. *JAMA* 1996;275:447-51.
9. Widlansky ME, Gokce N, Keaney JF, Jr., Vita JA. The clinical implications of endothelial dysfunction. *J.Am.Coll.Cardiol.* 2003;42:1149-60.
10. Moens AL, Goovaerts I, Claeys MJ, Vrints CJ. Flow-mediated vasodilation: a diagnostic instrument, or an experimental tool? *Chest* 2005;127:2254-63.
11. Celermajer DS, Sorensen KE, Gooch VM et al. Non-invasive detection of endothelial dysfunction in children and adults at risk of atherosclerosis. *Lancet* 1992;340:1111-5.
12. Laurent S, Lacolley P, Brunel P, Laloux B, Pannier B, Safar M. Flow-dependent vasodilation of brachial artery in essential hypertension. *Am.J.Physiol* 1990;258:H1004-H1011.
13. Sorensen KE, Celermajer DS, Spiegelhalter DJ et al. Non-invasive measurement of human endothelium dependent arterial responses: accuracy and reproducibility. *Br.Heart J.* 1995;74:247-53.
14. Kelm M. Flow-mediated dilatation in human circulation: diagnostic and therapeutic aspects. *Am.J.Physiol Heart Circ.Physiol* 2002;282:H1-H5.

15. Ruel G, Pomerleau S, Couture P, Lemieux S, Lamarche B, Couillard C. Low-calorie cranberry juice supplementation reduces plasma oxidized LDL and cell adhesion molecule concentrations in men. *Br.J.Nutr.* 2008;99:352-9.
16. Burr ML, Fehily AM, Gilbert JF et al. Effects of changes in fat, fish, and fibre intakes on death and myocardial reinfarction: diet and reinfarction trial (DART). *Lancet* 1989;2:757-61.
17. Schwalfenberg G. Omega-3 fatty acids: their beneficial role in cardiovascular health. *Can.Fam.Physician* 2006;52:734-40.
18. Goodfellow J, Bellamy MF, Ramsey MW, Jones CJ, Lewis MJ. Dietary supplementation with marine omega-3 fatty acids improve systemic large artery endothelial function in subjects with hypercholesterolemia. *J.Am.Coll.Cardiol.* 2000;35:265-70.
19. Ruel G, Pomerleau S, Couture P, Lemieux S, Lamarche B, Couillard C. Favourable impact of low-calorie cranberry juice consumption on plasma HDL-cholesterol concentrations in men. *Br.J.Nutr.* 2006;96:357-64.
20. van der KK, Seidell JC. Techniques for the measurement of visceral fat: a practical guide. *Int.J.Obes.Relat Metab Disord.* 1993;17:187-96.
21. Moorjani S, Dupont A, Labrie F et al. Increase in plasma high-density lipoprotein concentration following complete androgen blockage in men with prostatic carcinoma. *Metabolism* 1987;36:244-50.
22. Executive Summary of The Third Report of The National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, And Treatment of High Blood Cholesterol In Adults (Adult Treatment Panel III). *JAMA* 2001;285:2486-97.
23. Xu JW, Ikeda K, Yamori Y. Upregulation of endothelial nitric oxide synthase by cyanidin-3-glucoside, a typical anthocyanin pigment. *Hypertension* 2004;44:217-22.
24. Xu JW, Ikeda K, Yamori Y. Cyanidin-3-glucoside regulates phosphorylation of endothelial nitric oxide synthase. *FEBS Lett.* 2004;574:176-80.
25. Niu T, Chen X, Xu X. Angiotensin converting enzyme gene insertion/deletion polymorphism and cardiovascular disease: therapeutic implications. *Drugs* 2002;62:977-93.
26. Fleischhauer FJ, Yan WD, Fischell TA. Fish oil improves endothelium-dependent coronary vasodilation in heart transplant recipients. *J.Am.Coll.Cardiol.* 1993;21:982-9.

CHAPITRE 7 : CONCLUSION GÉNÉRALE

Les maladies cardio-vasculaires sont responsables de la majorité de la morbidité et de la mortalité du monde occidental (1). De nombreuses études ont permis d'identifier les principaux facteurs de risque associés à la maladie tout comme plusieurs publications et rapports en font état. Parmi ceux-ci, mentionnons le rapport publié par la Fondation des maladies du cœur du Canada en mai 2003 (2), et intitulé « Le fardeau croissant des MCV et des accidents vasculaires cérébraux ». Ce document rapporte qu'environ 80 % de la population présente au moins un facteur de risque évitable des MCV. Bien qu'il soit impossible de modifier l'âge, le sexe et l'hérédité, il est par contre possible d'agir sur les autres facteurs de risque tels le tabagisme, la sédentarité, l'excès de poids, l'hypertension, l'hypercholestérolémie, le diabète (type 2) et le stress. La plupart des formes de MCV impliquent des changements vasculaires d'athérosclérose dans les circulations coronarienne, cérébrale, rénale et périphérique. Ainsi, la compréhension de la dysfonction vasculaire et son rôle dans le développement des dommages des organes cible est d'un grand intérêt clinique.

L'objectif des présents travaux de recherches était d'investiguer l'impact d'une supplémentation en acides gras oméga-3 et/ou jus de canneberges sur la fonction endothéliale chez des hommes ayant un surplus de poids. Suite à cet objectif, nous supposons que la supplémentation en ces 2 composés allait être le plus bénéfique pour l'amélioration de la fonction endothéliale. Les résultats de l'étude présentée au chapitre précédent indiquent plusieurs données intéressantes.

Premièrement, lors de la mesure du diamètre de l'artère brachiale au repos après douze semaines de traitement, dans le groupe ayant consommé du jus de canneberges, une augmentation du diamètre a été observée. Toutefois, une modification du diamètre de l'artère s'est avérée significative uniquement pour ce groupe. Il a été montré que l'action des polyphénols sur l'endothélium vasculaire est due à la production du NO. Les polyphénols ont été très largement décrits comme des inhibiteurs de l'activité NO-synthase inductible (203) suggérant une protection des polyphénols contre les effets délétères du

NO. En contrepartie, de nombreuses études récentes indiquent que les composés polyphénoliques constituent une nouvelle classe de stimuli pour la formation endothéliale de NO (179;206).

Par la suite, une diminution significative du pourcentage de dilatation lors de la vasodilatation induite par hyperémie a été observée avec la consommation de jus de canneberges. Ce résultat va dans le même sens que le résultat précédent puisqu'il y a une augmentation du diamètre de l'artère au repos probablement causée par l'augmentation de la production de NO. Donc ayant une plus grande dilatation au repos, il est impossible pour une artère de conserver son même pourcentage de dilatation puisqu'elle est déjà significativement dilatée au repos. Pour appuyer cette hypothèse, une relation inverse a été observée entre le diamètre de l'artère brachiale et la vasodilatation induite par hyperémie dans la présente étude. Toutefois, nous n'avons observé aucune différence significative au niveau du diamètre de l'artère lors de la vasodilatation induite par hyperémie avec la consommation d'acides gras oméga-3 combinés ou non avec le jus de canneberges. Ainsi, l'hypothèse selon laquelle les acides gras oméga-3 et le jus de canneberges auraient un effet plus bénéfique que pris séparément est infirmée. Précédemment, plusieurs études ont observé une augmentation de la vasodilatation induite par hyperémie lors d'une consommation d'acides gras oméga-3 (162). Toutefois, les quantités données étaient nettement plus grande que celle dans la présente étude et la durée de l'étude était plus longue. Ce qui suggère que la quantité d'oméga-3 nécessaire afin d'améliorer la fonction endothéliale serait plus grande que 2.4 g/jour et devrait être prise sur une plus grande période de temps, soit plus que 12 semaines.

De plus, l'alimentation entourant la supplémentation peut avoir un effet sur la biodisponibilité ainsi que sur les effets escomptés des acides gras oméga-3 et des polyphénols. En effet, le ratio oméga-6/oméga-3 peut avoir influencé les résultats ci-haut. Il est estimé en général que le rapport oméga-6/oméga-3 dans l'alimentation occidentale est de 10/1 à 30/1, tandis qu'il devrait idéalement se situer entre 1/1 et 4/1 (103). Cet excès d'oméga-6 nuit à l'utilisation optimale des oméga-3 par l'organisme. En effet, afin d'être métabolisés, les oméga-3 et les oméga-6 entrent en compétition pour plusieurs enzymes et,

dans une moindre mesure, pour plusieurs vitamines (vitamines B3, B6, C, E) et minéraux (magnésium et zinc). Un excès d'oméga-6 dans l'assiette empêche donc l'organisme d'exploiter adéquatement ses sources d'oméga-3. De plus, les polyphénols subissent la plupart du temps une transformation chimique. L'efficacité de l'absorption intestinale dépend largement de la nature des flavonoïdes, et notamment de la glucosylation qui a un effet sur la biodisponibilité (207).

Dans un autre ordre d'idée, il pourrait être intéressant lors de prochaines investigations d'observer l'applicabilité de ses composés dans une alimentation de tous les jours. Ceci nous permettrait d'observer si les effets sont les mêmes dans des aliments ayant aussi d'autres composés intéressants tel que les fibres. De plus, il serait intéressant d'insérer des sujets ayant un profil plus détérioré afin de voir si ces derniers ont une amélioration plus marquée au niveau de leur profil lipidique et de leur fonction endothéliale. De plus, la mesure de la fonction endothéliale devrait être accompagnée de l'évaluation de la capacité antioxydante ainsi que la quantité d'antioxydants sanguine afin de pouvoir connaître la quantité de polyphénols absorbés qui varie indéniablement d'un individu à l'autre.

De plus, l'instrument de mesure à la fine pointe de la technologie comprend quelques désavantages qui peuvent aussi faire varier de façon considérable les résultats. L'échographie est une technique non-invasive, mais elle est infiniment dépendante de l'opérateur et ce dernier dispose d'une résolution inadéquate face à la grosseur de l'artère. La récente étude sur l'athérosclérose (MESA) permet de clarifier la valeur prédictive de plusieurs mesures de la fonction endothéliale et d'autres marqueurs de l'athérosclérose. Cependant, d'autres études sont nécessaires afin de démontrer que l'utilisation clinique de la fonction endothéliale peut être utilisée pour la prévention primaire et secondaire. Les méthodes disponibles pour l'étude la fonction endothéliale sont actuellement utiles pour l'évaluation de facteurs de risque, les mécanismes des MCV, et le potentiel des interventions dans des groupes de patients. Toutefois, le développement d'une nouvelle méthodologie afin d'évaluer la fonction endothéliale serait extrêmement utile. Une approche intéressante serait d'élaborer un moyen d'obtenir une plus haute résolution d'imagerie du diamètre des artères. Le plus important pour l'utilisation future de la fonction

endothéliale dans la prise en charge des patients est la nécessité d'une approche normalisée qui est supportée par un grand nombre d'études.

Plusieurs équipes à travers le monde cherchent à répondre à de multiples questions dans le domaine de la prévention des MCV. Bien qu'il y ait un grand nombre d'études positives sur les bienfaits des antioxydants ainsi que des oméga-3, plusieurs problèmes restent à être résolus avant que la mise en place de régimes supplémentés en antioxydants et oméga-3 deviennent un outil de traitement ou de prévention de maladies ou de promotion de la santé. Il est encore préférable d'opter pour une saine alimentation et de suivre les recommandations afin de maximiser l'impact de ses différents composés. Cette étude clinique vient apporter les premières données concernant la supplémentation en oméga-3 et polyphénols. Les résultats de cette étude, quoiqu'intéressants, étaient difficilement comparables puisqu'aucune étude auparavant n'avait étudié la supplémentation simultanée de ses composés. Les deux principales raisons, et non les moindres, étaient liées à la combinaison des composés et à la durée du suivi. Par contre, cette étude vient confirmer un effet vasodilatateur des polyphénols. Son intérêt réside dans le fait que contrairement à la majorité des autres essais cliniques, il visait à évaluer l'effet cumulatif de doses insérables dans une saine alimentation

En conclusion, l'effet bénéfique des acides gras oméga-3 ainsi que des polyphénols semble être plus évident chez des personnes déjà à risque de maladie cardiaque et chez celles ayant déjà eu une attaque cardiaque que dans les populations comportant moins de facteurs de risque ce qui expliquerait en partie la divergence de nos résultats par rapport à la littérature. Toutefois, il est tout de même possible de conclure que ces deux composés ont des qualités cardioprotectrices indépendantes.

Contrairement à nos attentes, la combinaison des deux composés ne semble pas montrer d'effets synergiques. Toutefois, de nombreuses études fondamentales sont encore nécessaires pour comprendre et obtenir un consensus au niveau des mécanismes d'action et des effets au niveau cellulaire des polyphénols et des acides gras oméga-3. D'ici là, la pertinence clinique de la mesure de la fonction endothéliale doit continuer à être étudiée

afin de savoir si elle est réellement applicable à une grande échelle comme outil de dépistage. Par contre, la promotion d'une saine alimentation riche en légumes, fruits et poissons doit continuer d'être le message de base pour la prévention des MCV de la population Nord-Américaine.

CHAPITRE 8 : BIBLIOGRAPHIE

1. Organisation mondiale de la santé. The Atlas of Heart Disease and Stroke. http://www.who.int/cardiovascular_diseases/resources/atlas/en/. (consulté le 15-8-2008).
2. Fondation des maladies du cœur du Canada. Le fardeau croissant des maladies cardiovasculaires et des accidents vasculaires cérébraux. 2003.
3. World Health Organization. International Statistical Classification of Diseases and Related Health Problems. http://www.who.int/cardiovascular_diseases/en/ . (consulté le 3-5-2008).
4. Drexler H, Zeiher AM, Wollschlager H, Meinertz T, Just H, Bonzel T. Flow-dependent coronary artery dilatation in humans. *Circulation* 1989;80:466-74.
5. Berliner JA, Navab M, Fogelman AM et al. Atherosclerosis: basic mechanisms. Oxidation, inflammation, and genetics. *Circulation* 1995;91:2488-96.
6. Ross R. The pathogenesis of atherosclerosis: a perspective for the 1990s. *Nature* 1993;362:801-9.
7. Engler MM, Engler MB. Omega-3 fatty acids: role in cardiovascular health and disease. *J.Cardiovasc.Nurs.* 2006;21:17-24, quiz.
8. Vogel RA, Corretti MC, Plotnick GD. Effect of a single high-fat meal on endothelial function in healthy subjects. *Am.J.Cardiol.* 1997;79:350-4.
9. Vogel RA, Corretti MC, Plotnick GD. The postprandial effect of components of the Mediterranean diet on endothelial function. *J.Am.Coll.Cardiol.* 2000;36:1455-60.
10. Keaney, J. F., Jr. Atherosclerosis, oxidative stress, and endothelial function. *Oxidative stress and vascular disease* , 155-181. 2000.
11. Carrero JJ, Grimble RF. Does nutrition have a role in peripheral vascular disease? *Br.J.Nutr.* 2006;95:217-29.
12. Berliner JA, Navab M, Fogelman AM et al. Atherosclerosis: basic mechanisms. Oxidation, inflammation, and genetics. *Circulation* 1995;91:2488-96.
13. Boullier A, Bird DA, Chang MK et al. Scavenger receptors, oxidized LDL, and atherosclerosis. *Ann.N.Y.Acad.Sci.* 2001;947:214-22.
14. Sparrow CP, Parthasarathy S, Steinberg D. A macrophage receptor that recognizes oxidized low density lipoprotein but not acetylated low density lipoprotein. *J.Biol.Chem.* 1989;264:2599-604.

15. Grech ED. Pathophysiology and investigation of coronary artery disease. *BMJ* 2003;326:1027-30.
16. Fuster V, Fayad ZA, Badimon JJ. Acute coronary syndromes: biology. *Lancet* 1999;353 Suppl 2:SII5-SII9.
17. Ross R. Atherosclerosis--an inflammatory disease. *N.Engl.J.Med.* 1999;340:115-26.
18. Davies MJ. A macro and micro view of coronary vascular insult in ischemic heart disease. *Circulation* 1990;82:II38-II46.
19. Krolewski AS, Warram JH, Rand LI, Kahn CR. Epidemiologic approach to the etiology of type I diabetes mellitus and its complications. *N.Engl.J.Med.* 1987;317:1390-8.
20. Koivisto VA, Stevens LK, Mattock M et al. Cardiovascular disease and its risk factors in IDDM in Europe. EURODIAB IDDM Complications Study Group. *Diabetes Care* 1996;19:689-97.
21. Laakso, M. Epidemiology of diabetic dyslipidemia. *Diabetes Rev* (3), 408-422. 1996.
22. Lehto S, Ronnema T, Pyorala K, Laakso M. Poor glycemic control predicts coronary heart disease events in patients with type 1 diabetes without nephropathy. *Arterioscler.Thromb.Vasc.Biol.* 1999;19:1014-9.
23. Ruderman NB, Williamson JR, Brownlee M. Glucose and diabetic vascular disease. *FASEB J.* 1992;6:2905-14.
24. Lyons TJ. Lipoprotein glycation and its metabolic consequences. *Diabetes* 1992;41 Suppl 2:67-73.
25. Ronnema T, Laakso M, Pyorala K, Kallio V, Puukka P. High fasting plasma insulin is an indicator of coronary heart disease in non-insulin-dependent diabetic patients and nondiabetic subjects. *Arterioscler.Thromb.* 1991;11:80-90.
26. Colwell JA. Vascular thrombosis in type II diabetes mellitus. *Diabetes* 1993;42:8-11.
27. Nathan DM, Cleary PA, Backlund JY et al. Intensive diabetes treatment and cardiovascular disease in patients with type 1 diabetes. *N.Engl.J.Med.* 2005;353:2643-53.
28. Bankson DD, Kestin M, Rifai N. Role of free radicals in cancer and atherosclerosis. *Clin.Lab Med.* 1993;13:463-80.
29. Astrup P. Some physiological and pathological effects of moderate carbon monoxide exposure. *Br.Med.J.* 1972;4:447-52.

30. Heliövaara M, Karvonen MJ, Vilhunen R, Punsar S. Smoking, carbon monoxide, and atherosclerotic diseases. *Br.Med.J.* 1978;1:268-70.
31. Ross R. The pathogenesis of atherosclerosis: a perspective for the 1990s. *Nature* 1993;362:801-9.
32. Fry DL. Mass transport, atherogenesis, and risk. *Arteriosclerosis* 1987;7:88-100.
33. Kiowski W, Linder L, Stoschitzky K et al. Diminished vascular response to inhibition of endothelium-derived nitric oxide and enhanced vasoconstriction to exogenously administered endothelin-1 in clinically healthy smokers. *Circulation* 1994;90:27-34.
34. Nowak J, Murray JJ, Oates JA, FitzGerald GA. Biochemical evidence of a chronic abnormality in platelet and vascular function in healthy individuals who smoke cigarettes. *Circulation* 1987;76:6-14.
35. Heistad DD, Armstrong ML. Sick vessel syndrome. Can atherosclerotic arteries recover? *Circulation* 1994;89:2447-50.
36. Lin SJ, Hong CY, Chang MS, Chiang BN, Chien S. Long-term nicotine exposure increases aortic endothelial cell death and enhances transendothelial macromolecular transport in rats. *Arterioscler.Thromb.* 1992;12:1305-12.
37. Asmussen I, Kjeldsen K. Intimal ultrastructure of human umbilical arteries. Observations on arteries from newborn children of smoking and nonsmoking mothers. *Circ.Res.* 1975;36:579-89.
38. Khan NA, McAlister FA, Rabkin SW et al. The 2006 Canadian Hypertension Education Program recommendations for the management of hypertension: Part II - Therapy. *Can.J.Cardiol.* 2006;22:583-93.
39. Khan NA, McAlister FA, Rabkin SW et al. The 2006 Canadian Hypertension Education Program recommendations for the management of hypertension: Part II - Therapy. *Can.J.Cardiol.* 2006;22:583-93.
40. Knudsen ST, Poulsen PL, Hansen KW, Ebbeløj E, Bek T, Mogensen CE. Pulse pressure and diurnal blood pressure variation: association with micro- and macrovascular complications in type 2 diabetes. *Am.J.Hypertens.* 2002;15:244-50.
41. La société québécoise d'hypertension artérielle. Informations au public. <http://www.hypertension.qc.ca/content.asp?node=6&lang=fr> . (consulté le 8-8-2008).
42. Kannel WB, McGee DL. Diabetes and cardiovascular disease. The Framingham study. *JAMA* 1979;241:2035-8.

43. Libby P, Ridker PM, Maseri A. Inflammation and atherosclerosis. *Circulation* 2002;105:1135-43.
44. Szmitko PE, Wang CH, Weisel RD, de Almeida JR, Anderson TJ, Verma S. New markers of inflammation and endothelial cell activation: Part I. *Circulation* 2003;108:1917-23.
45. Szmitko PE, Wang CH, Weisel RD, Jeffries GA, Anderson TJ, Verma S. Biomarkers of vascular disease linking inflammation to endothelial activation: Part II. *Circulation* 2003;108:2041-8.
46. Verma S, Wang CH, Li SH et al. A self-fulfilling prophecy: C-reactive protein attenuates nitric oxide production and inhibits angiogenesis. *Circulation* 2002;106:913-9.
47. Verma S, Yeh ET. C-reactive protein and atherothrombosis--beyond a biomarker: an actual partaker of lesion formation. *Am.J.Physiol Regul.Integr.Comp Physiol* 2003;285:R1253-R1256.
48. Verma S, Li SH, Badiwala MV et al. Endothelin antagonism and interleukin-6 inhibition attenuate the proatherogenic effects of C-reactive protein. *Circulation* 2002;105:1890-6.
49. Rosenson RS, Koenig W. High-sensitivity C-reactive protein and cardiovascular risk in patients with coronary heart disease. *Curr.Opin.Cardiol.* 2002;17:325-31.
50. Wang CH, Li SH, Weisel RD et al. C-reactive protein upregulates angiotensin type 1 receptors in vascular smooth muscle. *Circulation* 2003;107:1783-90.
51. Maron BJ, Chaitman BR, Ackerman MJ et al. Recommendations for physical activity and recreational sports participation for young patients with genetic cardiovascular diseases. *Circulation* 2004;109:2807-16.
52. Zilversmit DB. Atherogenesis: a postprandial phenomenon. *Circulation* 1979;60:473-85.
53. Lopez-Miranda J, Williams C, Lairon D. Dietary, physiological, genetic and pathological influences on postprandial lipid metabolism. *Br.J.Nutr.* 2007;98:458-73.
54. Karpe F. Postprandial lipoprotein metabolism and atherosclerosis. *J.Intern.Med.* 1999;246:341-55.
55. Patsch JR, Miesenbock G, Hopferwieser T et al. Relation of triglyceride metabolism and coronary artery disease. Studies in the postprandial state. *Arterioscler.Thromb.* 1992;12:1336-45.

56. Ryu JE, Howard G, Craven TE, Bond MG, Hagaman AP, Crouse JR, III. Postprandial triglyceridemia and carotid atherosclerosis in middle-aged subjects. *Stroke* 1992;23:823-8.
57. Boushey CJ, Beresford SA, Omenn GS, Motulsky AG. A quantitative assessment of plasma homocysteine as a risk factor for vascular disease. Probable benefits of increasing folic acid intakes. *JAMA* 1995;274:1049-57.
58. Cattaneo M. Hyperhomocysteinemia, atherosclerosis and thrombosis. *Thromb.Haemost.* 1999;81:165-76.
59. Chambers JC, McGregor A, Jean-Marie J, Kooner JS. Acute hyperhomocysteinemia and endothelial dysfunction. *Lancet* 1998;351:36-7.
60. Demuth K, Moatti N, Hanon O, Benoit MO, Safar M, Girerd X. Opposite effects of plasma homocysteine and the methylenetetrahydrofolate reductase C677T mutation on carotid artery geometry in asymptomatic adults. *Arterioscler.Thromb.Vasc.Biol.* 1998;18:1838-43.
61. McGill HC, Jr., McMahan CA, Malcom GT, Oalmann MC, Strong JP. Relation of glycohemoglobin and adiposity to atherosclerosis in youth. Pathobiological Determinants of Atherosclerosis in Youth (PDAY) Research Group. *Arterioscler.Thromb.Vasc.Biol.* 1995;15:431-40.
62. McGill HC, Jr., McMahan CA, Herderick EE, Malcom GT, Tracy RE, Strong JP. Origin of atherosclerosis in childhood and adolescence. *Am.J.Clin.Nutr.* 2000;72:1307S-15S.
63. Hubert HB, Feinleib M, McNamara PM, Castelli WP. Obesity as an independent risk factor for cardiovascular disease: a 26-year follow-up of participants in the Framingham Heart Study. *Circulation* 1983;67:968-77.
64. Rabkin SW, Mathewson FA, Hsu PH. Relation of body weight to development of ischemic heart disease in a cohort of young North American men after a 26 year observation period: the Manitoba Study. *Am.J.Cardiol.* 1977;39:452-8.
65. Eckel RH, Krauss RM. American Heart Association call to action: obesity as a major risk factor for coronary heart disease. AHA Nutrition Committee. *Circulation* 1998;97:2099-100.
66. Leopold JA, Loscalzo J. Clinical importance of understanding vascular biology. *Cardiol.Rev.* 2000;8:115-23.
67. Nickenig G, Baumer AT, Temur Y, Kebben D, Jockenhovel F, Bohm M. Statin-sensitive dysregulated AT1 receptor function and density in hypercholesterolemic men. *Circulation* 1999;100:2131-4.

68. Schiffrin EL. The endothelium and control of blood vessel function in health and disease. *Clin.Invest Med.* 1994;17:602-20.
69. Andrew PJ, Mayer B. Enzymatic function of nitric oxide synthases. *Cardiovasc.Res.* 1999;43:521-31.
70. Wheatcroft SB, Kearney MT, Shah AM et al. Vascular endothelial function and blood pressure homeostasis in mice overexpressing IGF binding protein-1. *Diabetes* 2003;52:2075-82.
71. Zierath JR, Kawano Y. The effect of hyperglycaemia on glucose disposal and insulin signal transduction in skeletal muscle. *Best.Pract.Res.Clin.Endocrinol.Metab* 2003;17:385-98.
72. Ducrocq C, Servy C, Cudic M, Blanchard EB. [Intervention by nitric oxide, NO, and its oxide derivatives particularly in mammals]. *Can.J.Physiol Pharmacol.* 2001;79:95-102.
73. Domenico R. Pharmacology of nitric oxide: molecular mechanisms and therapeutic strategies. *Curr.Pharm.Des* 2004;10:1667-76.
74. Walford G, Loscalzo J. Nitric oxide in vascular biology. *J.Thromb.Haemost.* 2003;1:2112-8.
75. Fayers KE, Cummings MH, Shaw KM, Laight DW. Nitrate tolerance and the links with endothelial dysfunction and oxidative stress. *Br.J.Clin.Pharmacol.* 2003;56:620-8.
76. Wheatcroft SB, Williams IL, Shah AM, Kearney MT. Pathophysiological implications of insulin resistance on vascular endothelial function. *Diabet.Med.* 2003;20:255-68.
77. Yki-Jarvinen H. Insulin resistance and endothelial dysfunction. *Best.Pract.Res.Clin.Endocrinol.Metab* 2003;17:411-30.
78. Busse R, Fleming I, Hecker M, and Mülsch A. Mechanisms of nitric oxide release from the vascular endothelium. *Circulation* 87, V18-V25. 1993.
79. Zhang Y, Lee TS, Kolb EM et al. AMP-activated protein kinase is involved in endothelial NO synthase activation in response to shear stress. *Arterioscler.Thromb.Vasc.Biol.* 2006;26:1281-7.
80. Papapetropoulos A, Rudic RD, Sessa WC. Molecular control of nitric oxide synthases in the cardiovascular system. *Cardiovasc.Res.* 1999;43:509-20.
81. Luscher TF. The endothelium in hypertension: bystander, target or mediator? *J.Hypertens.Suppl* 1994;12:S105-S116.

82. John S, Schmieder RE. Potential mechanisms of impaired endothelial function in arterial hypertension and hypercholesterolemia. *Curr.Hypertens.Rep.* 2003;5:199-207.
83. Widlansky ME, Gokce N, Keaney JF, Jr., Vita JA. The clinical implications of endothelial dysfunction. *J.Am.Coll.Cardiol.* 2003;42:1149-60.
84. Mather KJ, Mirzamohammadi B, Lteif A, Steinberg HO, Baron AD. Endothelin contributes to basal vascular tone and endothelial dysfunction in human obesity and type 2 diabetes. *Diabetes* 2002;51:3517-23.
85. Cai H, Harrison DG. Endothelial dysfunction in cardiovascular diseases: the role of oxidant stress. *Circ.Res.* 2000;87:840-4.
86. Bouloumie A, Bauersachs J, Linz W et al. Endothelial dysfunction coincides with an enhanced nitric oxide synthase expression and superoxide anion production. *Hypertension* 1997;30:934-41.
87. Angelos MG, Kutala VK, Torres CA et al. Hypoxic reperfusion of the ischemic heart and oxygen radical generation. *Am.J.Physiol Heart Circ.Physiol* 2006;290:H341-H347.
88. Wolin MS, Ahmad M, Gupte SA. Oxidant and redox signaling in vascular oxygen sensing mechanisms: basic concepts, current controversies, and potential importance of cytosolic NADPH. *Am.J.Physiol Lung Cell Mol.Physiol* 2005;289:L159-L173.
89. Cooke MS, Evans MD, Dizdaroglu M, Lunec J. Oxidative DNA damage: mechanisms, mutation, and disease. *FASEB J.* 2003;17:1195-214.
90. Marnett LJ. Oxyradicals and DNA damage. *Carcinogenesis* 2000;21:361-70.
91. Davies MJ. Singlet oxygen-mediated damage to proteins and its consequences. *Biochem.Biophys.Res.Comm.* 2003;305:761-70.
92. Farber JL, Kyle ME, Coleman JB. Mechanisms of cell injury by activated oxygen species. *Lab Invest* 1990;62:670-9.
93. Steinberg D, Parthasarathy S, Carew TE, Khoo JC, Witztum JL. Beyond cholesterol. Modifications of low-density lipoprotein that increase its atherogenicity. *N.Engl.J.Med.* 1989;320:915-24.
94. Quinn MT, Parthasarathy S, Steinberg D. Endothelial cell-derived chemotactic activity for mouse peritoneal macrophages and the effects of modified forms of low density lipoprotein. *Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A* 1985;82:5949-53.
95. Stocker R, Keaney JF, Jr. Role of oxidative modifications in atherosclerosis. *Physiol Rev* 2004;84:1381-478.

96. Henriksen T, Mahoney EM, Steinberg D. Enhanced macrophage degradation of low density lipoprotein previously incubated with cultured endothelial cells: recognition by receptors for acetylated low density lipoproteins. *Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A* 1981;78:6499-503.
97. Steinbrecher UP, Parthasarathy S, Leake DS, Witztum JL, Steinberg D. Modification of low density lipoprotein by endothelial cells involves lipid peroxidation and degradation of low density lipoprotein phospholipids. *Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A* 1984;81:3883-7.
98. Gopaul NK, Anggard EE, Mallet AI, Betteridge DJ, Wolff SP, Nourooz-Zadeh J. Plasma 8-epi-PGF2 alpha levels are elevated in individuals with non-insulin dependent diabetes mellitus. *FEBS Lett.* 1995;368:225-9.
99. Griendling KK, Sorescu D, Lassegue B, Ushio-Fukai M. Modulation of protein kinase activity and gene expression by reactive oxygen species and their role in vascular physiology and pathophysiology. *Arterioscler.Thromb.Vasc.Biol.* 2000;20:2175-83.
100. Morrow JD, Frei B, Longmire AW et al. Increase in circulating products of lipid peroxidation (F2-isoprostanes) in smokers. Smoking as a cause of oxidative damage. *N.Engl.J.Med.* 1995;332:1198-203.
101. Nathan C. Points of control in inflammation. *Nature* 2002;420:846-52.
102. Bazzano LA, Serdula MK, Liu S. Dietary intake of fruits and vegetables and risk of cardiovascular disease. *Curr.Atheroscler.Rep.* 2003;5:492-9.
103. Kris-Etherton PM, Harris WS, Appel LJ. Fish consumption, fish oil, omega-3 fatty acids, and cardiovascular disease. *Circulation* 2002;106:2747-57.
104. Joannides R, Bakkali e, Richard V, Benoist A, Moore N, Thuillez C. Evaluation of the determinants of flow-mediated radial artery vasodilatation in humans. *Clin.Exp.Hypertens.* 1997;19:813-26.
105. Benjamin N, Calver A, Collier J, Robinson B, Vallance P, Webb D. Measuring forearm blood flow and interpreting the responses to drugs and mediators. *Hypertension* 1995;25:918-23.
106. Schachinger V, Britten MB, Zeiher AM. Prognostic impact of coronary vasodilator dysfunction on adverse long-term outcome of coronary heart disease. *Circulation* 2000;101:1899-906.
107. Aellig WH. Clinical pharmacology, physiology and pathophysiology of superficial veins--2. *Br.J.Clin.Pharmacol.* 1994;38:289-305.
108. Moens AL, Goovaerts I, Claeys MJ, Vrints CJ. Flow-mediated vasodilation: a diagnostic instrument, or an experimental tool? *Chest* 2005;127:2254-63.

109. Anderson EA, Mark AL. Flow-mediated and reflex changes in large peripheral artery tone in humans. *Circulation* 1989;79:93-100.
110. Laurent S, Lacolley P, Brunel P, Laloux B, Pannier B, Safar M. Flow-dependent vasodilation of brachial artery in essential hypertension. *Am.J.Physiol* 1990;258:H1004-H1011.
111. Joannides R, Haefeli WE, Linder L et al. Nitric oxide is responsible for flow-dependent dilatation of human peripheral conduit arteries in vivo. *Circulation* 1995;91:1314-9.
112. Doshi SN, Naka KK, Payne N et al. Flow-mediated dilatation following wrist and upper arm occlusion in humans: the contribution of nitric oxide. *Clin.Sci.(Lond)* 2001;101:629-35.
113. Neunteufl T, Katzenschlager R, Hassan A et al. Systemic endothelial dysfunction is related to the extent and severity of coronary artery disease. *Atherosclerosis* 1997;129:111-8.
114. Raitakari OT, Celermajer DS. Flow-mediated dilatation. *Br.J.Clin.Pharmacol.* 2000;50:397-404.
115. Bressler B, Chan S, Mancini GB. Temporal response of brachial artery dilation after occlusion and nitroglycerin. *Am.J.Cardiol.* 2000;85:396-400, A10.
116. Passeport santé. Oméga-3 et oméga-6. (consulté le 11-8-2008).
117. De Caterina R, Madonna R, Zucchi R, La Rovere MT. Antiarrhythmic effects of omega-3 fatty acids: from epidemiology to bedside. *Am.Heart J.* 2003;146:420-30.
118. Din JN, Newby DE, Flapan AD. Omega 3 fatty acids and cardiovascular disease--fishing for a natural treatment. *BMJ* 2004;328:30-5.
119. Lee JH, O'Keefe JH, Lavie CJ, Marchioli R, Harris WS. Omega-3 fatty acids for cardioprotection. *Mayo Clin.Proc.* 2008;83:324-32.
120. Emken EA, Adlof RO, Duval SM, Nelson GJ. Effect of dietary docosahexaenoic acid on desaturation and uptake in vivo of isotope-labeled oleic, linoleic, and linolenic acids by male subjects. *Lipids* 1999;34:785-91.
121. Gerster H. Can adults adequately convert alpha-linolenic acid (18:3n-3) to eicosapentaenoic acid (20:5n-3) and docosahexaenoic acid (22:6n-3)? *Int.J.Vitam.Nutr.Res.* 1998;68:159-73.
122. Burdge G. Alpha-linolenic acid metabolism in men and women: nutritional and biological implications. *Curr.Opin.Clin.Nutr.Metab Care* 2004;7:137-44.

123. Brenna JT. Efficiency of conversion of alpha-linolenic acid to long chain n-3 fatty acids in man. *Curr.Opin.Clin.Nutr.Metab Care* 2002;5:127-32.
124. Simopoulos AP. Essential fatty acids in health and chronic diseases. *Forum Nutr.* 2003;56:67-70.
125. Lipids as determinants of cell function and human health. Proceedings of the 6th Congress of the International Society for the Study of Fatty Acids and Lipids (ISSFAL). Brighton, United Kingdom, 26 June-1 July 2004. *Lipids* 2004;39:1043-146.
126. Connor WE. Importance of n-3 fatty acids in health and disease. *Am.J.Clin.Nutr.* 2000;71:171S-5S.
127. Lee KW, Lip GY. The role of omega-3 fatty acids in the secondary prevention of cardiovascular disease. *QJM.* 2003;96:465-80.
128. Nair SS, Leitch JW, Falconer J, Garg ML. Prevention of cardiac arrhythmia by dietary (n-3) polyunsaturated fatty acids and their mechanism of action. *J.Nutr.* 1997;127:383-93.
129. Xiao YF, Kang JX, Morgan JP, Leaf A. Blocking effects of polyunsaturated fatty acids on Na⁺ channels of neonatal rat ventricular myocytes. *Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A* 1995;92:11000-4.
130. Kang JX, Leaf A. Evidence that free polyunsaturated fatty acids modify Na⁺ channels by directly binding to the channel proteins. *Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A* 1996;93:3542-6.
131. Leifert WR, McMurchie EJ, Saint DA. Inhibition of cardiac sodium currents in adult rat myocytes by n-3 polyunsaturated fatty acids. *J.Physiol* 1999;520 Pt 3:671-9.
132. Xiao YF, Gomez AM, Morgan JP, Lederer WJ, Leaf A. Suppression of voltage-gated L-type Ca²⁺ currents by polyunsaturated fatty acids in adult and neonatal rat ventricular myocytes. *Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A* 1997;94:4182-7.
133. Kang JX, Xiao YF, Leaf A. Free, long-chain, polyunsaturated fatty acids reduce membrane electrical excitability in neonatal rat cardiac myocytes. *Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A* 1995;92:3997-4001.
134. Pound EM, Kang JX, Leaf A. Partitioning of polyunsaturated fatty acids, which prevent cardiac arrhythmias, into phospholipid cell membranes. *J.Lipid Res.* 2001;42:346-51.
135. Bang HO, Dyerberg J, Hjoorne N. The composition of food consumed by Greenland Eskimos. *Acta Med.Scand.* 1976;200:69-73.

136. McLennan PL, Bridle TM, Abeywardena MY, Charnock JS. Dietary lipid modulation of ventricular fibrillation threshold in the marmoset monkey. *Am.Heart J.* 1992;123:1555-61.
137. McLennan PL. Relative effects of dietary saturated, monounsaturated, and polyunsaturated fatty acids on cardiac arrhythmias in rats. *Am.J.Clin.Nutr.* 1993;57:207-12.
138. Schrepf R, Limmert T, Claus WP, Theisen K, Sellmayer A. Immediate effects of n-3 fatty acid infusion on the induction of sustained ventricular tachycardia. *Lancet* 2004;363:1441-2.
139. Sellmayer A, Witzgall H, Lorenz RL, Weber PC. Effects of dietary fish oil on ventricular premature complexes. *Am.J.Cardiol.* 1995;76:974-7.
140. Dolecek TA, Granditis G. Dietary polyunsaturated fatty acids and mortality in the Multiple Risk Factor Intervention Trial (MRFIT). *World Rev.Nutr.Diet.* 1991;66:205-16.
141. Hu FB, Bronner L, Willett WC et al. Fish and omega-3 fatty acid intake and risk of coronary heart disease in women. *JAMA* 2002;287:1815-21.
142. Rissanen T, Voutilainen S, Nyyssonen K, Lakka TA, Salonen JT. Fish oil-derived fatty acids, docosahexaenoic acid and docosapentaenoic acid, and the risk of acute coronary events: the Kuopio ischaemic heart disease risk factor study. *Circulation* 2000;102:2677-9.
143. Dietary supplementation with n-3 polyunsaturated fatty acids and vitamin E after myocardial infarction: results of the GISSI-Prevenzione trial. Gruppo Italiano per lo Studio della Sopravvivenza nell'Infarto miocardico. *Lancet* 1999;354:447-55.
144. Iso H, Rexrode KM, Stampfer MJ et al. Intake of fish and omega-3 fatty acids and risk of stroke in women. *JAMA* 2001;285:304-12.
145. Daviglius ML, Stamler J, Greenland P, Dyer AR, Liu K. Fish consumption and risk of coronary heart disease. What does the evidence show? *Eur.Heart J.* 1997;18:1841-2.
146. Albert CM, Hennekens CH, O'Donnell CJ et al. Fish consumption and risk of sudden cardiac death. *JAMA* 1998;279:23-8.
147. Albert CM, Campos H, Stampfer MJ et al. Blood levels of long-chain n-3 fatty acids and the risk of sudden death. *N.Engl.J.Med.* 2002;346:1113-8.
148. Billman GE, Kang JX, Leaf A. Prevention of sudden cardiac death by dietary pure omega-3 polyunsaturated fatty acids in dogs. *Circulation* 1999;99:2452-7.

149. Marchioli R, Barzi F, Bomba E et al. Early protection against sudden death by n-3 polyunsaturated fatty acids after myocardial infarction: time-course analysis of the results of the Gruppo Italiano per lo Studio della Sopravvivenza nell'Infarto Miocardico (GISSI)-Prevenzione. *Circulation* 2002;105:1897-903.
150. Burr ML, Fehily AM, Gilbert JF et al. Effects of changes in fat, fish, and fibre intakes on death and myocardial reinfarction: diet and reinfarction trial (DART). *Lancet* 1989;2:757-61.
151. Montonen J, Knekt P, Harkanen T et al. Dietary patterns and the incidence of type 2 diabetes. *Am.J.Epidemiol.* 2005;161:219-27.
152. Calo L, Bianconi L, Colivicchi F et al. N-3 Fatty acids for the prevention of atrial fibrillation after coronary artery bypass surgery: a randomized, controlled trial. *J.Am.Coll.Cardiol.* 2005;45:1723-8.
153. Mozaffarian D, Psaty BM, Rimm EB et al. Fish intake and risk of incident atrial fibrillation. *Circulation* 2004;110:368-73.
154. Frost L, Vestergaard P. n-3 Fatty acids consumed from fish and risk of atrial fibrillation or flutter: the Danish Diet, Cancer, and Health Study. *Am.J.Clin.Nutr.* 2005;81:50-4.
155. Schwalfenberg G. Omega-3 fatty acids: their beneficial role in cardiovascular health. *Can.Fam.Physician* 2006;52:734-40.
156. Nakayama M, Fukuda N, Watanabe Y et al. Low dose of eicosapentaenoic acid inhibits the exaggerated growth of vascular smooth muscle cells from spontaneously hypertensive rats through suppression of transforming growth factor-beta. *J.Hypertens.* 1999;17:1421-30.
157. Terano T, Shiina T, Tamura Y. Eicosapentaenoic acid suppressed the proliferation of vascular smooth muscle cells through modulation of various steps of growth signals. *Lipids* 1996;31 Suppl:S301-S304.
158. Morisaki N, Sprecher H, Milo GE, Cornwell DG. Fatty acid specificity in the inhibition of cell proliferation and its relationship to lipid peroxidation and prostaglandin biosynthesis. *Lipids* 1982;17:893-9.
159. Cooke JP. The endothelium: a new target for therapy. *Vasc.Med.* 2000;5:49-53.
160. Brown AA, Hu FB. Dietary modulation of endothelial function: implications for cardiovascular disease. *Am.J.Clin.Nutr.* 2001;73:673-86.
161. Seo T, Al Haideri M, Treskova E et al. Lipoprotein lipase-mediated selective uptake from low density lipoprotein requires cell surface proteoglycans and is independent of scavenger receptor class B type 1. *J.Biol.Chem.* 2000;275:30355-62.

162. Goodfellow J, Bellamy MF, Ramsey MW, Jones CJ, Lewis MJ. Dietary supplementation with marine omega-3 fatty acids improve systemic large artery endothelial function in subjects with hypercholesterolemia. *J.Am.Coll.Cardiol.* 2000;35:265-70.
163. Abeywardena MY, Head RJ. Longchain n-3 polyunsaturated fatty acids and blood vessel function. *Cardiovasc.Res.* 2001;52:361-71.
164. Omura M, Kobayashi S, Mizukami Y et al. Eicosapentaenoic acid (EPA) induces Ca(2+)-independent activation and translocation of endothelial nitric oxide synthase and endothelium-dependent vasorelaxation. *FEBS Lett.* 2001;487:361-6.
165. Souci SW FWKH. La composition des aliments. Tableaux des valeurs nutritives. 2000.
166. Kuhna J. The flavonoids. A class of semi-essential food components: their role in human nutrition. *World Rev.Nutr.Diet.* 1976;24:117-91.
167. Pierpoint WS. Flavonoids in the human diet. *Prog.Clin.Biol.Res.* 1986;213:125-40.
168. Hertog MG, Feskens EJ, Hollman PC, Katan MB, Kromhout D. Dietary antioxidant flavonoids and risk of coronary heart disease: the Zutphen Elderly Study. *Lancet* 1993;342:1007-11.
169. Hertog MG, Hollman PC, Katan MB, Kromhout D. Intake of potentially anticarcinogenic flavonoids and their determinants in adults in The Netherlands. *Nutr.Cancer* 1993;20:21-9.
170. Justesen U, Knuthsen P, Leth T. Determination of plant polyphenols in Danish foodstuffs by HPLC-UV and LC-MS detection. *Cancer Lett.* 1997;114:165-7.
171. Paganga G, Rice-Evans CA. The identification of flavonoids as glycosides in human plasma. *FEBS Lett.* 1997;401:78-82.
172. Matsumoto H, Inaba H, Kishi M, Tominaga S, Hirayama M, Tsuda T. Orally administered delphinidin 3-rutinoside and cyanidin 3-rutinoside are directly absorbed in rats and humans and appear in the blood as the intact forms. *J.Agric.Food Chem.* 2001;49:1546-51.
173. Rice-Evans CA, Miller NJ. Antioxidant activities of flavonoids as bioactive components of food. *Biochem.Soc.Trans.* 1996;24:790-5.
174. Sadik CD, Sies H, Schewe T. Inhibition of 15-lipoxygenases by flavonoids: structure-activity relations and mode of action. *Biochem.Pharmacol.* 2003;65:773-81.
175. Beretz A, Cazenave JP. Old and new natural products as the source of modern antithrombotic drugs. *Planta Med.* 1991;57:S68-S72.

176. Folts JD. Potential health benefits from the flavonoids in grape products on vascular disease. *Adv.Exp.Med.Biol.* 2002;505:95-111.
177. Sanchez dM, Vera B, Galvez J, Zarzuelo A. Effect of quercitrin on the early stages of haptten induced colonic inflammation in the rat. *Life Sci.* 2002;70:3097-108.
178. Huk I, Brovkovich V, Nanobash VJ et al. Bioflavonoid quercetin scavenges superoxide and increases nitric oxide concentration in ischaemia-reperfusion injury: an experimental study. *Br.J.Surg.* 1998;85:1080-5.
179. Xu JW, Ikeda K, Yamori Y. Cyanidin-3-glucoside regulates phosphorylation of endothelial nitric oxide synthase. *FEBS Lett.* 2004;574:176-80.
180. Sun J, Chu YF, Wu X, Liu RH. Antioxidant and antiproliferative activities of common fruits. *J.Agric.Food Chem.* 2002;50:7449-54.
181. Wu X, Beecher GR, Holden JM, Haytowitz DB, Gebhardt SE, Prior RL. Lipophilic and hydrophilic antioxidant capacities of common foods in the United States. *J.Agric.Food Chem.* 2004;52:4026-37.
182. Reed J. Cranberry flavonoids, atherosclerosis and cardiovascular health. *Crit Rev.Food Sci.Nutr.* 2002;42:301-16.
183. Ruel G, Pomerleau S, Couture P, Lamarche B, Couillard C. Changes in plasma antioxidant capacity and oxidized low-density lipoprotein levels in men after short-term cranberry juice consumption. *Metabolism* 2005;54:856-61.
184. Holvoet P, Stassen JM, Van Cleemput J, Collen D, Vanhaecke J. Oxidized low density lipoproteins in patients with transplant-associated coronary artery disease. *Arterioscler.Thromb.Vasc.Biol.* 1998;18:100-7.
185. Middleton E Jr, Kandaswami C, Theoharides TC. The effects of plant flavonoids on mammalian cells: implications for inflammation, heart disease, and cancer. *Pharmacol.Rev.* 2000;52:673-751.
186. Bernatova I, Pechanova O, Babal P, Kyselá S, Stvrtina S, Andriantsitohaina R. Wine polyphenols improve cardiovascular remodeling and vascular function in NO-deficient hypertension. *Am.J.Physiol Heart Circ.Physiol* 2002;282:H942-H948.
187. Diebolt M, Bucher B, Andriantsitohaina R. Wine polyphenols decrease blood pressure, improve NO vasodilatation, and induce gene expression. *Hypertension* 2001;38:159-65.
188. Osakabe N, Yasuda A, Natsume M, Takizawa T, Terao J, Kondo K. Catechins and their oligomers linked by C4 --> C8 bonds are major cacao polyphenols and protect low-density lipoprotein from oxidation in vitro. *Exp.Biol.Med.(Maywood.)* 2002;227:51-6.

189. Iijima K, Yoshizumi M, Hashimoto M et al. Red wine polyphenols inhibit vascular smooth muscle cell migration through two distinct signaling pathways. *Circulation* 2002;105:2404-10.
190. Wollny T, Aiello L, Di Tommaso D et al. Modulation of haemostatic function and prevention of experimental thrombosis by red wine in rats: a role for increased nitric oxide production. *Br.J.Pharmacol.* 1999;127:747-55.
191. Andriambeloson E, Kleschyov AL, Muller B, Beretz A, Stoclet JC, Andriantsitohaina R. Nitric oxide production and endothelium-dependent vasorelaxation induced by wine polyphenols in rat aorta. *Br.J.Pharmacol.* 1997;120:1053-8.
192. Martin S, Andriantsitohaina R. [Cellular mechanism of vasculo-protection induced by polyphenols on the endothelium]. *Ann.Cardiol.Angeiol.(Paris)* 2002;51:304-15.
193. Flesch M, Schwarz A, Bohm M. Effects of red and white wine on endothelium-dependent vasorelaxation of rat aorta and human coronary arteries. *Am.J.Physiol* 1998;275:H1183-H1190.
194. Burns J, Gardner PT, O'Neil J et al. Relationship among antioxidant activity, vasodilation capacity, and phenolic content of red wines. *J.Agric.Food Chem.* 2000;48:220-30.
195. Fitzpatrick DF, Hirschfield SL, Coffey RG. Endothelium-dependent vasorelaxing activity of wine and other grape products. *Am.J.Physiol* 1993;265:H774-H778.
196. Matsuo S, Nakamura Y, Takahashi M et al. Effect of red wine and ethanol on production of nitric oxide in healthy subjects. *Am.J.Cardiol.* 2001;87:1029-31.
197. Ramasamy S, Drummond GR, Ahn J et al. Modulation of expression of endothelial nitric oxide synthase by nordihydroguaiaretic acid, a phenolic antioxidant in cultured endothelial cells. *Mol.Pharmacol.* 1999;56:116-23.
198. Andriambeloson E, Stoclet JC, Andriantsitohaina R. Mechanism of endothelial nitric oxide-dependent vasorelaxation induced by wine polyphenols in rat thoracic aorta. *J.Cardiovasc.Pharmacol.* 1999;33:248-54.
199. Li HF, Chen SA, Wu SN. Evidence for the stimulatory effect of resveratrol on Ca(2+)-activated K⁺ current in vascular endothelial cells. *Cardiovasc.Res.* 2000;45:1035-45.
200. Lugnier C, Schini VB. Characterization of cyclic nucleotide phosphodiesterases from cultured bovine aortic endothelial cells. *Biochem.Pharmacol.* 1990;39:75-84.
201. Beretz A, Anton R, Cazenave JP. The effects of flavonoids on cyclic nucleotide phosphodiesterases. *Prog.Clin.Biol.Res.* 1986;213:281-96.

202. Beretz A, Briancon-Scheid F, Stierle A, Corre G, Anton R, Cazenave JP. Inhibition of human platelet cyclic AMP phosphodiesterase and of platelet aggregation by a hemisynthetic flavonoid, amentoflavone hexaacetate. *Biochem.Pharmacol.* 1986;35:257-62.
203. Paquay JB, Haenen GR, Stender G, Wiseman SA, Tijburg LB, Bast A. Protection against nitric oxide toxicity by tea. *J.Agric.Food Chem.* 2000;48:5768-72.
204. Corder R, Douthwaite JA, Lees DM et al. Endothelin-1 synthesis reduced by red wine. *Nature* 2001;414:863-4.
205. Zhao X, Gu Z, Attele AS, Yuan CS. Effects of quercetin on the release of endothelin, prostacyclin and tissue plasminogen activator from human endothelial cells in culture. *J.Ethnopharmacol.* 1999;67:279-85.
206. Wallerath T, Li H, Godtel-Ambrust U, Schwarz PM, Forstermann U. A blend of polyphenolic compounds explains the stimulatory effect of red wine on human endothelial NO synthase. *Nitric.Oxide.* 2005;12:97-104.
207. Scholz S, Williamson G. Interactions affecting the bioavailability of dietary polyphenols in vivo. *Int J.Vitam.Nutr.Res.* 2007;77:224-35.