



L'effet du polymorphisme PPAR α -L162V sur la réponse lipidique à une supplémentation en acides gras polyinsaturés oméga-3

Mémoire

Dominique Caron-Dorval

Maîtrise en nutrition
Maître ès sciences (M.Sc.)

Québec, Canada

© Dominique Caron-Dorval, 2014

Résumé

Le projet de recherche sous forme d'intervention nutritionnelle dont fait l'objet ce mémoire de maîtrise avait pour principal objectif de comparer la réponse lipidique à une supplémentation en acides gras polyinsaturés oméga-3 chez des porteurs et des non-porteurs du polymorphisme PPAR α L162V. Quatorze hommes porteurs et quatorze non-porteurs du polymorphisme PPAR α L162V ont été appariés pour l'âge et l'indice de masse corporelle. Chaque sujet recevait une supplémentation quotidienne en acides gras oméga-3 de 5g d'huile de poissons, et ce, pour une durée de six semaines. Avant l'intervention, les variables anthropométriques et les concentrations de lipoprotéines/lipides n'étaient pas associées au polymorphisme. Indépendamment du génotype, la supplémentation en acides gras oméga-3 fut reliée à la diminution significative des taux de triglycérides plasmatiques, de la concentration de glucose à jeun, de la pression artérielle diastolique et finalement de l'augmentation du taux d'apolipoprotéine B. Une interaction gène-diète significative a également été observée pour la protéine C-réactive. Les résultats de cette étude suggèrent que des variations du gène PPAR α puissent contribuer à la variabilité interindividuelle des concentrations plasmatiques de la protéine C-réactive en réponse aux acides gras polyinsaturés oméga-3.

Abstract

The main objective of this master degree project was to examine whether omega-3 polyunsaturated fatty acids induced changes in cardiovascular disease risks factors are influenced by the PPAR α L162V polymorphism. A total of 14 men carriers of the *V162* allele and 14 *L162* homozygotes were matched according to age and body mass index. All men were supplemented daily with 5g of fish oil during a 6-week period. At screening, both genotype groups were similar for anthropometric indices and plasma lipoprotein/lipid concentrations. Independently of the genotype, the supplementation was associated with a significant decrease in plasma triglyceride and fasting glucose concentrations, diastolic blood pressure and with an increase in total Apolipoprotein B concentrations. A significant genotype-by-diet interaction effect was observed for plasma C-reactive protein concentrations. The PPAR α L162V polymorphism may contribute to the interindividual variability in the cardiovascular disease risk factor response to omega-3 polyunsaturated fatty acids.

Table des matières

Résumé.....	iii
Abstract.....	v
Liste des tableaux	ix
Liste des figures	xi
Liste des abréviations.....	xiii
Avant-Propos.....	xvii
Chapitre 1. Introduction générale.....	1
Chapitre 2. Problématique	3
1. La génomique nutritionnelle.....	3
1.1 Nutriginomique et nutrigenétique	3
1.1.1 Polymorphisme	4
1.1.2 La variabilité entre les individus	5
1.1.3 Interaction gène-diète	5
1.1.4 Gène de l'ApoE et métabolisme des lipides	6
1.1.5 PPARs.....	6
1.1.6 Polymorphisme PPAR α L162V	7
1.1.7 Une étude d'intervention nutritionnelle	7
1.1.8 L'effet de concentration.....	8
2. Les acides gras oméga-3	9
2.1 La nomenclature des acides gras	9
2.1.1 Les acides gras polyinsaturés oméga-3.....	10
2.2 Les effets cardio-protecteurs des acides gras oméga-3	11
2.2.1 Les recommandations.....	13
2.3 Les effets anti-inflammatoires des acides gras oméga-3.....	14
2.3.1 L'inflammation et la plaque athéromateuse.....	14
2.3.2 L'inflammation et les maladies chroniques.....	15
3. Hypothèses	16
3.1 Hypothèse générale.....	16
3.2 Hypothèse spécifique.....	17
4. Objectifs	17
4.1 Objectif général.....	17
4.2 Objectif spécifique	17
5. Méthodologie.....	17
5.1 Sujets et méthodes.....	17
5.2 Mesures anthropométriques	18
5.3 Bilans sanguins et mesure du génotype.....	18
5.4 Étude et intervention nutritionnelle	19
Chapitre 3. Article scientifique	21
Résumé.....	23
Abstract.....	24

Introduction.....	26
Methods	27
Subjects and methods	27
Study design and diet	27
Anthropometric measurements and blood pressure measurements.....	28
Blood variables	29
DNA analysis	29
Statistical analyses	29
Results	30
Discussion	31
Acknowledgements	34
References.....	36
Chapitre 4. Discussion générale et conclusion	43
Bibliographie.....	47

Liste des tableaux

Chapitre 2

Tableau 1. Nomenclature des acides gras polyinsaturés	10
Tableau 2. Mécanismes proposés pour expliquer l'action des acides gras oméga-3 sur la santé cardiovasculaire.....	13

Chapitre 3

Table 1. Subject's characteristics before n-3 PUFA supplementation according to the PPAR α L162V polymorphism matched for age and BMI	41
Table 2. Daily energy and nutrient intake from food frequency questionnaire	41
Table 3. Metabolic variable pre- and post-6-week n-3 PUFA supplementation according to the PPAR α L162V polymorphism.....	42

Liste des figures

Chapitre 2

Figure 1. Interaction gène-diète.....	4
Figure 2. Polymorphisme (SNPs).	4
Figure 3. Les types de matières grasses alimentaires	10
Figure 4. Les effets bénéfiques anti-inflammatoires potentiels des acides gras oméga-3 sur l'athérosclérose	15

Liste des abréviations

AA	Acide arachidonique
ALA	Acide α -linoléique
APO	Apolipoprotéine
C-Total	Cholestérol-total
C-LDL	Cholestérol-LDL
C-HDL	Cholestérol-HDL
DHA	Acide docosahexanoïque
DLP	Dyslipidémies
DPA	Acide docosapentanoïque
DM2	Diabète de type 2
EPA	Acide eicosapentanoïque
LA	Acide linoléique
LPL	Lipoprotéine lipase
MCV	Maladies cardiovasculaires
MO	Monocytes
NE	Neutrophiles
NF κ B	<i>Nuclear factor kappa B</i>
n-3	Acides gras polyinsaturés oméga-3
n-6	Acides gras polyinsaturés oméga-6
SNPs	<i>Single nucleotide polymorphism</i> ou polymorphisme nucléotidique
PPARS	<i>Peroxisome Proliferator-Activated Receptor</i> (PPARs)
TG	Triglycérides
TNF α	<i>Tumor necrosis factor α</i>
VLDL	<i>Very low density lipoprotein</i> ou lipoprotéine de très faible densité

À ma maman qui se bat si fort, à mes deux
petits anges...et bébé garçon bien au chaud
dans mon ventre.

*Celui qui ne soigne pas bien ses aujourd'hui
gaspillera bien des demain à réparer ses hier*
(Pierre Clément)

Avant-Propos

Ce mémoire contient un article scientifique déjà paru, ayant pour titre : *Effect of the PPAR-alpha L162V Polymorphism on the Cardiovascular Disease Risk Factor in Response to n-3 Polyunsaturated Fatty Acid*. Il a été publié dans la revue *Journal of Nutrigenetic and Nutrigenomics* [1]. Mon implication pour mener à bien cette étude clinique a débuté avec le recrutement des participants, en passant par les analyses statistiques jusqu'à la rédaction et la soumission de l'article présenté dans ce mémoire. Tout ceci fut possible grâce à la supervision exceptionnelle de ma directrice, Dre Marie-Claude Vohl, pour qui j'ai le plus grand respect autant pour sa profondeur scientifique que pour ses grandes qualités personnelles. Je suis fière d'être associée à sa science des interactions gènes-diète. Merci aux Instituts de Recherche en Santé du Canada pour leur support financier et l'Institut sur la Nutrition et les Aliments Fonctionnels. Un remerciement sincère au Dre Hélène Jacques et à la FESP qui ont permis la réalisation finale de ce mémoire.

Je remercie Pascale Paquet pour sa collaboration estivale à analyser des questionnaires de fréquence alimentaire et la saisie de données. Grâce à toi, tout allait plus vite et bien. Merci à Ann-Marie Paradis pour sa patience et sa généreuse collaboration quant aux analyses statistiques et à l'interprétation des données. Je tiens à remercier les coauteurs Simone Lemieux, Patrick Couture et Iwona Rudkowska qui ont révisé le manuscrit et apporté des commentaires constructifs. Je souhaite également souligner la contribution remarquable de mes amis et collègues Guillaume Dolley et Luigi Bouchard, toujours prêts à répondre gentiment à mes questions et surtout créer une atmosphère impropre au travail, sans vous rien n'aurait été aussi savoureux. Un autre grand merci à Alain Houde pour son aide précieuse au laboratoire et sa grande disponibilité. Je m'en voudrais d'oublier les participants à des projets de recherche, sans votre volonté d'améliorer votre santé et votre disponibilité, la recherche scientifique serait bien moins riche de connaissances.

À quelques reprises certains m'ont demandé pourquoi je faisais une maîtrise, à chaque fois, j'en restais d'ailleurs surprise tant ma conviction en l'utilité de la chose était bien encrée. Ces questionnements ont poussé ma réflexion plus loin. Ce n'est pas pour ses trois lettres qui en disent long ni pour les possibles échelons salariales, mais parce que la curiosité est une science qui cultive l'esprit. Et un esprit qui se cultive entraîne au

dépassement de soi, et vouloir faire toujours mieux et plus est un cercle éternellement vicieux, mais la plupart du temps heureux.

Finalement, j'ai une reconnaissance sans borne pour mes parents qui m'ont tout donné. Vous m'avez inculqué le gène du travail et offert la chance de cultiver ma curiosité et mon goût d'apprendre, sans vous je n'aurais pas tous les outils pour être heureuse dans la vie.

Ma vie ne serait pas aussi douce et jolie sans toi Fabrice. En espérant que le destin continue de nous apporter de petits bonheurs, qu'il nous rapproche encore et veuille le meilleur pour nous deux. Merci de faire partie de ma vie.

Je vous présente maintenant le résultat de mon travail de maîtrise tout en vous souhaitant une lecture stimulante.

Chapitre 1. Introduction générale

La pratique courante auprès des patients apporte beaucoup de matière très enrichissante à la recherche. Les questionnements ou difficultés auxquels font face nos patients, à tous les jours, nous forcent à se poser les bonnes questions en tant que professionnels de la santé pour mieux les aider. Particulièrement dans le domaine de la nutrition, avec les années, je me rends compte de toute l'implication et de la difficulté à changer ses habitudes de vie. Certaines personnes y arrivent à court ou à long terme, d'autres pas du tout.

Bien sûr, plusieurs étapes liées au changement de comportement peuvent être vécues par un individu avant de changer une habitude néfaste pour sa santé et la plupart savent qu'il est mieux d'adopter une saine alimentation pour vivre mieux. L'importance de la nutrition n'aura jamais été si populaire. Pourtant, plusieurs patients n'arrivent pas à améliorer leur état de santé, de façon volontaire ou non, en étant conscients des risques qui y sont associés. Ce qui suggère que des facteurs psychologiques, environnementaux et certainement biologiques jouent un rôle important dans la capacité des gens à améliorer leur santé.

L'alimentation joue un rôle dans la prévention et le traitement de plusieurs pathologies prévalentes dans notre société comme la maladie cardiovasculaire (MCV), le diabète, l'obésité, l'hypertension et le cancer. Dans le cadre de consultations visant la perte de poids, parfois les patients disent que leur difficulté à perdre est due à leur génétique, qu'ils sont tous ronds dans la famille, « programmés » comme cela, mais jusqu'à quel point la génétique joue un rôle dans la réponse à un traitement nutritionnel ? Certains individus semblent relativement insensibles aux modifications alimentaires alors que d'autres réagissent de façon plus marquée [2, 3]. L'élaboration des apports nutritionnels de référence par Santé Canada ou les lignes directrices des différents organismes permettent de réduire les risques de développer ces maladies chez une large population en pensant que la plupart des gens répondent de façon similaire aux modifications alimentaires et peuvent donc bénéficier plus ou moins également de ces recommandations. Cependant, la différence interindividuelle est bien documentée, notamment au niveau cardiovasculaire et lipidique [4, 5] et cette variabilité pourrait être explicable par une interaction entre les gènes et l'alimentation [6, 7]. La plupart des études portant sur les interactions gène-diète

chez les humains ont utilisé les phénotypes des lipides et des lipoprotéines sanguins et une revue de ces études montre que les variations génétiques de plusieurs gènes jouant un rôle clé dans le métabolisme des lipides sont impliquées dans la modulation des taux de lipides plasmatiques [8].

La nutrition est un des facteurs importants pouvant atténuer ou exacerber le risque de développer un désordre lipidique, mais la relation avec la diète demeure complexe afin de comprendre comment les gènes et l'environnement agissent sur les maladies chroniques et comment l'alimentation, en lien avec le bagage génétique, peut être améliorée afin de prévenir ou retarder l'apparition de maladies. Une meilleure connaissance de ce phénomène permettrait de cibler des patients à risque élevé et de proposer des traitements plus individualisés.

La première partie de ce mémoire a pour objectif de présenter les caractéristiques et les mécanismes du gène *peroxisome proliferator-activated receptor alpha* (PPAR α), un bon candidat modulateur de la relation entre l'apport en gras et les variables métaboliques. Cette section fera également le lien avec les acides gras oméga-3 qui servent de ligands pour moduler l'expression de ce gène et le polymorphisme étudié PPAR α -L162V. La seconde partie présentera un article, rédigé en anglais, intitulé : *Effect of the PPAR-alpha L162V Polymorphism on the Cardiovascular Disease Risk Factor in Response to n-3 Polyunsaturated Fatty Acid* publié dans la revue *Journal of Nutrigenetics and Nutrigenomics* [1]. La dernière section propose une discussion générale de même que les conclusions de ce projet de maîtrise ainsi que la perspective d'avenir de la nutriginomique sur la pratique professionnelle.

Chapitre 2. Problématique

1. La génomique nutritionnelle

En pratique clinique, nous remarquons que ce ne sont pas tous les patients qui réagissent de la même façon aux traitements, bien sûr plusieurs variantes interreliées influencent cette réaction dont l'environnement, le niveau d'éducation, la situation économique, l'alimentation, l'activité physique, la combinaison de médicaments et évidemment la génétique.

Nous rencontrons des gens souffrant de maladies chroniques très lourdes tous les jours et souvent plus d'une à la fois, pensons juste au diabète, à l'hypertension, les MCV et l'obésité. En 2008, 7% de la population montréalaise de 45 ans et plus présentait à la fois, le diabète de type 2 et l'hypertension, soit environ 40 500 personnes. Et de 2005 à 2009, ces maladies chroniques ont causé plus de 72% des décès chez les 20 ans et plus [9]. La population souffrant de plus en plus de ces maladies chroniques que l'on peut qualifier à traits complexes, comportent plusieurs composantes génétiques. Des différences génétiques interindividuelles pourraient expliquer la réponse variable aux traitements médicaux, pharmaceutiques et nutritionnels. Depuis quelques années les chercheurs s'intéressent à la génomique nutritionnelle et tentent de trouver des réponses à cette problématique.

1.1 Nutrigenomique et nutrigenétique

Deux termes sont utilisés pour définir la génomique nutritionnelle, soit la nutrigenomique et la nutrigenétique [8]. La nutrigenomique est l'étude des interactions entre les gènes et les nutriments fournis par l'alimentation et de l'effet de ces interactions sur la santé. Cette science étudie la structure, la régulation et le rôle des gènes en cause dans le métabolisme et le mode d'action des nutriments. Les nutriments permettent l'expression des gènes ou la sous-expression, ce qui nous permet d'étudier la façon dont certaines habitudes alimentaires ou nutriments sont susceptibles de modifier l'expression des gènes. Alors que la nutrigenétique en soi est l'étude des effets des variations génétiques sur la réponse au traitement nutritionnel, donc la façon dont un individu réagit à certains aliments comparativement à un autre individu et détermine les bases héréditaires de cette variabilité [10] (Figure 1).

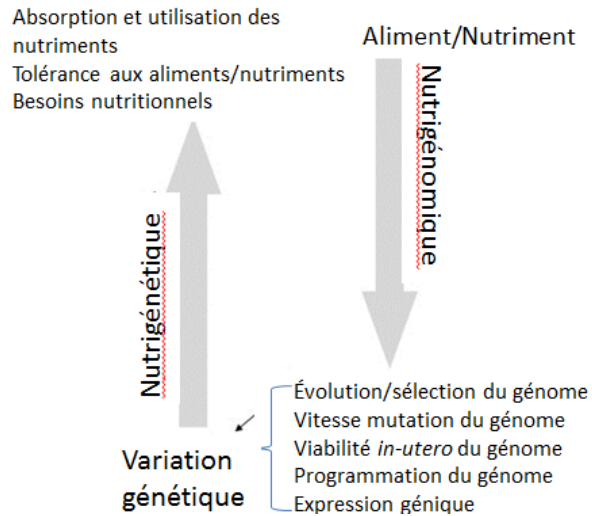
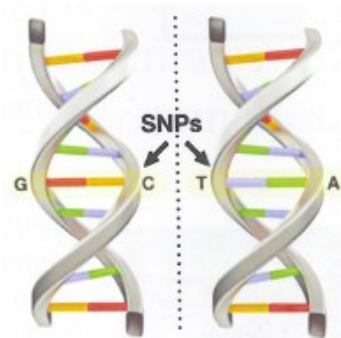


Figure 1. Interaction gène-diète, tirée de Stover [11].

1.1.1 Polymorphisme. La séquence complète du génome humain permet l'identification et la localisation des gènes en cause dans plusieurs pathologies. Il existe une grande variabilité dans la séquence du code génétique humain. On retrouve près de 10 millions de polymorphisme nucléotidique (SNPs) dans le génome, par la substitution d'un seul nucléotide cela représente près de 90 % de toutes les variations génétiques et la plus simple des variations génétiques [12]. Certaines de ces variations expliquent les différences interindividuelles des phénotypes dans la population (Figure 2).



Une mutation génétique à un endroit précis sur un gène. Quatre bases nucléotidiques : l'adénine (A), la guanine (G), la thymine (T) et la cytosine (C) composent la séquence qui forme l'ADN. La substitution d'une paire de base par une autre se nomme polymorphisme.

Figure 2. Polymorphisme (SNPs), tirée de : Cormier [13].

Par exemple, dans le cas de l'obésité, un polymorphisme présent sur le gène *FTO* où un nucléotide de l'adénine se substitue à la thymine à un endroit précis du gène explique en partie la variance observée pour le poids des sujets ayant un niveau d'activité physique et des apports alimentaires semblables [14].

1.1.2 La variabilité entre les individus. L'alimentation saine et variée est bien sûr recommandée pour tous, certaines recommandations alimentaires relevant d'études scientifiques sérieuses visent la majorité de la population selon l'âge et le sexe, mais il semble que les bénéfiques ne soient pas égaux pour tous. En effet, certaines personnes auraient avantage à modifier leur consommation d'un nutriment si l'on tient compte de leur risque génétique. La nutriginomique permet d'étudier l'influence des variations génétiques sur les besoins nutritionnels et d'établir la fréquence de ces variations génétiques dans chaque population et sous-population [15].

1.1.3 Interaction gène-diète. Des gènes codent pour des enzymes, des transporteurs ou des cofacteurs nécessaires au métabolisme des nutriments dans l'organisme. Des variations de ces gènes influent sur l'activation de ces protéines et provoquent une altération du métabolisme de ces enzymes, transporteurs ou cofacteurs. Donc, le métabolisme de certains nutriments peut être modifié par une ou plusieurs variations génétiques. L'importance de cette variation sur l'activité ou l'expression de la protéine peut également être modulée par la quantité et le type de nutriment.

Par exemple, une intervention nutritionnelle ciblée pour une sous-population mexicaine et italienne permettrait peut-être l'amélioration de leur santé. Effectivement, la forte prévalence d'une mutation du gène de la méthylène tetra-hydrofolate réductase (*MTHFR*) 677C→T touche environ 30 % de ces groupes ethniques. Cette mutation est associée à des taux élevés d'homocystéine, particulièrement chez des gens ayant un faible apport en acide folique et un taux élevé d'homocystéine et auraient un risque cardiovasculaire accru [15]. Ce polymorphisme expliquerait en partie aussi le risque variable de développer une malformation du tube neural chez l'embryon ou un cancer du côlon, car les porteurs de l'allèle T présenteraient plus de risque de développer des anomalies que les porteurs de l'allèle C [16]. Il semble que les mexicains habitant aux États-Unis auraient des besoins en folates augmentés de 8,9 %, secondaires à cette mutation, ce qui équivaut à 36µg/jour, un

changement qui ne justifie pas de corriger les apports nutritionnels de référence (ANREF) [17], mais qui démontre la grande variabilité des besoins en micronutriments dans une population et l'importance de bien les cibler afin d'optimiser leur santé via l'alimentation.

1.1.4 Gène de l'ApoE et métabolisme des lipides. Plusieurs études ont porté sur le métabolisme des lipides puisque la réponse aux interventions nutritionnelles est variable d'un individu à l'autre, ce qui laisse suspecter évidemment des effets d'interaction gène-diète. C'est le cas pour le gène de l'apoprotéine E (ApoE), étudié depuis longtemps vu sa grande influence sur le métabolisme des lipides [18, 19]. L'ApoE, une protéine essentielle dans le transport et le métabolisme du cholestérol plasmatique, se présente sous 3 isoformes : E2, E3 et E4. Des études démontrent que les porteurs de l'allèle E4 présentaient une élévation du cholestérol total (C-total) sanguin, suite à un enrichissement de leur alimentation en cholestérol alimentaire, ils étaient très sensibles aux modifications alimentaires, donc plus à risque de maladies cardiovasculaires. Ils étaient ceux aussi dont le profil lipidique s'améliorait le mieux lorsque l'apport en cholestérol était modifié [20, 21]. Alors que les porteurs de l'allèle E2 semblaient mieux protégés avec des taux plus faibles de C-total, de cholestérol-LDL (C-LDL) et d'apolipoprotéine B (ApoB) [22, 23]. Il demeure donc important de prendre en considération le génotype de l'ApoE des sujets participant aux études car il est un déterminant important dans la réponse métabolique des lipides [24].

1.1.5 PPARs. Un gène de la famille des récepteurs nucléaires *Peroxisome Proliferator-Activated Receptor* (PPARs) s'avère un bon candidat pour moduler l'apport en lipides et les variables métaboliques. PPAR α , le premier gène identifié d'une famille de deux autres membres : PPAR γ et PPAR δ [25], s'exprime principalement dans les tissus responsables du catabolisme des acides gras comme le foie, les reins, le cœur et les muscles [26]. Ce gène code pour une protéine qui agit comme facteur de transcription de gènes impliqués, entre autres, dans le transport et l'oxydation des acides gras. Les acides gras, ligands endogènes, et d'autres ligands synthétiques comme le médicament hypolipidémiant fibrates, modulent l'expression de ce gène en se liant à PPAR α [27, 28]. Lorsqu'activé par les acides gras à longues chaînes, PPAR α se fixe à un élément de réponse *Peroxisome Proliferator Response Element* (PPRE) afin d'activer ou de réprimer l'expression des gènes cibles de PPARs [29]. Le gène PPAR α est un bon candidat pour moduler la relation

entre l'apport en acides gras et les variables métaboliques et du coup, influencer le profil de risque de la maladie cardiovasculaire [30, 31].

1.1.6 Polymorphisme PPAR α L162V. La recherche de variations génétiques dans le gène de PPAR α a permis l'identification d'une substitution de l'acide aminé Leucine pour une Valine en position 162 du gène (PPAR α L162V) [25]. Cette variation, présente chez environ 6,6 % de la population québécoise [25], modifie l'activité de la protéine, les porteurs de la mutation ayant une augmentation de l'activité de la protéine [26]. Cette mutation est associée à des niveaux plasmatiques plus élevés de triglycérides (TG), d'ApoB et des valeurs réduites d'adiposité [30, 32, 33].

Des conséquences fonctionnelles de ce polymorphisme ont été démontrées notamment chez des patients atteints de diabète de type 2 (DM2). Les diabétiques porteurs de l'allèle V162 avaient des taux de C-total, cholestérol-HDL (C-HDL) et d'ApoA-1 plus élevés [34]. Une équipe française, a trouvé pour sa part, chez une cohorte d'hommes caucasiens porteurs de l'allèle rare V162, diabétiques et souffrant de MCV, des concentrations élevées de C-total et d'ApoB comparativement aux non-porteurs et chez les diabétiques avec la mutation, mais sans MCV cette fois, la tendance était forte à détenir des taux de C-total et d'ApoB plus élevés [35]. En réponse à un traitement aux fibrates, ces diabétiques porteurs de l'allèle mutée se voyaient réduire leur C-total de façon plus marquée [35].

1.1.7 Une étude d'intervention nutritionnelle. Il appert que les porteurs de l'allèle V162 aient un profil métabolique plus détérioré, mais répondent de façon intéressante aux médicaments comme les fibrates, qui abaissent la concentration plasmatique notamment des TG et des lipoprotéines de très faible densité (VLDL). Les fibrates agissent en activant des facteurs nucléaires, PPARs, qui régulent la transcription des gènes impliqués dans le métabolisme des lipoprotéines riches en TG et des C-HDL. L'activité de la lipoprotéine lipase (LPL) est augmentée, d'où la baisse des TG [36]. Ils agissent comme ligands synthétiques de PPAR α . Notre équipe de recherche a procédé à une étude d'intervention nutritionnelle avec un ligand naturel, soit les acides gras afin de voir si le bilan lipidique pouvait être influencé en faisant varier l'alimentation en acides gras polyinsaturés des sujets porteurs ou non de la mutation. Ces sujets ont consommé une alimentation dont le

ratio de gras polyinsaturés sur gras saturés (P:S) était faible (0,3) pendant un mois et ensuite une alimentation dont le ratio P:S était élevé (1,0) pendant encore un mois. Les changements observés pour plusieurs variables biochimiques (C-total, ApoA-1, C-LDL) étaient plus importants pour les sujets non-porteurs de la mutation. Les porteurs de l'allèle V162 étaient moins sensibles aux changements apportés dans le ratio P:S que ceux ayant l'allèle normal [37]. Le polymorphisme PPAR α L162V a donc pu contribuer aux changements interindividuels observés dans le métabolisme des lipides en réponse à une proportion différente des apports en acides gras de l'alimentation.

1.1.8 L'effet de concentration. Des chercheurs ont déjà observé un effet du polymorphisme L162V sur l'activation de la transcription associée à un ligand de PPAR α qui dépend de la concentration du ligand [38, 39]. Il semble bien démontré dans la littérature que lorsque la concentration du ligand est forte, la liaison est associée à une augmentation de l'activation de la transcription avec l'allèle V162 comparativement à l'allèle L162, alors qu'avec une faible concentration, la situation est inversée, c'est-à-dire que l'allèle V162 est associée à une réduction de l'activation de la transcription [34, 40]. Tai et al ont mesuré l'effet potentiel du polymorphisme PPAR α L162V sur la concentration des lipides plasmatiques, des lipoprotéines et des apolipoprotéines en relation avec les habitudes alimentaires en acides gras polyinsaturés des participants de la cohorte du *Framingham Heart Study* [41]. Pour ce faire, ils ont mesuré les apports lipidiques à l'aide de questionnaires de fréquence alimentaire de 1003 hommes et 1103 femmes. Ils ont vérifié l'interaction gène-diète de façon spécifique en précisant les apports d'acides gras polyinsaturés oméga-3 (n-3) comprenant l'acide α -linoléique (ALA), eicosapentanoïque (EPA), docosahexanoïque (DHA) et docosapentanoïque (DPA) de même que les acides gras polyinsaturés oméga-6 (n-6) tels que l'acide linoléique (LA) et l'acide arachidonique (AA). Les résultats rapportent des interactions significatives entre l'apport alimentaire d'acides gras polyinsaturés et les TG plasmatiques et ApoC-III. Les porteurs de l'allèle V162 avaient un taux de TG et une concentration d'ApoC-III significativement plus bas avec une forte consommation en acides gras polyinsaturés (> 8 %). Ce qui ajoute à l'évidence vue dans la littérature précisant une augmentation de l'activation de la transcription par l'allèle 162V contrairement à L162 lorsque des ligands de forte concentration se lient à PPAR α .

Un fait intéressant, Tai et al ont observé des résultats similaires quant à l'influence des acides gras n-3 versus n-6 sur la réduction des concentrations plasmatiques de TG et d'ApoC-III chez les porteurs de l'allèle V162 [41]. Dans la littérature, quelques études démontrent qu'*in vivo*, les acides gras n-3 auraient un meilleur potentiel d'activation sur PPAR α [42, 43]. Cette constatation a inspiré l'étude d'intervention dont fait l'objet ce mémoire.

2. Les acides gras oméga-3

Plusieurs données suggèrent que des variations génétiques codant pour PPAR α , qui régule une variété de gènes impliqués dans le métabolisme des lipides, le transport et l'oxydation des acides gras, peuvent ultérieurement moduler le risque de MCV [31]. En sachant que les acides gras sont des ligands naturels de PPAR α , il y aurait une forte possibilité d'interaction gène-diète avec les acides gras polyinsaturés n-3 à la lumière de ce qui a été observé lors de l'intervention nutritionnelle faite au préalable dans notre laboratoire où la réponse lipidique des participants à la modification du ratio d'acides gras polyinsaturés sur saturés était influencée par le polymorphisme L162V du gène de PPAR α [37].

2.1 La nomenclature des acides gras

Les lipides alimentaires agissent par de multiples mécanismes biochimiques sur nos lipides sanguins plasmatiques, et ce, pour le meilleur et le pire sur la santé cardiovasculaire. La famille des lipides alimentaires est constituée de plusieurs gras différents dont les acides gras saturés (AGS), trans, insaturés et le cholestérol (Figure 3). Les acides gras insaturés se divisent en deux types de gras : monoinsaturés et polyinsaturés, selon leur degré d'insaturation. Les acides gras polyinsaturés se redivisent en deux catégories selon la position du premier double lien dans la chaîne de carbone à partir du groupement méthyle. On y retrouve les acides gras polyinsaturés oméga-6 et oméga-3.

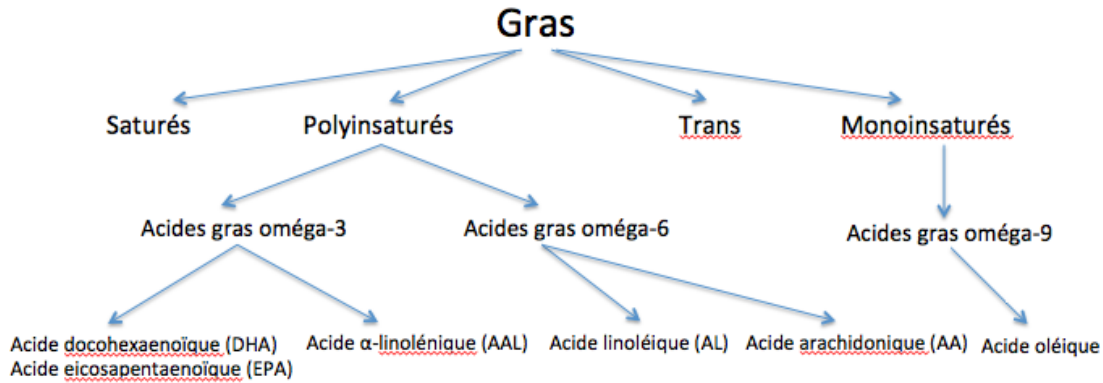


Figure 3. Les types de matières grasses alimentaires, inspirée de : Whitney [44].

2.1.1 Les acides gras polyinsaturés oméga-3.

Tableau 1

Nomenclature des acides gras polyinsaturés, inspiré de : Surette [45]

Polyinsaturés n-6	
- Linoléique	C18 : 2, n-6
- γ-Linolénique	C18 : 3, n-6
- Arachidonique	C20 : 4, n-6
Polyinsaturés n-3	
- α-Linolénique	C18 : 3, n-3 (ALA)
- Eicosapentaénoïque	C20 : 5, n-3 (EPA)
- Docosahexaénoïque	C22 : 6, n-3 (DHA)

L'AAL est considéré comme un acide gras polyinsaturé essentiel, une quantité suffisante est indispensable à la croissance, au développement et au maintien de la santé [46]. Il doit être puisé via l'alimentation, car l'organisme ne peut le synthétiser naturellement [45]. Cet acide gras est très présent dans l'alimentation nord-américaine. On le retrouve notamment dans certains aliments d'origine végétale comme l'huile et les graines de lin moulues, de chanvre, les noix de Grenoble ainsi que dans l'huile de canola et de soya [47].

Les acides gras d'origine marine EPA et DHA, ne sont pas dits essentiels car l'organisme peut les synthétiser à partir de l'ALA [48]. Vu leurs rôles physiologiques importants et la faible efficacité du mécanisme de conversion de l'ALA en EPA et DHA, il est préférable

d'en consommer sur une base régulière. En effet, la conversion de l'ALA en DHA est très limitée chez l'adulte [49], seulement 5 % de l'apport quotidien en ALA est converti en acides gras polyinsaturés à longues chaînes [49]. Le taux de conversion varie selon le ratio acides gras n-3 et n-6 et varie grandement d'une personne à l'autre [49, 50]. Un apport élevé en n-6 provoque une compétition enzymatique qui limite la conversion d'ALA en EPA et DHA [51]. Les huiles végétales de maïs, tournesol, carthame, coton et soya ainsi que les produits à base de ces huiles sont de bonnes sources d'oméga-6 [47].

L'EPA est le précurseur de plusieurs composés bioactifs qui participent à la régulation de la coagulation sanguine et à divers procédés physiopathologiques et inflammatoires. Le DHA est un des principaux composants fonctionnels des membranes cellulaires du tissu nerveux. Il est indispensable au bon développement et au maintien en santé du cerveau, des nerfs et de la rétine. On retrouve ces acides gras dans les poissons gras comme le saumon de l'Atlantique et sockeye, le hareng, la truite arc-en-ciel, la sardine et les suppléments contenant certaines huiles concentrées provenant de ces poissons [47]. Ils proviennent de la chair des poissons maigres et en plus grande quantité des poissons gras et aussi dans le foie de quelques poissons maigres comme la morue. Un repas de poisson maigre procure entre 0,2 et 0,3g d'acides gras n-3 d'origine marine alors qu'un repas de poissons gras comme le saumon ou le maquereau en fournit environ 1,5g. Les huiles retrouvées dans les suppléments sont donc fabriquées à partir de la chair des poissons gras et du foie des poissons maigres. Une capsule d'huile de poissons de 1g fournirait environ 0,3g d'EPA et de DHA, mais la quantité varie beaucoup selon les huiles utilisées [52].

2.2 Les effets cardio-protecteurs des acides gras oméga-3

L'intérêt suscité par les n-3 a débuté lorsqu'un faible taux de mortalité par coronaropathie a été observé chez les Inuits du Groenland en dépit d'une alimentation riche en matières grasses. Des chercheurs danois avaient formulé l'hypothèse dans les années 70 que ces résultats étaient attribuables à la forte teneur en acides gras oméga-3 de l'alimentation traditionnelle inuite [53].

Plusieurs études prospectives ont par la suite confirmé cette hypothèse. Selon une étude sur la santé des infirmières, les femmes qui consommaient du poisson hebdomadairement

réduisaient leur risque de décès par coronaropathie de 29 % comparativement aux femmes qui consommaient peu de poissons, soit moins d'une fois par mois [54]. Une autre étude de cohorte montre que la consommation d'au moins deux portions de poisson par semaine a réduit grandement la progression de l'athérosclérose chez des diabétiques ménopausées atteintes de maladie coronarienne [55].

Selon plusieurs études cliniques, la consommation de poissons ou d'un supplément d'huile de poissons a eu des effets positifs sur l'incidence de coronaropathies [46, 56, 57]. L'étude DART a noté une réduction de 29 % du taux de mortalité totale, notamment des suites de coronaropathies, lors d'un suivi en prévention secondaire de deux ans chez des hommes ayant subi un infarctus du myocarde. Les sujets devaient augmenter leur consommation hebdomadaire de poissons gras de 200 à 400g [58]. L'effet protecteur des acides gras n-3 a été confirmé chez d'autres sujets de cette même étude, ces derniers recevant un supplément d'huile de poisson de 900mg d'EPA et DHA chaque jour [59]. Une autre étude, bien reconnue, GISSI-Prevenzione, montre que le risque de mort subite par cardiopathie, chez les patients ayant reçu un supplément de 850mg d'EPA et DHA par jour, était réduit de 45 % contrairement au groupe témoin [60].

Plusieurs mécanismes possibles pouvant expliquer l'efficacité protectrice des acides gras oméga-3 sur la la santé cardiovasculaire ont été proposés (Tableau 2).

Tableau 2

Mécanismes proposés pour expliquer l'action des acides gras oméga-3 sur la santé cardiovasculaire, tiré de : Calder [46, 61-63]

-
- Réduisent le risque d'arythmies ventriculaires.
 - Inhibent la synthèse des TG et la lipémie post-prandiale par la clairance des chylomicrons et des résidus de chylomicrons.
 - Retardent la croissance de la plaque d'athérosclérose par la réduction de l'expression des molécules d'adhésion entraînant la migration des leucocytes et des cellules musculaires lisses dans l'intima de la paroi artérielle.
 - Favorisent la relaxation endothéliale et la compliance artérielle induite par l'oxyde nitrique.
 - Exercent un effet anti-inflammatoire.
 - Exercent un effet antithrombotique par la diminution de l'agrégation plaquettaire.
 - Exercent un effet hypotenseur.
-

De fortes doses d'acides gras n-3 réduisent l'agrégation plaquettaire, mais de plus faibles quantités auraient des effets inhibiteurs limités sur les plaquettes [64]. Les résultats des études de Lyon appuient le rôle de l'EPA et du DHA dans la prévention des décès subits causés par l'arythmie ventriculaire, qui représentent entre 50 à 60 % des décès des suites d'infarctus aigu du myocarde aux États-Unis [58, 65, 66].

La supplémentation apportant de plus grandes quantités d'EPA et de DHA que la consommation de poissons seule semble permettre de réduire la triglycéridémie de 6 à 8 % en presque trois semaines en diminuant la production de VLDL et en stimulant la lipolyse [57, 67, 68]. Chez des DM2, le niveau de TG à jeun a été réduit de 43 % en consommant 6 g d'EPA et DHA de façon quotidienne pendant 6 mois, en prenant leur médication habituelle [69].

2.2.1 Les recommandations. Bien sûr, ces dosages sont très élevés par rapport à la consommation quotidienne recommandée de 0,3 à 0,5g d'EPA et de DHA par l'Organisation mondiale de la Santé [46]. Pour les gens en bonne santé, l'*American Heart Association* (AHA) recommande la prise d'au moins deux repas de poissons gras par

semaine (soit 400 à 500mg d'EPA et de DHA par jour en moyenne) et d'aliments riches en acides gras ALA et pour ceux souffrant de maladies cardiovasculaires, l'AHA recommande une consommation d'environ 1g d'EPA et de DHA toujours en privilégiant les poissons gras. Quant aux gens hypertriglycéridémiques, la recommandation est de 2 à 4g d'EPA et de DHA sous forme de capsule d'huile de poissons avec une supervision médicale afin d'éviter les risques de saignement accrus [70, 71]. Les acides gras oméga-3 peuvent également être utilisés comme thérapie adjuvante aux fibrates pour les patients avec de très hauts taux de triglycérides plasmatiques (5,6mmol/L) [72, 73].

2.3 Les effets anti-inflammatoires des acides gras oméga-3

L'inflammation est reconnue comme un facteur jouant un rôle important dans la maladie cardiovasculaire et les maladies neurodégénératives reliées au vieillissement [61, 74, 75]. D'autres pathologies très actuelles et destructrices pour notre population nord-américaine ont aussi une composante inflammatoire en lien avec le tissu adipeux, source de cytokines inflammatoires, notamment l'obésité, le syndrome métabolique et le DM2 [75].

Afin de limiter le temps et l'intensité de la réaction inflammatoire au strict nécessaire et d'éviter une production excessive et inappropriée de médiateurs inflammatoires incluant les cytokines et eicosanoïdes, l'organisme a mis en place plusieurs processus de rétrorégulation hormonale.

2.3.1 L'inflammation et la plaque athéromateuse. Les acides gras polyinsaturés n-3 semblent avoir des effets anti-inflammatoires favorables et des effets directs sur la fonction endothéliale [56]. Leurs effets anti-athérogènes interfèrent dans plusieurs étapes du développement de la lésion athérosclérotique (Figure 4). Ils réduiraient la production de cytokines de même que la réponse cellulaire à ses médiateurs [52]. En effet, les acides gras à chaînes longues ont une influence déterminante sur le système immunitaire étant à l'origine des médiateurs essentiels de l'inflammation : les eicosanoïdes. Ces molécules d'acides gras proviennent de l'acide arachidonique et sont présentes dans toutes les membranes cellulaires dont celles des monocytes et des macrophages [52]. Elles régulent l'activité des lymphocytes et sensibilisent les vaisseaux sanguins aux effets d'autres médiateurs inflammatoires en modifiant les propriétés des membranes cellulaires (fluidité et activité des récepteurs membranaires) [75, 76].

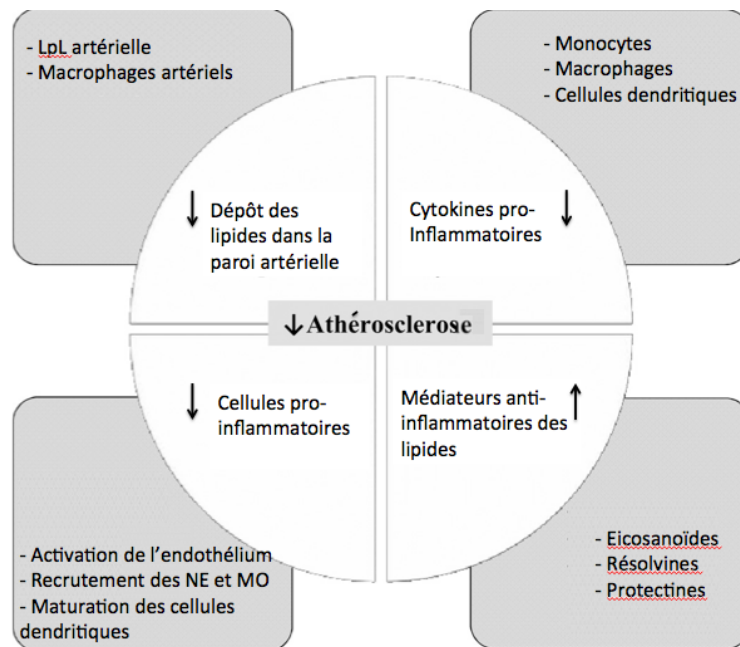


Figure 4. Les effets bénéfiques anti-inflammatoires potentiels des acides gras oméga-3 sur l'athérosclérose. NE : neutrophiles et MO : monocytes, tirée de Chang [77].

Les acides gras n-3 modèleraient le dépôt des lipides, dont les C-LDL, dans les artères et la réponse inflammatoire en régulant les niveaux de LPL de façon précoce dans le développement de l'athérosclérose. Une faible activité de la LPL est associée à l'athérosclérose prématurée et à une progression accélérée de l'athérogénèse [78]. De faibles taux de LPL diminueraient l'incorporation de ces acides gras dans les résidus de chylomicrons et influenceraient la rapidité de l'accumulation des lipides dans les macrophages artériels [79], contrairement par exemple aux résidus de chylomicrons riches en gras saturés qui sont captés beaucoup plus rapidement par les macrophages résultant en une plus grande accumulation de lipides dans le mur artériel influençant la stabilité de la plaque artérielle et les risques de rupture [77, 80].

2.3.2 L'inflammation et les maladies chroniques. Selon une étude récente, il reste encore plusieurs aspects inconnus de l'action anti-inflammatoire des acides gras n-3 sur les maladies chroniques afin d'ajuster l'utilisation thérapeutique. Une piste prometteuse demeure le lien entre la dose et la réponse pour mieux optimiser l'efficacité de ces acides gras n-3 [52]. Chez l'humain, un apport de plus de 2g d'EPA et de DHA par jour semble

requis pour activer l'action anti-inflammatoire. Les modèles animaux ont démontré un bénéfice de ces acides gras sur l'arthrite rhumatoïde, les maladies inflammatoires de l'intestin (MII) et l'asthme tout comme les études cliniques supportées par plusieurs méta-analyses qui montrent une amélioration des symptômes de l'arthrite chez les patients. Par contre, peu d'évidences ressortent des études cliniques faites chez des patients aux prises avec la MII et l'asthme en lien avec l'efficacité des acides gras n-3 [52].

Les acides gras n-3 inhibent l'activation du *nuclear factor kappa B* (NFκB), dans les cultures de monocytes humains [81, 82]. Il est le principal facteur de transcription nucléaire pro-inflammatoire. Chez l'animal, un modèle de souris transgénique capable de produire des acides gras n-3 de façon endogène a montré qu'avec une diète hyperlipidique, les souris résistaient fortement à l'obésité et au diabète en augmentant leur dépense énergétique. Ces changements métaboliques étaient accompagnés d'une réduction de l'état inflammatoire par une diminution significative des niveaux de prostaglandines, leucotriènes, monocytes et du *tumor necrosis factor* (TNFα). L'activité de NFκB était d'ailleurs presque complètement absente. Les auteurs ont également observé une augmentation marquée de l'activité de PPARα, un récepteur nucléaire qui facilite l'oxydation lipidique tel que vu précédemment [83].

Cette dernière observation n'est pas surprenante en sachant que les acides gras n-3 sont des ligands du facteur de transcription nucléaire qui contrôle des gènes comme PPARα. Il semble donc que les acides gras n-3 agissent à la fois sur le métabolisme des lipides via l'activité de PPARα, mais également sur le profil inflammatoire. L'activité biologique de ces molécules est très intéressante et les preuves scientifiques de leur efficacité pour améliorer la santé publique sont prometteuses.

3. Hypothèses

3.1 Hypothèse générale

Il existe une variabilité de la réponse métabolique entre les individus des suites de la supplémentation en acides gras oméga-3.

3.2 Hypothèse spécifique

L'amélioration du profil lipidique en réponse à une supplémentation en acides gras oméga-3 est plus substantielle pour les porteurs de l'allèle V162.

4. Objectifs

4.1 Objectif général

Vérifier l'effet d'interaction gène-diète sur la réponse lipidique à une supplémentation en acides gras polyinsaturés oméga-3.

4.2 Objectif spécifique

Examiner l'influence du polymorphisme PPAR α -L162V sur la réponse plasmatique des lipoprotéines/lipides à une supplémentation en acides gras polyinsaturés oméga-3. Des hommes porteurs et non-porteurs du polymorphisme PPAR α -L162V seront soumis à une supplémentation en acides gras oméga-3 et la réponse lipidique/lipoprotéique sera comparée.

5. Méthodologie

5.1 Sujets et méthodes

Cent quinze hommes habitant la ville de Québec ont été recrutés à l'aide d'annonces publiées dans les journaux locaux et de courriels envoyés à la liste des étudiants et employés de l'Université Laval ainsi que les employés des hôpitaux environnants. Ils étaient âgés entre 18 et 55 ans, non-fumeurs, n'ayant pas consommé de suppléments d'acides gras oméga-3 six mois auparavant, ne souffrant d'aucun désordre métabolique nécessitant une médication comme l'hypertension, le diabète, de dyslipidémies sévères ou de maladies cardiovasculaires. Vingt huit sujets ont été ensuite sélectionnés pour faire partie du projet de recherche, selon qu'ils étaient porteurs ou non du polymorphisme PPAR α L162V. Les quatorze porteurs de l'allèle 162V étaient pairés avec les quatorze homozygotes L162 selon l'âge et l'indice de masse corporelle (IMC). Tous les sujets ont signé le formulaire de consentement de manière libre et éclairée avant de participer au projet. L'étude a été approuvée par le comité d'éthique à la recherche du CHUQ et financée par les Instituts de recherche en santé du Canada (IRSC) et l'Institut sur la nutrition et les aliments fonctionnels (INAF).

5.2 Mesures anthropométriques

Le poids, la taille et la circonférence de la taille ont été mesurés par des professionnels qualifiés selon les procédures recommandées [84] lors de la visite de recrutement, après les deux semaines de mise à niveau alimentaire et après la prise des suppléments d'acides gras oméga-3. L'IMC était calculé en divisant le poids par la taille au carré (kg/m^2). Les mesures de tension artérielle ont été faites après un repos assis de cinq minutes.

5.3 Bilans sanguins et mesure du génotype

Le bilan de routine à jeun effectué lors du recrutement comprenait une formule sanguine complète, un bilan lipidique et une glycémie à jeun, des mesures de l'urée, de la créatinine, de l'ALT, de l'AST, de la TSH et de la phosphatase alcaline. L'insulinémie à jeun a été mesurée par essai immunométrique avec séparation au polyéthylène glycol. La glycémie à jeun a été effectuée à l'aide d'une méthode enzymatique.

Le profil lipidique a été déterminé par ultra-centrifugation afin de séparer les sous-fractions des lipoprotéines, plus particulièrement les VLDL, LDL, HDL₂ et HDL₃. Le contenu en cholestérol et en TG a été déterminé pour chaque fraction. La technique de précipitation fut utilisée pour mesurer les taux de cholestérol des fractions de HDL. La taille des LDL a été déterminée par électrophorèse. Les niveaux plasmatiques d'interleukine-6 furent mesurés par essai radioimmunométrique (Diagnostic System Laboratories) et le taux de protéine C-réactive (CRP) mesuré par essai immunométrique à haute sensibilité. Les taux d'ApoB et d'ApoB-LDL dans le sang ont été mesurés par une méthode immunoélectrophorétique. Finalement, le plasma des sujets a été conservé afin de mesurer la composition en acides gras des membranes de phospholipides plasmatiques des globules rouges. Ce test a été réalisé avec une méthode de chromatographie en phase gazeuse et a servi, en partie, à vérifier l'observance des sujets à la prise des capsules d'acides gras n-3.

Lors de l'analyse des résultats, les niveaux de lipides sanguins, les paramètres biochimiques et anthropométriques déjà répertoriés furent corrélés aux données alimentaires dans chacun des groupes génotypiques.

Des analyses de variance et de covariance ont permis également de vérifier l'association entre la présence des génotypes déterminés par méthode PCR et les paramètres biochimiques et anthropométriques ainsi que l'effet d'interaction avec l'alimentation. Les analyses statistiques ont été effectuées à l'aide du logiciel SAS. Ces étapes sont expliquées plus en détails dans l'article qui suit cette section.

5.4 Étude et intervention nutritionnelle

Tous les sujets ont suivi une mise à niveau de deux semaines afin d'uniformiser leur alimentation selon les recommandations du *National Cholesterol Education Program Step 1* (NCEP), le tout expliqué par une nutritionniste qui a pris soin auparavant de les questionner sur leurs habitudes alimentaires du dernier mois à l'aide d'un questionnaire de fréquence alimentaire (FFQ) très précis et validé [85] spécifiant les quantités d'aliments consommés en comparant avec des modèles d'aliments pour faciliter l'estimation des portions. L'analyse des FFQ a été effectuée avec le logiciel *Nutrition Data System for Research* (NDS). Il était demandé de maintenir les recommandations du NCEP tout en maintenant leur poids stable pendant tout le protocole.

Pendant six semaines, les sujets devaient consommer 5 capsules d'oméga-3 (1g d'huile de poissons chacune) pour un total de 3g d'EPA et de DHA par jour. Les capsules contenaient l'huile de trois espèces de poissons gras : l'anchois, la sardine et le maquereau. L'observance à la supplémentation était vérifiée par un décompte des capsules restantes dans la bouteille à la fin du protocole. Quelques recommandations spécifiques à la consommation de poissons étaient précisées : ne pas dépasser les 200g par semaine et préférer des poissons maigres, éviter les produits enrichis en n-3 par l'industrie alimentaire comme certains jus, laits, pains et œufs.

Les participants devaient aussi maintenir un niveau d'activité physique constant, ils devaient remplir un questionnaire d'activité physique validé [86] au début, pendant et après le protocole.

Chapitre 3. Article scientifique

Effect of the PPAR-alpha L162V polymorphism on the cardiovascular disease risk factor in response to n-3 polyunsaturated fatty acids.

Cet article a été publié dans le *Journal of Nutrigenetics and Nutrigenomics* en juin 2008 [1]. Il a fait l'objet d'une présentation lors de deux événements scientifiques sous forme orale à la 8^e réunion annuelle de la Société Québécoise de Lipidologie, de Nutrition et de Métabolisme en mai 2007 et une affiche au Congrès Canadien sur la santé cardiovasculaire en octobre 2007. Pour la réalisation de ce projet de recherche, mon implication s'est traduite par le recrutement de tous les sujets qui ont participé à l'étude, j'ai assuré le bon déroulement de l'étude clinique. J'ai réalisé l'analyse des journaux alimentaires ainsi que les questionnaires de fréquence alimentaire pour ensuite effectuer les analyses statistiques, l'interprétation des résultats, la rédaction de cet article et de ce mémoire. Pascale Paquet a grandement contribué à l'analyse des journaux alimentaires et des questionnaires de fréquence alimentaire. Ann-Marie Paradis a été de bons conseils pour les analyses statistiques. Iwona Rudkoska a revu la traduction anglaise du texte de l'article. Les Drs Simone Lemieux et Patrick Couture ont participé à l'élaboration du projet et à la révision de l'article. Finalement, Dre Marie-Claude Vohl a élaboré, subventionné ce projet et en a supervisé toutes les étapes.

Résumé

Contexte : Des individus peuvent avoir une réponse lipidique différente en faisant les mêmes modifications alimentaires et ceci pourrait être médié en partie par des facteurs génétiques.

Objectif : L'objectif de la présente étude était d'examiner l'influence du polymorphisme PPAR α -L162V sur la réponse plasmatique des lipoprotéines/lipides à une supplémentation en acides gras polyinsaturés oméga-3. Des hommes porteurs et non-porteurs du polymorphisme PPAR α -L162V ont été soumis à une supplémentation en acides gras oméga-3 et la réponse lipidique/lipoprotéique fut comparée.

Méthodes : Quatorze hommes porteurs et quatorze non porteurs du polymorphisme PPAR α -L162V appariés pour l'âge et l'IMC ont suivi les recommandations alimentaires du NCEP étape 1 pendant la durée du protocole. Ils ont consommé 3g d'EPA et DHA chaque jour en avalant 5 capsules d'huile de poissons pendant six semaines. Plusieurs paramètres biochimiques ont été mesurés avant et après la supplémentation.

Résultats : Les caractéristiques des sujets étaient comparables dans les deux groupes génotypiques au départ. Indépendamment du génotype, la supplémentation a entraîné une diminution significative des taux de triglycérides plasmatiques, de la glycémie à jeun, de la pression artérielle diastolique et une augmentation de la concentration totale de l'apolipoprotéine B. La diminution du taux des triglycérides plasmatiques était comparable pour les deux groupes ($p < 0,03$), mais une interaction gène-diète significative a été observée pour la concentration de la protéine C-réactive ($p = 0,01$).

Conclusion : Le polymorphisme PPAR α -L162V peut contribuer à la variabilité interindividuelle du facteur de risque de la maladie cardiovasculaire en réponse à la supplémentation en acides gras polyinsaturés n-3.

Abstract

Background : Dietary omega-3 (n-3) polyunsaturated FAs (PUFAs) decrease the risk of cardiovascular disease (CVD). Yet, genetic variations of the gene encoding the peroxisome proliferator-activated receptor alpha (PPAR α) can also modulate CVD risk factors. Since fatty acids, including n-3 PUFAs, are natural ligands of PPAR α , a gene-diet interaction effect could be observed.

Aims : To examine whether n-3 PUFAs induced changes in CVD risk factors are influenced by the PPAR α L162V polymorphism.

Methods: Fourteen men carriers of the V162 allele and 14 L162 homozygotes were matched according to age and body mass index. Subjects followed, for 8 weeks, a low-fat diet and then were supplemented daily with 5g of n-3 PUFAs for 6-weeks.

Results : Baseline characteristics were similar for both genotype groups. Independently of the genotype, the supplementation was associated with a significant decrease in plasma triacylglycerol and fasting glucose concentrations, diastolic blood pressure, and with an increase in total apolipoprotein B concentrations. The extent of the decrease in plasma triacylglycerol concentrations was comparable for both genotype groups ($P < 0.03$). A significant genotype-by-diet interaction effect was observed for plasma C-reactive protein concentrations ($P = 0.01$).

Conclusions : The PPAR α L162V polymorphism may contribute to the interindividual variability in the CVD risk factor response to n-3 PUFAs.

Effect of the PPAR-alpha L162V polymorphism on the cardiovascular disease risk factor in response to n-3 polyunsaturated fatty acids.

Dominique Caron-Dorval^{1,2}, Pascale Paquet¹, Ann-Marie Paradis^{1,2}, Iwona Rudkowska^{1,2}, Simone Lemieux², Patrick Couture^{1,2} and Marie-Claude Vohl^{1,2}.

From the ¹ Lipid Research Center, CHUQ-CHUL Pavilion, Sainte-Foy, Québec, Canada (DCD, PP, AMP, IR, PC, MCV); the Food Science and Nutrition Department, Laval University, Québec, Canada (DCD, AMP, IR, SL, MCV); and the ² Nutraceuticals and Functional Foods Institute (INAF), Sainte-Foy, Québec, Canada (DCD, AMP, IR, SL, MCV).

Supported by a grant from Canadian Institutes of Health Research (CIHR) and Nutraceuticals and Functional Foods Institute (INAF).

Running head: PPAR α and omega-3

Address of correspondence :

Marie-Claude Vohl, Ph.D.

Lipid Research Center, CHUQ-CHUL

2705 Laurier Blvd, TR-93, Sainte-Foy, Quebec, G1V 4G2, Canada

Phone: (418) 656-4141 ext. 48280

Fax: (418) 654-2145

Email: marie-claude.vohl@crchul.ulaval.ca

Running head : PPAR α and omega-3

Keywords : Peroxisome proliferator-activated receptor- α , fatty acids, cardiovascular disease risk factors, nutrigenetics, n-3.

Introduction

Numerous epidemiologic and interventional studies have demonstrated beneficial effects of dietary omega-3 (n-3) polyunsaturated FA (PUFA), including eicosapentanoic acid (EPA) and docosahexaenoic acid (DHA), on many cardiovascular disease (CVD) risk factors [1]. However, past studies have documented that there are considerable interindividual variability in the response of plasma lipoprotein/lipid concentrations to alterations in dietary fat [1-2].

There is strong evidence that this variability in the response to diet is partly attributable to genetic factors [3]. Possible genetic variants, which may impact on the lipid response to treatment, are, among others, polymorphisms in genes encoding apolipoprotein (apo) E [4] and peroxisome proliferator-activated receptor alpha (PPAR α) [5-7]. Of particular interest to the current research is an earlier study, which reported that the plasma lipoprotein/lipid responsiveness to a modification in the ratio of polyunsaturated to saturated fatty acids (FA) was influenced by the PPAR α gene [5]. More precisely, the variations in total cholesterol, (apo) A-I and cholesterol concentrations in small LDL particles between individuals could be explained by the PPAR α L162V polymorphism [5].

Other studies have also suggested that the PPAR α L162V polymorphism was associated with increases in lipid concentrations [6-7]. These data suggest that genetic variations of the gene encoding the PPAR α may also modulate the CVD risk profile [8].

Moreover, a wide range of compounds are identified as natural or synthetic ligands for PPAR α [9]. FA, mainly PUFA and PUFA-derived compounds, are natural ligands of PPAR α , whereas fibrates are synthetic agonists of PPAR α . A functional study with a PPAR α agonist has established that the non-ligand transactivation activity of the mutant allele of the L162V polymorphism was less than half of the wild-type receptor and was unresponsive to low concentrations of ligand [10]. Given that n-3 PUFA are natural ligands of PPAR α [9], there is a likelihood that a gene-diet interaction effects would be observed with PPAR α . In this context, the objective of the present study was to examine whether n-3 PUFA induced changes in CVD risk factors are influenced by the PPAR α L162V polymorphism.

Methods

Subjects and methods

One hundred and fifteen Caucasian men from the greater Quebec City metropolitan area were recruited through advertisements in local newspapers and by electronic messages sent to university and hospital employees, and screened for the presence of the PPAR α L162V polymorphism. Carriers of the *V162* allele were matched to *L162* homozygotes according to age and body mass index (BMI). Twenty-eight men were selected: 14 carriers and 14 non-carriers of the *V162* allele. To be eligible, men had to be 18 to 55 years, nonsmokers, not taking n-3 PUFA supplements for at least 6 months, free of any metabolic disorders requiring treatments such as hypertension, diabetes, severe dyslipidemia and coronary heart disease. All subjects gave their written consent to participate in the study, which was approved by the ethics committees of Laval University Hospital Research Center and Laval University.

Study design and diet

Twenty-eight subjects followed a run-in period of 2 weeks. Individual dietary instructions were given by a trained dietician to achieve the National Cholesterol Education Program Step 1 diet guidelines [11]. Subjects were asked to follow these dietary recommendations and maintain their body weight stable throughout the protocol. Some specifications were given regarding the n-3 PUFA dietary intake: do not exceed 2 fish or seafood servings per week (max 200g), preferred white flesh fishes instead of fatty fishes (examples were given), and avoid enriched n-3 PUFA alimentary products such as some milks, juices, breads, eggs. Subjects were also asked to limit their alcohol consumption during the protocol and 2 regular drinks per week were allowed. In addition, subjects were not allowed to take vitamins, n-3 PUFA supplements or natural health products during the protocol.

After the 2-week run-in, each participant received a bottle containing all needed fish oil capsules for the following 6 weeks and were invited to take 5 (1g oil each) capsules per day (Ocean Nutrition, Nova Scotia, Canada), providing a total of 3g of n-3 (1.9g EPA and 1.1g DHA). Capsules were composed of fish oil from 3 species: anchovy, sardine and mackerel. For a facilitated digestion, we suggested to take fish oil capsules while eating.

Compliance was assessed from the return of bottles. Subjects were asked to report any deviation during the protocol, write down their alcohol and fish consumption as well as the side effects. Before each phase, the subjects received detailed written and oral instructions on their diet.

A validated food-frequency questionnaire (FFQ) was administered to the participants by a registered dietician before the run-in period as well as pre and post n-3 PUFA supplementation [12]. This FFQ is based on typical food items available in Quebec and contains 91 items: 27 items had between 1 and 3 subquestions. The subjects were asked how often they consumed each item per day, per week, per month, or none at all during the last month. Many examples of portion size and food models were provided for a better estimation of real serving consumed by the subject. Nutrient intakes from the FFQ were compiled with Nutrition Data System for research (NDS-R) software version 4.03 (Nutrition Coordination Center, University of Minnesota, Minneapolis). Moreover, the estimated quantity consumed of n-3 PUFA was the quantity determined from the return of bottles containing capsules together with the dietary intake derived from the FFQ and the reported consumption of fishes and seafoods (n-3 PUFA quantities were determined with a Health Canada document : Nutrient Value of common foods and the USDA National Nutrient Database).

To verify whether physical activity was maintained at a constant level, subjects completed the Leisure Time Physical Activity Questionnaire with the dietician before the run-in period, as well as pre and post n-3 PUFA supplementation [13].

Anthropometric measurements and blood pressure measurements

Body weight, height and waist circumference were measured according to the procedures recommended by the Airlie Conference [14] and were taken at screening, before run-in and finally at pre and post n-3 PUFA supplementation. Body mass index (BMI) was calculated as weight per meter squared (kg/m^2). Resting blood pressure measurements were performed after a 5 min rest in a sitting position, Phases I and V of Korotkoff sounds being respectively used for systolic (SBP) and diastolic (DBP) blood pressures.

Blood variables

Blood samples were collected from an antecubital vein into vacutainer tubes containing EDTA after a 12-hour overnight fast and 48h of alcohol abstinence. Blood sample was taken to determine the PPAR α L162V genotype of each participant and to eliminate any metabolic disorders. Afterward, selected participants had blood samplings before the run-in and at the pre and post n-3 PUFA supplementation periods. Plasma was separated by centrifugation (2500 g for 10 min at 4°C) and few samples were portioned and frozen for subsequent measurements. Plasma total cholesterol and triglyceride concentrations were measured using enzymatic assays [15,16]. The high-density lipoprotein cholesterol (HDL) fraction was obtained after precipitation of low-density lipoprotein particles in the infranatant with heparin manganese chloride [17]. The low-density lipoprotein cholesterol (LDL) was calculated with the Friedewald formula [18]. Apolipoprotein B100 concentrations were measured in plasma by the rocket immunoelectrophoretic method of Laurell, as previously described [19]. Plasma C-reactive protein (CRP) levels were measured by nephelometry (Prospec equipment Behring) using a sensitive assay, as described previously [20]. One CRP value of more than 10 mg/L was excluded for statistical analyses. Fasting insulinemia was measured by radioimmunoassay with polyethylene glycol separation [21]. Fasting glucose concentrations were enzymatically measured [22].

DNA analysis

Genetic analyses were performed on genomic DNA isolated from human leukocytes. The PPAR α L162V polymorphism was determined by the polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism (PCR-RFLP) method, as previously described [8]. PCR products were then digested with HinfI, electrophoresed through a 12% acrylamide gel, stained with ethidium bromide, and visualized on an ultraviolet light box. The common three allele (E2/E3/E4) variation in the apoE gene was analyzed with the PCR-RFLP method described by Hixson and Vernier [23].

Statistical analyses

Variables not normally distributed were log₁₀ or squared root-transformed before analyses. Subjects with the *V/V* (1 subject) and *L/V* (13 subjects) genotypes were combined and compared to *L/L* homozygotes (14 subjects). A general linear model (GLM) was applied to compare means of subject's characteristics before the n-3 PUFA supplementation

according to the PPAR α L162V polymorphism. The Fisher's exact test was used to compare the distribution of apoE alleles in the PPAR α genotype groups. Differences in energy and nutrient intakes between phases were tested using repeated measured analysis of variance (GLM) followed by Tukey's test for pairwise comparisons between the 3 phases. A PROC MIXED procedure was performed to evaluate the effect of the genotype, the n-3 PUFA supplementation and the gene-diet interaction effects on the metabolic variables. Statistical analyses were performed with SAS statistical software, version 8.2 (SAS Institute Inc, Cary, NC). Statistical significance was defined as $p \leq 0.05$.

Results

All subjects successfully completed the study. They were aged between 21 and 53 years. The frequency of the V162 allele was calculated in all 115 subjects screened and reached 9.6%. The frequency of the rare allele is similar to what has been observed in two other samples of healthy men from the Quebec City area (10.6% and 6.6%, respectively) [5,8].

The subjects' characteristics at the screening are presented in table 1 according to PPAR α L162V genotype. No significant differences were observed between the genotype groups for anthropometric indices and plasma lipoprotein/lipid concentrations. There were no differences in the frequency of the apoE genotype between the two study groups (Fisher's exact test, not shown).

Energy, macro and micronutrient intakes were similar between genotype groups during the protocol as analysed by FFQ (data not shown). As shown in table 2, EPA and DHA were higher after the n-3 PUFA supplementation, as expected. Alcohol consumption decreased after run-in period and remained stable between pre and post n-3 PUFA supplementation periods. No changes were observed with other nutrients.

There were no significant differences in questionnaire-based physical activity throughout the protocol (data not shown). A minor weight loss (0.25 ± 1.10 kg) was observed during the protocol (between pre and post n-3 PUFA supplementation) and there was no significant difference between genotype groups (data not shown).

To test the potential interaction between the PPAR α L162V polymorphism and the n-3 PUFA supplementation on plasma lipoprotein and lipid concentrations, a PROC MIXED procedure was performed. As shown in table 3, independently of the genotype, the n-3 PUFA supplementation was associated with a decreased in fasting triacylglycerol and glucose concentrations as well as DBP and increased plasma apoB100 concentrations. A significant gene-diet interaction effect for plasma CRP levels was also observed. Carriers and non-carriers of the PPAR α L162V polymorphism showed opposite changes, carriers of the *V162* allele exhibited increased CRP values with the n-3 PUFA supplementation while homozygotes of the *L162* allele showed a decreased CRP value with n-3 PUFA supplementation. Since apoE has been shown to influence lipoprotein/lipid metabolism and confers a risk for CVD [4], the results were adjusted for the apoE genotype but remained unchanged (data not shown). Changes in weight, BMI, waist circumference and all other lipid parameters were not significantly different between groups (data not shown).

Discussion

Although fish oil supplements are frequently used as hypotriglyceridemiants, little information is available regarding the interindividual efficiency, in contrast to other lipid-modifying therapies such as fibrates, which are synthetic ligands for PPAR α [24]. In the present study, carriers and non-carriers of the PPAR α L162V polymorphism after n-3 PUFA supplementation demonstrated a triacylglycerol-lowering effect that was comparable for both genotype groups. Independently of the genotype, the n-3 PUFA supplementation also yielded a decrease in fasting glucose concentrations, DBP and an increase in plasma apoB100 concentrations. Additionally, the present study is the first, to our knowledge, to demonstrate potential gene-diet interaction effects on plasma CRP levels with n-3 PUFA within an interventional study design. Carriers of the *V162* allele exhibited increased CRP values with the n-3 PUFA supplementation, while carriers of the *L162* allele showed a decreased in CRP concentrations with n-3 PUFA supplementation.

The effect of n-3 PUFAs on plasma triacylglycerol concentrations is quite well documented [25]. EPA and DHA are long-chain n-3 PUFAs known to improve the plasma lipoprotein/lipid profile mainly by lowering plasma triacylglycerol concentrations [25,26]. n-3 PUFA also have the capacity to bind and activate PPAR α [9,27-29]. In addition, in vitro

experiments have shown that when cells are treated with a PPAR α agonist, the *V162* allele compared with the *L162* allele were activated to a greater extent [10,30]. Fibrates, lower plasma triacylglycerol concentrations by increasing free FA β -oxidation in the liver (reducing very-low density lipoprotein-triacylglycerol production), upregulating the expression of the lipoprotein lipase and downregulating the expression of apoCIII gene [31-34]. A PPAR α polymorphism could alter the regulation of the apoCIII gene and other PPRE-containing genes [24,35]. Moreover, the plasma lipid response to fibrates is influenced by the PPAR α polymorphism [30,36]. Since n-3 PUFAs are natural ligands of PPAR α , we postulated that the PPAR α L162V polymorphism influences the CVD risk response to a n-3 PUFA supplementation. In the present study, the supplementation was associated with a decrease in plasma triacylglycerol concentrations.

However, the extent of the decrease in plasma triacylglycerol concentrations was significant ($p < 0.03$) but comparable for both genotype groups. At this point, we cannot rule out the possibility that the high dose of PPAR α ligand, 5-g/day of fish oil, masked the potential difference of the transactivation activity of the wild-type versus the mutated allele. Different studies support this hypothesis as it was shown that the effect of the PPAR α L162V polymorphism on the transcriptional activation associated with ligand binding to PPAR α depends on the concentration of the ligand to which it is exposed [10,37,38]. A gene-diet interaction effect reported by Tai et al.[6] within the Framingham cohort supported the concept that the effect of the PPAR α L162V polymorphism on plasma triacylglycerol concentrations depends on dietary PUFA. Particularly, when PUFA intake was $< 4\%$, *V162* allele carriers had 28% higher plasma triacylglycerol concentrations than in *L162* homozygotes.

Conversely, when PUFA intake was $> 8\%$, plasma triacylglycerol concentrations in *V162* allele carriers was 4% lower than in *L162* homozygotes. In the present study, the PUFA intake constituted 6.5% of dietary energy intake (including PUFA n-3 supplementation; table 2), which is higher than the Canadian mean PUFA intake for men aged of 35-49 years that is about 5.1% [39].

The fact that subjects of the present study exhibited clinically normal plasma triacylglycerol concentrations before the n-3 PUFA supplementation (1.4 and 1.2 mmol/L) may also partly

explain why we did not observe any differences in the plasma triglyceride response of genotype groups to the n-3 PUFA supplementation. In a meta-analysis, Balk et al. [26] showed, that fish oil dose and baseline triacylglycerol concentrations interact together. Across studies, higher fish oil doses and higher baseline levels were associated with greater reductions in serum triacylglycerol. Consequently, considering the high dose of fish oil (5g/day containing 3g n-3 PUFAs) and normal subject's baseline triacylglycerol concentrations, the decrease of 16 and 17% observed in the present study was of importance comparable to that of other studies [26].

The decrease in triacylglycerolemia produced by n-3 PUFA supplementation was accompanied by a rise in apoB100 in both genotype groups. Results of previous studies with fish oil supplementation have been mixed for apoB100: two studies have found decreases in dyslipidemic subjects [40-41] and two studies demonstrated increases in healthy individuals with CVD risk factors [42-43]. We speculate that the enhanced catabolism of very-low density lipoprotein with n-3 PUFA supplementation may have slightly increased the conversion to intermediate density lipoprotein and LDL, confirmed by the trend of the rise in LDL-C, and this is more apparent in healthier individuals. Yet, emphasis should be placed on the significant benefits on triacylglycerol and glucose concentrations after n-3 PUFA supplementation.

The effect of n-3 PUFA supplementation on inflammation markers has been largely reported in the literature [44-45]. Thus, it is not surprising to observe significant effect on plasma CRP concentrations in the present study. Effectively, long-chain n-3 PUFA act both directly by replacing arachidonic acid as an eicosanoid substrate and inhibiting arachidonic acid metabolism as well as indirectly by altering the expression of inflammatory genes through effects on transcription factor activation. Thus, n-3 PUFAs are potentially potent anti-inflammatory agents [45]. n-3 PUFAs accelerate the catabolism of the neutrophil chemoattractant LTB₄ in granulocytes and macrophages [46-47]. More specifically, the activity of the cyclooxygenase are inhibited by n-3 PUFAs [48], through this mechanism, high intake of PUFAs could reduce inflammatory mediators [49]. In hyperlipidemic patients, fibrates, decrease plasma concentrations of interleukin-6, fibrinogen and CRP [20], interferon- γ and interleukin-2 [50], and soluble adhesion molecules [51-52]. A cross-sectional analyses of data from the Nurses' Health Study found

that CRP was 32% lower in the highest quintile of EPA and DHA intake compared with the lowest quintile [53]. A recent study reported that intakes of oleic acid, linoleic acid, and α -linolenic acid would reduce CRP concentrations in Japanese, especially when the intake of long-chain n-3 PUFAs is moderate, but they did not show a significant relation of EPA and DHA to CRP [54].

However, some intervention trials have not confirmed that n-3 PUFA supplementation decreases CRP, as figured recently in a Danish trial with chronic renal failure patients while other research groups have observed significantly decreased CRP concentrations [55-59]. These discrepancies may be attributable to genetic factors and gene-diet interaction effects as observed in this study with PPAR α . Since the CRP gene has a PPRE, carriers and non-carriers of the PPAR α L162V polymorphism may have divergent CRP concentration responsiveness to a supplementation of n-3 PUFA. Accordingly, results of the present study suggest that carriers of the PPAR α L162V polymorphism may benefit less of an n-3 PUFA supplementation since this intervention is associated with an increase in plasma CRP concentrations in this subgroup. Knowing that epidemiologic studies suggest that low-grade CRP elevations are independently associated with coronary risk [60], this latter observation warrants further investigation in larger study cohorts together with functional studies to elucidate the mechanism underlying this gene-diet interaction effect.

This nutritional intervention study suggests that n-3 PUFA supplementation reduces plasma triacylglycerol concentrations. However, the divergent plasma CRP response of carriers and noncarriers of the PPAR α L162V polymorphism clearly merits further investigations before making nutritional recommendations on n-3 PUFA supplementation in the general population.

Acknowledgements

We express our gratitude to the subjects for their excellent collaboration. We thank Claire Julien and Danielle Aubin for nursing assistance and Alain Houde for contributing to the laboratory work.

This study was supported by a grant from Canadian Institutes of Health Research and Nutraceuticals and Functional Foods Institutes.

References

1. Lewis A, Lookinland S, Beckstrand RL, Tiedeman ME: Treatment of hypertriglyceridemia with omega-3 fatty acids: a systematic review. *J Am Acad Nurse Pract* 2004; 16:384-395.
2. Hopkins PN. Effects of dietary cholesterol on serum cholesterol: a meta-analysis and review. *Am J Clin Nutr* 1992; 55: 1060-1070.
3. Masson LF, McNeill G. The effect of genetic variation on the lipid response to dietary change: recent findings. *Curr Opin Lipidol* 2005; 16: 61-67.
4. Davignon J, Cohn JS, Mabile L, Bernier L : Apolipoprotein E and atherosclerosis : insight from animal and human studies. *Clin Chim Acta* 1999;286 :115-143.
5. Paradis AM, Fontaine-Bisson B, Bosse Y *et al.* The peroxisome proliferator-activated receptor alpha Leu162Val polymorphism influences the metabolic response to a dietary intervention altering fatty acid proportions in healthy men. *Am J Clin Nutr* 2005; 81: 523-530.
6. Tai ES, Corella D, Demissie S, Cupples LA, Coltell O, Schaefer EJ, Tucker KL, Ordovas JM: Framingham heart study: polyunsaturated fatty acids interact with the PPAR A- L162V polymorphism to affect plasma triglyceride and apolipoprotein C-III concentrations in the Framingham Heart Study. *J Nutr* 2005; 135:397-403.
7. Uthurrault J, Gordish-Dressman H, Bradbury M, Tesi-Rocha C, Devaney J, Harmon B, Reeves EK, Brandoli C, Hansen BC, Seip RL, Thompson PD, Price TB, Angelopoulos TJ, Clarkson PM, Moyna NM, Pescatello LS, Visich PS, Zoeller RF, Gordon PM, Hoffman EP : PPARalpha L162V underlies variation in serum triglycerides and subcutaneous fat volume in young males. *BMC Med Genet* 2007 :16 :55.
8. Vohl MC, Lepage P, Gaudet D *et al.* Molecular scanning of the human PPARa gene: association of the L162v mutation with hyperapobetalipoproteinemia. *J Lipid Res* 2000; 41: 945-952.
9. Sampath H, Ntambi JM. Polyunsaturated fatty acid regulation of genes of lipid metabolism. *Annu Rev Nutr* 2005; 25: 317-340.
10. Sapone A, Peters JM, Sakai S *et al.* The human peroxisome proliferator-activated receptor alpha gene: identification and functional characterization of two natural allelic variants. *Pharmacogenetics* 2000; 10: 321-333.
11. 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: 2486-2497.
12. Goulet J, Nadeau G, Lapointe A, Lamarche B, Lemieux S. Validity and reproducibility of an interviewer-administered food frequency questionnaire for healthy French-Canadian men and women. *Nutr J* 2004; 3: 13.
13. Taylor HL, Jacobs DR, Jr., Schucker B, Knudsen J, Leon AS, Debacker G. A questionnaire for the assessment of leisure time physical activities. *J Chronic Dis* 1978; 31: 741-755.
14. Callaway CW CWBC. Standardization of anthropometric measurements. The Airlie (VA) Consensus Conference. Champaign, IL, Human Kinetics Publishers. 1988: 39-80.
15. McNamara JR, Schaefer EJ. Automated enzymatic standardized lipid analyses for plasma and lipoprotein fractions. *Clin Chim Acta* 1987; 166: 1-8.
16. Burstein M, Samaille J. On a rapid determination of the cholesterol bound to the serum alpha- and beta-lipoproteins. *Clin Chim Acta* 1960; 5: 609.

17. Albers JJ, Warnick GR, Wiebe D *et al.* Multi-laboratory comparison of three heparin-Mn²⁺ precipitation procedures for estimating cholesterol in high-density lipoprotein. *Clin Chem* 1978; 24: 853-856.
18. Friedewald WT, Levy RI, Fredrickson DS. Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge. *Clin Chem* 1972; 18: 499-502.
19. Laurell CB. Quantitative estimation of proteins by electrophoresis in agarose gel containing antibodies. *Anal Biochem* 1966; 15: 45-52.
20. Pirro M, Bergeron J, Dagenais GR *et al.* Age and duration of follow-up as modulators of the risk for ischemic heart disease associated with high plasma C-reactive protein levels in men. *Arch Intern Med* 2001; 161: 2474-2480.
21. Desbuquois B, Aurbach GD: Use of polyethylene glycol to separate free and antibodybound peptide hormones in radioimmunoassays. *J Clin Endocrinol Metab* 1971;33:732-738.
22. Richterich R, Dauwalder H: Determination of plasma glucos by hexokinase-glucose-6-phosphate dehydrogenase method. *Schweiz Med Wochenschr* 1971; 101: 615-618.
23. Hixson JE, Vernier DT. Restriction isotyping of human apolipoprotein E by gene amplification and cleavage with HhaI. *J Lipid Res* 1990; 31: 545-548.
24. Staels B, Dallongeville J, Auwerx J, Schoonjans K, Leitersdorf E, Fruchart JC. Mechanism of action of fibrates on lipid and lipoprotein metabolism. *Circulation* 1998; 98: 2088-2093.
25. Balk EM, Horsley TA, Newberry SJ *et al.* A collaborative effort to apply the evidence-based review process to the field of nutrition: challenges, benefits, and lessons learned. *Am J Clin Nutr* 2007; 85: 1448-1456.
26. Balk EM, Lichtenstein AH, Chung M, Kupelnick B, Chew P, Lau J. Effects of omega-3 fatty acids on serum markers of cardiovascular disease risk: a systematic review. *Atherosclerosis* 2006; 189: 19-30.
27. Jump DB. Dietary polyunsaturated fatty acids and regulation of gene transcription. *Curr Opin Lipidol* 2002; 13: 155-164.
28. Willson TM, Brown PJ, Sternbach DD, Henke BR. The PPARs: from orphan receptors to drug discovery. *J Med Chem* 2000; 43: 527-550.
29. Sampath H, Ntambi JM. Polyunsaturated fatty acid regulation of gene expression. *Nutr Rev* 2004; 62: 333-339.
30. Flavell DM, Pineda T, I, Jamshidi Y *et al.* Variation in the PPARalpha gene is associated with altered function in vitro and plasma lipid concentrations in Type II diabetic subjects. *Diabetologia* 2000; 43: 673-680.
31. Schoonjans K, Peinado-Onsurbe J, Lefebvre AM *et al.* PPARalpha and PPARgamma activators direct a distinct tissue-specific transcriptional response via a PPRE in the lipoprotein lipase gene. *EMBO J* 1996; 15: 5336-5348.
32. Vu-Dac N, Gervois P, Jakel H *et al.* Apolipoprotein A5, a crucial determinant of plasma triglyceride levels, is highly responsive to peroxisome proliferator-activated receptor alpha activators. *J Biol Chem* 2003; 278: 17982-17985.
33. Staels B, Vu-Dac N, Kosykh VA *et al.* Fibrates downregulate apolipoprotein C-III expression independent of induction of peroxisomal acyl coenzyme A oxidase. A potential mechanism for the hypolipidemic action of fibrates. *J Clin Invest* 1995; 95: 705-712.
34. Fruchart JC, Duriez P. Mode of action of fibrates in the regulation of triglyceride and HDL-cholesterol metabolism. *Drugs Today (Barc)* 2006; 42: 39-64.
35. Gervois P, Torra IP, Fruchart JC, Staels B. Regulation of lipid and lipoprotein metabolism by PPAR activators. *Clin Chem Lab Med* 2000; 38: 3-11.

36. Bosse Y, Pascot A, Dumont M *et al.* Influences of the PPAR alpha-L162V polymorphism on plasma HDL(2)-cholesterol response of abdominally obese men treated with gemfibrozil. *Genet Med* 2002; 4: 311-315.
37. Fruchart JC, Duriez P, Staels B. Peroxisome proliferator-activated receptor-alpha activators regulate genes governing lipoprotein metabolism, vascular inflammation and atherosclerosis. *Curr Opin Lipidol* 1999; 10: 245-257.
38. Sessler AM, Ntambi JM. Polyunsaturated fatty acid regulation of gene expression. *J Nutr* 1998; 128: 923-926.
39. Gray-Donald K, Jacobs-Starkey L, Johnson-Down L. Food habits of Canadians: reduction in fat intake over a generation. *Can J Public Health* 2000;91: 381-385.
40. Delany JP, Vivian VM, Snook JT, Anderson PA; Effects of fish oil on serum lipids in men during a controlled feeding trial. *Am J of Clin Nutr* 1990;52:477-485.
41. Silva JM, Souza I, Silva R, Tavares P, Teixeira F, Silva PS: The triglyceride lowering effect of fish oils is affected by fish consumption. *Int J Cardiol* 1996;57:75-80.
42. Brox J, Olaussen K, Osterud B, Elvevoll EO, Bjornstad E, Brattebog G, Iversen H : A long term seal- and cod-liver-oil supplementation in hypercholesterolemic subjects. *Lipids* 2001;36 :7-13.
43. Eritsland J, Arnesen H, Seljeflot I, Hostmark AT : Long-term metabolic effects of n-3 polyunsaturated fatty acids in patients with coronary artery disease. *Am J Clin Nutr* 1995; 61 :831-836.
44. Mori TA, Beilin LJ. Omega-3 fatty acids and inflammation. *Curr Atheroscler Rep* 2004; 6: 461-467.
45. Calder PC. n-3 polyunsaturated fatty acids, inflammation, and inflammatory diseases. *Am J Clin Nutr* 2006; 83: 1505S-1519S.
46. Couve AO, Koenig C, Santos MJ. Induction of peroxisomal enzymes and a 64-kDa peptide in cultured mouse macrophages treated with clofibrate. *Exp Cell Res* 1992; 202: 541-544.
47. von Schacky C. The role of omega-3 fatty acids in cardiovascular disease. *Curr Atheroscler Rep* 2003; 5: 139-145.
48. Ringbom T, Huss U, Stenholm A *et al.* Cox-2 inhibitory effects of naturally occurring and modified fatty acids. *J Nat Prod* 2001; 64: 745-749.
49. Pischon T, Hankinson SE, Hotamisligil GS, Rifai N, Willett WC, Rimm EB. Habitual dietary intake of n-3 and n-6 fatty acids in relation to inflammatory markers among US men and women. *Circulation* 2003; 108: 155-160.
50. Okopien B, Krysiak R, Kowalski J *et al.* The effect of statins and fibrates on interferon-gamma and interleukin-2 release in patients with primary type II dyslipidemia. *Atherosclerosis* 2004; 176: 327-335.
51. Empen K, Frost RJ, Geiss HC, Otto C, Parhofer KG. Differential effects of fenofibrate versus atorvastatin on the concentrations of E-selectin and vascular cellular adhesion molecule-1 in patients with type 2 diabetes mellitus and mixed hyperlipoproteinemia: a randomized cross-over trial. *Cardiovasc Diabetol* 2003; 2: 17.
52. Okapcova J, Gabor D. The levels of soluble adhesion molecules in diabetic and nondiabetic patients with combined hyperlipoproteinemia and the effect of ciprofibrate therapy. *Angiology* 2004; 55: 629-639.
53. Lopez-Garcia E, Schulze MB, Manson JE *et al.* Consumption of (n-3) fatty acids is related to plasma biomarkers of inflammation and endothelial activation in women. *J Nutr* 2004; 134: 1806-1811.
54. Yoneyama S, Miura K, Sasaki S *et al.* Dietary intake of fatty acids and serum C-reactive protein in Japanese. *J Epidemiol* 2007; 17: 86-92.
55. Madsen T, Schmidt EB, Christensen JH. The effect of n-3 fatty acids on C-reactive protein levels in patients with chronic renal failure. *J Ren Nutr* 2007; 17: 258-263.

56. Geelen A, Brouwer IA, Schouten EG, Klufft C, Katan MB, Zock PL. Intake of n-3 fatty acids from fish does not lower serum concentrations of C-reactive protein in healthy subjects. *Eur J Clin Nutr* 2004; 58: 1440-1442.
57. Vega-Lopez S, Kaul N, Devaraj S, Cai RY, German B, Jialal I. Supplementation with omega3 polyunsaturated fatty acids and all-rac alpha-tocopherol alone and in combination failed to exert an anti-inflammatory effect in human volunteers. *Metabolism* 2004; 53: 236-240.
58. Browning LM, Krebs JD, Moore CS, Mishra GD, O'Connell MA, Jebb SA. The impact of long chain n-3 polyunsaturated fatty acid supplementation on inflammation, insulin sensitivity and CVD risk in a group of overweight women with an inflammatory phenotype. *Diabetes Obes Metab* 2007; 9: 70-80.
59. Basu A, Devaraj S, Jialal I. Dietary factors that promote or retard inflammation. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2006; 26: 995-1001.
60. Gotto AM, Jr. Role of C-reactive protein in coronary risk reduction: focus on primary prevention. *Am J Cardiol* 2007; 99: 718-725.

Table 1

Subject's characteristics before n-3 PUFA supplementation according to the PPAR α L162V polymorphism matched for age and BMI

Variables	L162 homozygotes (n = 14)	V162 carriers (n = 14) ^a	p
Age, years	39.1 \pm 11.4	39.1 \pm 11.3	0.99
Weight, kg	86.6 \pm 17.6	79.9 \pm 7.4	0.24
BMI	26.5 \pm 3.2	25.7 \pm 2.8	0.48
Waist circumference, cm	97.4 \pm 13.1	92.4 \pm 6.6	0.24
Fasting glucose, mM	5.1 \pm 0.4	5.3 \pm 0.3	0.09
Fasting insulin, pM	67.6 \pm 38.0	52.2 \pm 14.2	0.32
Cholesterol, mM			
Total	4.9 \pm 1.2	4.6 \pm 1.0	0.44
HDL	1.0 \pm 0.3	1.1 \pm 0.3	0.63
LDL	3.2 \pm 1.1	2.9 \pm 0.9	0.45
Total chol./HDL ratio	5.0 \pm 1.8	4.1 \pm 1.8	0.18
Triacylglycerols, mM	1.4 \pm 0.8	1.2 \pm 0.7	0.49
ApoB100, g/l	1.1 \pm 0.3	1.0 \pm 0.3	0.37
CRP, mg/l ^b	2.7 \pm 4.4	1.0 \pm 1.1	0.28
SBP, mm Hg	113 \pm 10	109 \pm 10	0.36
DBP, mm Hg	73 \pm 6	72 \pm 7	0.89

Figures are expressed as mean \pm SD. p value derived from log-transformed data.

^a Thirteen L162/V162 heterozygotes and 1 V162 homozygote.

^b p value derived from log₁₀-transformed data.

Table 2

Daily energy and nutrient intake from food frequency questionnaire (28 subjects)

Nutrients	Run-in	Pre-n-3 PUFAs	Post-n-3 PUFAs	p
Energy, kcal	2,855 \pm 645	2,695 \pm 772	2,578 \pm 703	0.35
Lipids, %E	34.3 \pm 4.6	33.9 \pm 4.6	34.4 \pm 5.4	0.94
SFA, %E	11.4 \pm 2.8	11.5 \pm 1.9	11.4 \pm 2.2	0.96
PUFA, %E	6.1 \pm 1.9	5.9 \pm 2.0	6.5 \pm 1.9	0.49
C18:2, %E	5.2 \pm 1.8	4.97 \pm 1.9	4.6 \pm 1.7	0.37
C20:4, %E	0.07 \pm 0.02	0.07 \pm 0.02	0.07 \pm 0.02	0.90
C18:3, %E	0.67 \pm 0.2	0.71 \pm 0.2	0.61 \pm 0.2	0.08
EPA, mg	108 \pm 76 ^a	88 \pm 72 ^a	1,944 \pm 105 ^b	<0.0001
DHA, mg	217 \pm 132 ^a	178 \pm 127 ^a	1,159 \pm 108 ^b	<0.0001
MUFA, %E	14.1 \pm 2.2	13.8 \pm 2.2	13.7 \pm 2.5	0.76
TFA, %E	1.5 \pm 0.5	1.4 \pm 0.4	1.3 \pm 0.4	0.42
Cholesterol, mg	388 \pm 130	382 \pm 124	353 \pm 119	0.45
Carbohydrates, %E	47.6 \pm 6.2	48.9 \pm 5.1	48.8 \pm 6.0	0.63
Proteins, %E	17.4 \pm 2.6	17.7 \pm 2.3	17.7 \pm 2.5	0.86
Alcohol, %E	2.6 \pm 2.5 ^a	1.5 \pm 1.3 ^{a,b}	1.1 \pm 1.2 ^b	0.03
Total dietary fiber, g	27.4 \pm 9.4	26.4 \pm 9.9	26.0 \pm 10.5	0.86

All values are mean \pm SD. SFA = Saturated fatty acids; C18:2 = linoleic acid; C20:4 = arachidonic acid; C18:3 = α -linolenic acid; MUFA = monounsaturated fatty acids; TFA = trans fatty acids. Means in the same row with different superscripts are significantly different, p < 0.05 (Tukey's test for pairwise comparisons between the 3 phases). The values adjusted for energy do not change.

p value for the dietary intake difference between each phase by repeated-measures analysis of variance (GLM).

Table 3

Metabolic variable pre- and post-6-week n-3 PUFA supplementation according to the PPAR α L162V polymorphism (28 subjects, 13 L162/V162 heterozygotes and 1 V162 homozygote)

	L162 homozygotes		V162 carriers		p ^a		
	pre-n-3 PUFAs	post-n-3 PUFAs	pre-n-3 PUFAs	post-n-3 PUFAs	genotype	suppl.	interaction
Cholesterol, mM							
Total	4.92 \pm 1.2	4.84 \pm 1.2	4.61 \pm 1.0	4.73 \pm 1.0	0.59	0.76	0.19
LDL	3.23 \pm 1.1	3.27 \pm 1.0	2.95 \pm 0.9	3.13 \pm 0.8	0.56	0.10	0.29
HDL	1.05 \pm 0.3	1.04 \pm 0.2	1.10 \pm 0.3	1.13 \pm 0.3	0.50	0.59	0.33
Triacylglycerols, mM	1.41 \pm 0.8	1.17 \pm 0.6	1.22 \pm 0.7	1.02 \pm 0.6	0.46	0.03	0.83
ApoB100, g/l	1.06 \pm 0.3	1.09 \pm 0.3	0.96 \pm 0.3	1.06 \pm 0.3	0.56	0.03	0.18
Total chol./HDL ratio	5.05 \pm 1.8	4.90 \pm 1.6	4.11 \pm 1.8	4.45 \pm 1.4	0.25	0.67	0.30
Fasting insulin, pM	67.6 \pm 38	64.1 \pm 40	52.2 \pm 14	62.6 \pm 30	0.44	0.53	0.22
Fasting glucose, mM	5.09 \pm 0.4	4.93 \pm 0.4	5.33 \pm 0.3	5.08 \pm 0.4	0.11	0.01	0.54
CRP, mg/l ^b	2.73 \pm 4.4	1.24 \pm 1.3	0.99 \pm 1.1	1.72 \pm 2.0	0.95	0.45	<0.01
SBP, mm Hg	113 \pm 10	109 \pm 8	109 \pm 10	108 \pm 11	0.57	0.16	0.36
DBP, mm Hg	73 \pm 6	71 \pm 5	72 \pm 7	69 \pm 7	0.49	0.03	0.28

Figures are expressed as mean \pm SD. PPAR is for the effect of the genotype on parameters, suppl. is the effect of the n-3 supplementation on parameters, interaction is the interaction effect of the supplementation (n-3 PUFA) with the genotype (PPAR) on parameters.

^a GLM. The values adjusted for apoE do not change. ^b p value derived from log-transformed data.

Chapitre 4. Discussion générale et conclusion

Nous sommes dans une ère où les soins de santé coûtent de plus en plus cher, les méthodes diagnostiques et les techniques médicales sont plus avancées, nous sommes mieux soignés que jamais; ce qui permet aux gens de vivre plus vieux et habituellement mieux. Les investissements financiers de notre système de santé sont par contre principalement concentrés sur les soins de deuxième ligne, le curatif, soit quand le bobo est déjà en place, et moins au niveau préventif.

La nutrition, un domaine scientifique en constante évolution, permet d'améliorer la santé des gens aux deux niveaux et souvent à moindre coût, c'est le cas par exemple pour la santé cardiovasculaire. Un changement de comportement alimentaire comme augmenter sa consommation de poissons gras par semaine ou d'aliments riches en acides gras n-3 pour atteindre entre 1 et 5 g par jour pendant au moins six semaines est suffisant pour observer des effets positifs sur les niveaux de lipides sanguins [87].

Cependant, tel qu'expliqué précédemment, il existe souvent une grande variabilité interindividuelle quant à la réponse métabolique suite à des changements alimentaires et ce fut démontré par l'intervention nutritionnelle de ce projet de recherche et de nombreuses autres études dans la littérature. Nous nous attendions à ce que les sujets ne répondent pas tous de la même façon à la supplémentation en acides gras n-3. En fait, nous pensions que l'amélioration du profil lipidique serait plus visible chez les porteurs de l'allèle V162, mais il s'est avéré que les deux groupes génotypiques ont répondu en abaissant leur taux de TG, de façon comparable entre 16 et 17 %. La variabilité de la réponse à la supplémentation a plutôt été observée pour les taux de CRP, un indicateur du niveau de l'inflammation biochimique.

Un apport important en acides gras n-3 peut effectivement réduire les facteurs inflammatoires en diminuant l'activité de la cyclooxygénase et en altérant le métabolisme de l'acide arachidonique qui inhibe indirectement l'expression des gènes responsables de la réponse inflammatoire via l'effet d'activation du facteur de transcription [88-90]. Cette intervention suggère par contre que les sujets porteurs de la mutation PPAR α L162V pourraient ne pas tirer profit d'une supplémentation en acides gras n-3, cela ayant eu pour

effet d'augmenter la concentration de la CRP plasmatique, et des études épidémiologiques démontrent que même une faible augmentation du taux de CRP est associée au risque coronarien [91]. Cette observation mérite d'être approfondie chez un plus grand nombre de sujets afin de répliquer les résultats et d'intégrer le tout dans un contexte clinique à large échelle.

À ce jour, les effets bénéfiques ou moins efficaces des acides gras polyinsaturés n-3, et plus particulièrement EPA et DHA sur la santé cardiovasculaire notamment, ont été largement étudiés. Cependant, il n'existe aucun apport nutritionnel de référence officiel malgré plusieurs recommandations alimentaires sur ces acides gras énoncées par des autorités internationales et groupes d'experts. Il appert que plus d'informations soient nécessaires en lien avec les maladies chroniques, le genre et l'ethnie afin de généraliser des recommandations populationnelles [31, 92]. Il est à supposer que l'effet de la variabilité interindividuelle limite la mise en place de telles recommandations actuellement. Les variations génétiques qui affectent l'absorption, la distribution, le métabolisme et l'élimination d'éléments bioactifs peuvent aider à expliquer quelques incohérences dans les études chez des populations qui relient l'alimentation et des pathologies.

L'information génétique personnalisée semble de plus en plus accessible au grand public par des tests basés sur l'ADN plutôt onéreux. Plusieurs compagnies, souvent par le Web et sans l'implication de professionnels de la santé, font déjà la promotion de l'alimentation personnalisée et proposent des conseils sur le mode de vie en fonction de ces tests génétiques. Ces tests personnalisés informeraient les patients de leur patrimoine génétique, leur habilité à métaboliser les nutriments et les médicaments et leur risque de développer certaines maladies [93].

Évidemment, ces méthodes ne font pas l'unanimité dans la communauté scientifique et médicale et pour cause, la prédiction des risques ne serait pas fiable dans le temps puisque plusieurs variations génétiques importantes sont encore régulièrement découvertes. Il serait donc prématuré de généraliser sur les risques de développer des maladies chez une personne [94, 95]. De plus, les facteurs environnementaux comme l'alimentation, l'activité physique et le tabagisme ne sont pas pris en compte dans l'évaluation du risque alors qu'ils ont une grande influence. Il ne faut pas oublier le facteur

psychologique d'un tel diagnostic et le l'anxiété que cela peut créer chez certains de savoir qu'ils sont susceptibles de développer une maladie selon leur bagage génétique. Les patients pourraient aussi exiger des interventions médicales non nécessaires [96].

D'un autre point de vue, l'intérêt public envers ce genre d'information est bien présent et une information aussi « pointue » sur soi pourrait motiver un bon nombre de patients à changer leurs habitudes de vie [97, 98]. Un sondage récent fait auprès des lecteurs du journal scientifique *Nature* montre que 27 % des répondants ayant fait analyser leur génome avaient changé leur alimentation et plusieurs habitudes de vie, suggérant que les informations génétiques peuvent avoir un effet très important sur le changement de comportement [99]. Une récente étude d'intervention en groupe a démontré que seulement 9 % des participants se sentaient inconfortables d'en connaître plus sur leur patrimoine génétique et la plupart des participants remarquaient que des recommandations alimentaires individualisées par rapport à leur génétique étaient plus pratiques et mieux compréhensibles que des recommandations alimentaires générales [99].

La compréhension des sciences de la nutrigenomique et de la nutrigénétique, la nutrition personnalisée, de la part des professionnels de la santé dont les nutritionnistes, demeure déterminante pour assurer un suivi de qualité à mesure que les connaissances s'approfondiront et que l'industrie proposera des aliments fonctionnels présentant une valeur ajoutée bénéfique à la santé au delà des besoins nutritionnels de base. Le tout pour optimiser la santé des individus.

Bibliographie

1. Caron-Dorval, D., et al., *Effect of the PPAR-Alpha L162V polymorphism on the cardiovascular disease risk factor in response to n-3 polyunsaturated fatty acids*. J Nutrigenet Nutrigenomics, 2008. **1**(4): p. 205-12.
2. Beynen, A.C., M.B. Katan, and L.F. Van Zutphen, *Hypo- and hyperresponders: individual differences in the response of serum cholesterol concentration to changes in diet*. Adv Lipid Res, 1987. **22**: p. 115-71.
3. Hopkins, P.N., *Effects of dietary cholesterol on serum cholesterol: a meta-analysis and review*. Am J Clin Nutr, 1992. **55**(6): p. 1060-70.
4. Cater, N.B. and A. Garg, *Serum low-density lipoprotein cholesterol response to modification of saturated fat intake: recent insights*. Curr Opin Lipidol, 1997. **8**(6): p. 332-6.
5. Jacobs, D.R., Jr., et al., *Variability in individual serum cholesterol response to change in diet*. Arteriosclerosis, 1983. **3**(4): p. 349-56.
6. Dreon, D.M. and R.M. Krauss, *Diet-gene interactions in human lipoprotein metabolism*. J Am Coll Nutr, 1997. **16**(4): p. 313-24.
7. Masson, L.F. and G. McNeill, *The effect of genetic variation on the lipid response to dietary change: recent findings*. Curr Opin Lipidol, 2005. **16**(1): p. 61-7.
8. Ordovas, J.M. and D. Corella, *Nutritional genomics*. Annu Rev Genomics Hum Genet, 2004. **5**: p. 71-118.
9. Montréal, A.d.l.s.e.d.s.s.d. *La prévention et la gestion des maladies chroniques : une priorité pour le réseau montréalais*. Septembre 2012 [cited 2014; Available from: http://publications.santemontreal.qc.ca/uploads/tx_asssmpublications/978-2-89673-227-2.pdf].
10. Fenech, M., et al., *Nutrigenetics and nutrigenomics: viewpoints on the current status and applications in nutrition research and practice*. J Nutrigenet Nutrigenomics, 2011. **4**(2): p. 69-89.
11. Stover, P.J. and M.A. Caudill, *Genetic and epigenetic contributions to human nutrition and health: managing genome-diet interactions*. J Am Diet Assoc, 2008. **108**(9): p. 1480-7.
12. Cargill, M., et al., *Characterization of single-nucleotide polymorphisms in coding regions of human genes*. Nat Genet, 1999. **22**(3): p. 231-8.
13. Cormier, H., *La nutriginomique à l'ère de la génomique*. NUTRITION-science en évolution, 2013. **11**: p. 14-17.
14. Frayling, T.M., et al., *A common variant in the FTO gene is associated with body mass index and predisposes to childhood and adult obesity*. Science, 2007. **316**(5826): p. 889-94.
15. Stover, P.J. and C. Garza, *Bringing individuality to public health recommendations*. J Nutr, 2002. **132**(8 Suppl): p. 2476S-2480S.
16. Stover, P.J., *Influence of human genetic variation on nutritional requirements*. Am J Clin Nutr, 2006. **83**(2): p. 436S-442S.
17. Robitaille, J., et al., *Does the MTHFR 677C-->T variant affect the Recommended Dietary Allowance for folate in the US population?* Am J Clin Nutr, 2009. **89**(4): p. 1269-73.
18. Ordovas, J.M., et al., *Gene-diet interaction in determining plasma lipid response to dietary intervention*. Atherosclerosis, 1995. **118** Suppl: p. S11-27.
19. Havel, R.J., *Biology of cholesterol, lipoproteins and atherosclerosis*. Clin Exp Hypertens A, 1989. **11**(5-6): p. 887-900.
20. Eichner, J.E., et al., *Apolipoprotein E polymorphism and cardiovascular disease: a HuGE review*. Am J Epidemiol, 2002. **155**(6): p. 487-95.
21. Sarkinen, E., et al., *Effect of apolipoprotein E polymorphism on serum lipid response to the separate modification of dietary fat and dietary cholesterol*. Am J Clin Nutr, 1998. **68**(6): p. 1215-22.
22. Davignon, J., R.E. Gregg, and C.F. Sing, *Apolipoprotein E polymorphism and atherosclerosis*. Arteriosclerosis, 1988. **8**(1): p. 1-21.
23. Wilson, P.W., et al., *Apolipoprotein E alleles and risk of coronary disease. A meta-analysis*. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 1996. **16**(10): p. 1250-5.

24. Minihane, A.M., et al., *ApoE polymorphism and fish oil supplementation in subjects with an atherogenic lipoprotein phenotype*. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2000. **20**(8): p. 1990-7.
25. Schoonjans, K., B. Staels, and J. Auwerx, *The peroxisome proliferator activated receptors (PPARs) and their effects on lipid metabolism and adipocyte differentiation*. *Biochim Biophys Acta*, 1996. **1302**(2): p. 93-109.
26. Braissant, O., et al., *Differential expression of peroxisome proliferator-activated receptors (PPARs): tissue distribution of PPAR-alpha, -beta, and -gamma in the adult rat*. *Endocrinology*, 1996. **137**(1): p. 354-66.
27. Sampath, H. and J.M. Ntambi, *Polyunsaturated fatty acid regulation of genes of lipid metabolism*. *Annu Rev Nutr*, 2005. **25**: p. 317-40.
28. Xu, H.E., et al., *Molecular recognition of fatty acids by peroxisome proliferator-activated receptors*. *Mol Cell*, 1999. **3**(3): p. 397-403.
29. Berger, J. and D.E. Moller, *The mechanisms of action of PPARs*. *Annu Rev Med*, 2002. **53**: p. 409-35.
30. Vohl, M.C., et al., *Molecular scanning of the human PPARalpha gene: association of the L162v mutation with hyperapobetalipoproteinemia*. *J Lipid Res*, 2000. **41**(6): p. 945-52.
31. Contreras, A.V., N. Torres, and A.R. Tovar, *PPAR-alpha as a key nutritional and environmental sensor for metabolic adaptation*. *Adv Nutr*, 2013. **4**(4): p. 439-52.
32. Bosse, Y., et al., *The peroxisome proliferator-activated receptor alpha L162V mutation is associated with reduced adiposity*. *Obes Res*, 2003. **11**(7): p. 809-16.
33. Robitaille, J., et al., *Association between the PPARalpha-L162V polymorphism and components of the metabolic syndrome*. *J Hum Genet*, 2004. **49**(9): p. 482-9.
34. Flavell, D.M., et al., *Variation in the PPARalpha gene is associated with altered function in vitro and plasma lipid concentrations in Type II diabetic subjects*. *Diabetologia*, 2000. **43**(5): p. 673-80.
35. Lacquemant, C., et al., *Mutation screening of the PPARalpha gene in type 2 diabetes associated with coronary heart disease*. *Diabetes Metab*, 2000. **26**(5): p. 393-401.
36. Rudkowska, I., et al., *PPARalpha L162V polymorphism alters the potential of n-3 fatty acids to increase lipoprotein lipase activity*. *Mol Nutr Food Res*, 2010. **54**(4): p. 543-50.
37. Paradis, A.M., et al., *The peroxisome proliferator-activated receptor alpha Leu162Val polymorphism influences the metabolic response to a dietary intervention altering fatty acid proportions in healthy men*. *Am J Clin Nutr*, 2005. **81**(2): p. 523-30.
38. Fruchart, J.C., P. Duriez, and B. Staels, *Peroxisome proliferator-activated receptor-alpha activators regulate genes governing lipoprotein metabolism, vascular inflammation and atherosclerosis*. *Curr Opin Lipidol*, 1999. **10**(3): p. 245-57.
39. Sessler, A.M. and J.M. Ntambi, *Polyunsaturated fatty acid regulation of gene expression*. *J Nutr*, 1998. **128**(6): p. 923-6.
40. Sapone, A., et al., *The human peroxisome proliferator-activated receptor alpha gene: identification and functional characterization of two natural allelic variants*. *Pharmacogenetics*, 2000. **10**(4): p. 321-33.
41. Tai, E.S., et al., *Polyunsaturated fatty acids interact with the PPARA-L162V polymorphism to affect plasma triglyceride and apolipoprotein C-III concentrations in the Framingham Heart Study*. *J Nutr*, 2005. **135**(3): p. 397-403.
42. Zheng, X., et al., *The effects of chylomicron remnants enriched in n-3 or n-6 polyunsaturated fatty acids on the transcription of genes regulating their uptake and metabolism by the liver: influence of cellular oxidative state*. *Free Radic Biol Med*, 2002. **32**(11): p. 1123-31.
43. Clarke, S.D., *Polyunsaturated fatty acid regulation of gene transcription: a molecular mechanism to improve the metabolic syndrome*. *J Nutr*, 2001. **131**(4): p. 1129-32.
44. Eleanor Noss Whitney, C.B.C., Sharon Rady Rolfes, in *Understanding Normal and Clinical Nutrition*, T. Learning, Editor. 2002, Wadsworth. p. 129-166.
45. Surette, M.E., *The science behind dietary omega-3 fatty acids*. *CMAJ*, 2008. **178**(2): p. 177-80.

46. Kris-Etherton, P.M., et al., *Fish consumption, fish oil, omega-3 fatty acids, and cardiovascular disease*. *Circulation*, 2002. **106**(21): p. 2747-57.
47. *Fichier canadien sur les éléments nutritifs*. 2010 [cited 2014; Available from: <http://www.hc-sc.gc.ca/fn-an/nutrition/fiche-nutri-data/index-fra.php>.
48. de Lorgeril, M. and P. Salen, *Alpha-linolenic acid and coronary heart disease*. *Nutr Metab Cardiovasc Dis*, 2004. **14**(3): p. 162-9.
49. Burdge, G.C., et al., *Effect of altered dietary n-3 fatty acid intake upon plasma lipid fatty acid composition, conversion of [13C]alpha-linolenic acid to longer-chain fatty acids and partitioning towards beta-oxidation in older men*. *Br J Nutr*, 2003. **90**(2): p. 311-21.
50. Brenna, J.T., *Efficiency of conversion of alpha-linolenic acid to long chain n-3 fatty acids in man*. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*, 2002. **5**(2): p. 127-32.
51. Innis, S.M., *Polyunsaturated fatty acids in human milk: an essential role in infant development*. *Adv Exp Med Biol*, 2004. **554**: p. 27-43.
52. Calder, P.C., *Omega-3 polyunsaturated fatty acids and inflammatory processes: nutrition or pharmacology?* *Br J Clin Pharmacol*, 2013. **75**(3): p. 645-62.
53. Dyerberg, J., H.O. Bang, and N. Hjerne, *Fatty acid composition of the plasma lipids in Greenland Eskimos*. *Am J Clin Nutr*, 1975. **28**(9): p. 958-66.
54. Hu, F.B., et al., *Fish and omega-3 fatty acid intake and risk of coronary heart disease in women*. *JAMA*, 2002. **287**(14): p. 1815-21.
55. Erkkila, A.T., et al., *Fish intake is associated with a reduced progression of coronary artery atherosclerosis in postmenopausal women with coronary artery disease*. *Am J Clin Nutr*, 2004. **80**(3): p. 626-32.
56. Din, J.N., D.E. Newby, and A.D. Flapan, *Omega 3 fatty acids and cardiovascular disease--fishing for a natural treatment*. *BMJ*, 2004. **328**(7430): p. 30-5.
57. Holub, D.J. and B.J. Holub, *Omega-3 fatty acids from fish oils and cardiovascular disease*. *Mol Cell Biochem*, 2004. **263**(1-2): p. 217-25.
58. Burr, M.L., et al., *Effects of changes in fat, fish, and fibre intakes on death and myocardial reinfarction: diet and reinfarction trial (DART)*. *Lancet*, 1989. **2**(8666): p. 757-61.
59. Burr, M.L., P.M. Sweetham, and A.M. Fehily, *Diet and reinfarction*. *Eur Heart J*, 1994. **15**(8): p. 1152-3.
60. *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**(9177): p. 447-55.
61. Calder, P.C., *n-3 Fatty acids and cardiovascular disease: evidence explained and mechanisms explored*. *Clin Sci (Lond)*, 2004. **107**(1): p. 1-11.
62. Geleijnse, J.M., et al., *Blood pressure response to fish oil supplementation: metaregression analysis of randomized trials*. *J Hypertens*, 2002. **20**(8): p. 1493-9.
63. Seo, T., W.S. Blaner, and R.J. Deckelbaum, *Omega-3 fatty acids: molecular approaches to optimal biological outcomes*. *Curr Opin Lipidol*, 2005. **16**(1): p. 11-8.
64. Mori, T.A., et al., *Interactions between dietary fat, fish, and fish oils and their effects on platelet function in men at risk of cardiovascular disease*. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 1997. **17**(2): p. 279-86.
65. De Lorgeril, M., et al., *Effect of a mediterranean type of diet on the rate of cardiovascular complications in patients with coronary artery disease. Insights into the cardioprotective effect of certain nutriments*. *J Am Coll Cardiol*, 1996. **28**(5): p. 1103-8.
66. Simopoulos, A.P., *Essential fatty acids in health and chronic disease*. *Am J Clin Nutr*, 1999. **70**(3 Suppl): p. 560S-569S.
67. Holub, B.J., *Clinical nutrition: 4. Omega-3 fatty acids in cardiovascular care*. *CMAJ*, 2002. **166**(5): p. 608-15.
68. Harris, W.S., *Fish oils and plasma lipid and lipoprotein metabolism in humans: a critical review*. *J Lipid Res*, 1989. **30**(6): p. 785-807.

69. Connor, W.E., et al., *The hypotriglyceridemic effect of fish oil in adult-onset diabetes without adverse glucose control*. Ann N Y Acad Sci, 1993. **683**: p. 337-40.
70. American heart association recommendation. Feb 21 2014; Available from: http://www.heart.org/HEARTORG/GettingHealthy/NutritionCenter/HealthyEating/Fish-101_UCM_305986_Article.jsp.
71. Harris, W.S., T.D. Dayspring, and T.J. Moran, *Omega-3 fatty acids and cardiovascular disease: new developments and applications*. Postgrad Med, 2013. **125**(6): p. 100-13.
72. Berglund, L., et al., *Evaluation and treatment of hypertriglyceridemia: an Endocrine Society clinical practice guideline*. J Clin Endocrinol Metab, 2012. **97**(9): p. 2969-89.
73. Miller, M., et al., *Triglycerides and cardiovascular disease: a scientific statement from the American Heart Association*. Circulation, 2011. **123**(20): p. 2292-333.
74. Mori, T.A. and L.J. Beilin, *Omega-3 fatty acids and inflammation*. Curr Atheroscler Rep, 2004. **6**(6): p. 461-7.
75. Calder, P.C., *Polyunsaturated fatty acids and inflammation*. Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids, 2006. **75**(3): p. 197-202.
76. Marieb, E.N., *Anatomie et physiologie humaines*. ERPI ed. 2005, St-Laurent. 1288.
77. Chang, C.L. and R.J. Deckelbaum, *Omega-3 fatty acids: mechanisms underlying 'protective effects' in atherosclerosis*. Curr Opin Lipidol, 2013. **24**(4): p. 345-50.
78. Khan, S., et al., *Dietary long-chain n-3 PUFAs increase LPL gene expression in adipose tissue of subjects with an atherogenic lipoprotein phenotype*. J Lipid Res, 2002. **43**(6): p. 979-85.
79. Botham, K.M., et al., *Direct interaction of dietary lipids carried in chylomicron remnants with cells of the artery wall: implications for atherosclerosis development*. Curr Pharm Des, 2005. **11**(28): p. 3681-95.
80. De Pascale, C., et al., *Fatty acid composition of chylomicron remnant-like particles influences their uptake and induction of lipid accumulation in macrophages*. FEBS J, 2006. **273**(24): p. 5632-40.
81. Zhao, Y., et al., *Eicosapentaenoic acid prevents LPS-induced TNF-alpha expression by preventing NF-kappaB activation*. J Am Coll Nutr, 2004. **23**(1): p. 71-8.
82. Lo, C.J., et al., *Fish oil decreases macrophage tumor necrosis factor gene transcription by altering the NF kappa B activity*. J Surg Res, 1999. **82**(2): p. 216-21.
83. Li, J., et al., *Endogenous omega-3 Polyunsaturated Fatty Acid Production Confers Resistance to Obesity, Dyslipidemia, and Diabetes in Mice*. Mol Endocrinol, 2014. **28**(8): p. 1316-28.
84. CW, C., *CWBC Standardization of anthropometric measurements. The Airlie (VA) Consensus Conference*. Human Kinetics Publishers, 1988.
85. Goulet, J., et al., *Validity and reproducibility of an interviewer-administered food frequency questionnaire for healthy French-Canadian men and women*. Nutr J, 2004. **3**: p. 13.
86. Taylor, H.L., et al., *A questionnaire for the assessment of leisure time physical activities*. J Chronic Dis, 1978. **31**(12): p. 741-55.
87. Lewis, A., et al., *Treatment of hypertriglyceridemia with omega-3 fatty acids: a systematic review*. J Am Acad Nurse Pract, 2004. **16**(9): p. 384-95.
88. Ringbom, T., et al., *Cox-2 inhibitory effects of naturally occurring and modified fatty acids*. J Nat Prod, 2001. **64**(6): p. 745-9.
89. Calder, P.C., *n-3 polyunsaturated fatty acids, inflammation, and inflammatory diseases*. Am J Clin Nutr, 2006. **83**(6 Suppl): p. 1505S-1519S.
90. Bocher, V., et al., *[Role of the peroxisome proliferator-activated receptors (PPARS) in the regulation of lipids and inflammation control]*. J Soc Biol, 2002. **196**(1): p. 47-52.
91. Gotto, A.M., Jr., *Role of C-reactive protein in coronary risk reduction: focus on primary prevention*. Am J Cardiol, 2007. **99**(5): p. 718-25.
92. Flock, M.R., W.S. Harris, and P.M. Kris-Etherton, *Long-chain omega-3 fatty acids: time to establish a dietary reference intake*. Nutr Rev, 2013. **71**(10): p. 692-707.
93. Janssens, A.C. and C.M. van Duijn, *An epidemiological perspective on the future of direct-to-consumer personal genome testing*. Investig Genet, 2010. **1**(1): p. 10.

94. Janssens, A.C., A.A. Wilde, and I.M. van Langen, *The sense and nonsense of direct-to-consumer genetic testing for cardiovascular disease*. *Neth Heart J*, 2011. **19**(2): p. 85-88.
95. Mihaescu, R., et al., *Evaluation of risk prediction updates from commercial genome-wide scans*. *Genet Med*, 2009. **11**(8): p. 588-94.
96. McGuire, A.L. and W. Burke, *An unwelcome side effect of direct-to-consumer personal genome testing: raiding the medical commons*. *JAMA*, 2008. **300**(22): p. 2669-71.
97. Bloss, C.S., et al., *Direct-to-consumer personalized genomic testing*. *Hum Mol Genet*, 2011. **20**(R2): p. R132-41.
98. McBride, C.M., et al., *The behavioral response to personalized genetic information: will genetic risk profiles motivate individuals and families to choose more healthful behaviors?* *Annu Rev Public Health*, 2010. **31**: p. 89-103.
99. Maher, B., *Nature readers flirt with personal genomics*. *Nature*, 2011. **478**(7367): p. 19.