

ISABELLE DEMONTY

**EFFETS RESPECTIFS ET INTERACTIFS DES PROTÉINES ET DES LIPIDES ALIMENTAIRES SUR LE
MÉTABOLISME LIPIDIQUE CHEZ LE RAT**

Mémoire
présenté
à la Faculté des études supérieures
de l'Université Laval
pour l'obtention
du grade de maître ès sciences (M.Sc.)

Département des sciences des aliments et de nutrition
FACULTÉ DES SCIENCES DE L'AGRICULTURE ET DE L'ALIMENTATION
UNIVERSITÉ LAVAL

JUILLET 1997

The author has granted a non-exclusive licence allowing the National Library of Canada to reproduce, loan, distribute or sell copies of this thesis in microform, paper or electronic formats.

The author retains ownership of the copyright in this thesis. Neither the thesis nor substantial extracts from it may be printed or otherwise reproduced without the author's permission.

L'auteur a accordé une licence non exclusive permettant à la Bibliothèque nationale du Canada de reproduire, prêter, distribuer ou vendre des copies de cette thèse sous la forme de microfiche/film, de reproduction sur papier ou sur format électronique.

L'auteur conserve la propriété du droit d'auteur qui protège cette thèse. Ni la thèse ni des extraits substantiels de celle-ci ne doivent être imprimés ou autrement reproduits sans son autorisation.

0-612-25553-0

RÉSUMÉ

Afin de déterminer les effets indépendants et interactifs des protéines et des lipides alimentaires dans la régulation du métabolisme lipidique, des rats ont été soumis pendant un mois à des régimes expérimentaux variant selon les sources protéiques (caséine, protéine de morue ou protéine de soya) et lipidiques (huile de poisson (menhaden) ou huile de coco). L'effet hypocholestérolémiant de la protéine de soya comparativement à la caséine a été confirmé. Une interaction a été observée entre les protéines et les lipides sur les concentrations sériques de triglycérides à jeun et en phase post-prandiale: l'effet hypotriglycéridémiant de l'huile de menhaden par rapport à l'huile de coco a été accru par la protéine de soya mais contrecarré par la protéine de morue. Une diminution des taux de triglycérides hépatiques a aussi été observée en présence d'huile de menhaden comparativement à l'huile de coco et en présence de protéine de soya comparativement à la caséine. Ces résultats indiquent que l'effet hypotriglycéridémiant de l'huile de menhaden est modulé par la nature des protéines alimentaires, et suggèrent que cette modulation s'exerce en partie par le biais des concentrations hépatiques de triglycérides.

AVANT-PROPOS

Je voudrais en premier lieu remercier ma directrice, le Dr Hélène Jacques, pour son aide constante, sa grande disponibilité, sa rigueur scientifique et ses conseils judicieux. Je lui suis particulièrement reconnaissante de m'avoir permis d'acquérir au cours de ces deux années une expérience en recherche et des connaissances qui me seront très utiles au doctorat.

Je remercie aussi grandement mon co-directeur, le Dr Yves Deshaies, pour sa grande disponibilité, l'intérêt marqué pour mon projet dont il a fait preuve à chacune de nos rencontres, ses encouragements, et surtout sa grande rigueur scientifique et son esprit de synthèse qui me serviront toujours d'exemple.

Mille mercis aussi à M. Charles Lavigne, pour son grand dévouement et sa grande patience, deux qualités qui auraient fait de lui un excellent professeur. Sans lui la réalisation technique de ce projet aurait été tout à fait impossible...

Je dois remercier aussi Rachel Gaudreault, qui m'a aidée si efficacement pendant la période expérimentale; son sourire et son souci du travail bien fait me laissent de bons souvenirs de cette période assez exigeante. Je dois dire merci aussi à Josée Lalonde, qui m'a assistée pour le dosage de l'activité de la lipoprotéine lipase, pour sa grande disponibilité et sa générosité.

Je remercie également Madame Rachel Duchesne du Centre Hospitalier de l'Université Laval, qui a effectué les dosages d'insuline.

Je tiens aussi à exprimer toute ma reconnaissance au Conseil de recherches en sciences naturelles et en génie du Canada (CRSNG) qui m'a permis de m'initier à la recherche grâce à une bourse de stage d'été en recherche, puis de réaliser mon projet de maîtrise grâce à une bourse d'études supérieures.

Je voudrais aussi remercier mes compagnes de travail pour leurs encouragements et leur présence, particulièrement Brigitte, dont je n'oublierai jamais la simplicité et la gentillesse. Merci aussi à mes autres amis, pour leur soutien et leur compréhension, leur présence constante malgré la distance parfois.

Enfin, je dois dire merci aux membres de ma famille: papa, maman, Flo et Dan, pour l'intérêt qu'ils ont toujours porté à mes études, et particulièrement à mes parents, André et Andrée, à qui je dédie ce mémoire, pour leur bonté et leur amour.

TABLE DES MATIÈRES

Page

RÉSUMÉ.....	1
AVANT-PROPOS.....	1
TABLE DES MATIÈRES.....	1
LISTE DES TABLEAUX.....	1
LISTE DES FIGURES.....	1
LISTE DES ABRÉVIATIONS.....	1
CHAPITRE 1: INTRODUCTION GÉNÉRALE.....	1
CHAPITRE 2: REVUE DE LA LITTÉRATURE.....	1
2.1 MÉTABOLISME DES LIPIDES ET LIPOPROTÉINES SÉRIQUES.....	1
2.1.1 Composition et classification des lipoprotéines sériques.....	1
2.1.2 Métabolisme du cholestérol.....	1
2.1.2.1 Cholestérol exogène.....	1
2.1.2.2 Cholestérol endogène.....	1
2.1.2.3 Transport inverse du cholestérol.....	17
2.1.3 Métabolisme des triglycérides.....	18
2.1.3.1 Triglycérides exogènes.....	18
2.1.3.2 Triglycérides endogènes.....	18
2.1.4 Lipases.....	18
2.1.4.1 Lipoprotéine lipase.....	18
2.1.4.2 Lipase hépatique.....	19
2.1.5 Rôles de l'insuline dans la régulation métabolique.....	20
2.1.5.1 Insuline et équilibre glycémique.....	20
2.1.5.2 Insuline et métabolisme lipidique.....	21
2.2 MODÈLE ANIMAL.....	23

2.3 EFFET DES LIPIDES ALIMENTAIRES SUR LES MÉTABOLISMES LIPIDIQUE ET GLUCIDIQUE.....	25
2.3.1 Effets sur les lipides plasmatiques et hépatiques.....	25
2.3.1.1 Cholestérol alimentaire.....	25
2.3.1.2 Acides gras saturés.....	26
2.3.1.3 Acides gras monoinsaturés.....	27
2.3.1.4 Acides gras polyinsaturés w-6.....	28
2.3.1.5 Acides gras polyinsaturés w-3.....	28
2.3.2 Effets sur l'insulinémie.....	29
2.3.2.1 Cholestérol alimentaire.....	29
2.3.2.2 Acides gras saturés.....	30
2.3.2.3 Acides gras monoinsaturés.....	31
2.3.2.4 Acides gras polyinsaturés.....	31
2.3.2.4.1 Acides gras polyinsaturés w-6.....	31
2.3.2.4.2 Acides gras polyinsaturés w-3.....	32
2.4 EFFET DES PROTÉINES ALIMENTAIRES SUR LES MÉTABOLISMES LIPIDIQUE ET GLUCIDIQUE.....	34
2.4.1 Effets sur les lipides plasmatiques.....	34
2.4.1.1 Caséine et protéine de soya.....	34
2.4.1.2 Protéine de poisson.....	35
2.4.2 Effets sur les lipides hépatiques.....	37
2.4.2.1 Caséine et protéine de soya.....	37
2.4.2.2 Protéine de poisson.....	37
2.4.3 Mécanismes d'action des protéines alimentaires sur le métabolisme lipidique.....	38
2.4.3.1 Caséine et protéine de soya.....	38
2.4.3.1.1 Hypothèse gastro-intestinale.....	38
2.4.3.1.2 Hypothèse post-absorptive.....	38
2.4.3.2 Protéine de poisson.....	40
2.4.3.2.1 Hypothèse gastro-intestinale.....	40
2.4.3.2.2 Hypothèse post-absorptive.....	40
2.4.4 Effets sur l'insulinémie.....	41
2.4.4.1 Caséine et protéine de soya.....	41
2.4.4.2 Protéine de poisson.....	42
2.4.5 Mécanismes d'action des protéines alimentaires sur l'insulinémie.....	42
2.4.5.1 Caséine et protéine de soya.....	42
2.4.5.2 Protéine de morue.....	44

2.5. INTERACTIONS ENTRE LES PROTÉINES ET LES LIPIDES ALIMENTAIRES.....	4
2.6. HYPOTHÈSES ET OBJECTIFS.....	5
CHAPITRE 3: DIETARY PROTEINS MODULATE THE EFFECT OF FISH OIL ON TRIGLYCERIDEMIA IN THE RAT.....	5
3.1 Résumé.....	5
3.2 Abstract.....	5
3.3 Introduction.....	5
3.4 Methods and materials.....	5
3.4.1 Experimental animals.....	5
3.4.2 Purified diets.....	5
3.4.3 Serum lipoproteins and hepatic lipids.....	5
3.4.4 Tissue lipoprotein lipase activity.....	5
3.4.5 Serum glucose and insulin.....	5
3.4.6 Statistical analysis.....	5
3.5 Results.....	5
3.5.1 Food consumption and weight gain.....	5
3.5.2 Serum and hepatic lipids.....	5
3.5.3 LPL activity.....	5
3.5.4 Serum insulin and glucose.....	6
3.6 Discussion.....	6
3.7 Acknowledgements.....	6
CHAPITRE 4: DISCUSSION ET CONCLUSION GÉNÉRALE.....	7
4.1 Introduction.....	7
4.2 Bilan des travaux réalisés.....	7
4.3 Conclusion générale.....	8
4.4 Limites de l'étude et perspectives de recherche.....	8
BIBLIOGRAPHIE.....	8

LISTE DES TABLEAUX

		Page
Table 1	Composition of the purified diets.....	64
Table 2	Food intake and weight gain of rats fed the purified diets.....	65
Table 3	Total serum, lipoprotein and hepatic cholesterol levels of rats fed the purified diets in the fasted state.....	66
Table 4	Total serum and lipoprotein cholesterol levels of rats fed the purified diets in the fed state.....	67
Table 5	Tissue LPL activity of rats fed the purified diets.....	68
Table 6	Serum insulin and glucose levels of rats fed the purified diets.....	69
Table 7	Pearson correlation coefficients between serum insulin levels and total LPL activity in tissues of rats fed the purified diets.....	70

LISTE DES FIGURES

- Figure 1 Interaction between proteins and lipids in the regulation of total serum triglycerides (n=9-10 rats per dietary group; p=0.046) of rats fed the purified diets in the fasted state.....7
- Figure 2 Interaction between proteins and lipids in the regulation of total serum triglycerides (n=9-10 rats per dietary group; p=0.003) of rats fed the purified diets in the fed state.....7
- Figure 3 Main protein and lipid effects on hepatic triglycerides of rats fed the purified diets in the fasted state (n=9-10 rats per dietary group).....7
- Figure 4 Correlation between LPL activity in the heart and serum triglyceride levels of fasted (n=59; r=-0.31; p=0.02) and fed (n=59; r=-0.33; p=0.009) rats.....7

LISTE DES ABRÉVIATIONS

%	pourcent
ACAT	acyl coenzyme A: cholestérol acyl transférase
apo	apolipoprotéine
°C	degrés Celsius
CETP	protéine de transfert des esters de cholestérol
C-HDL	cholestérol des lipoprotéines de haute densité
C-LDL	cholestérol des lipoprotéines de faible densité
C-VLDL	cholestérol des lipoprotéines de très faible densité
g	gramme
g/j	gramme par jour
g/mL	gramme par millilitre
HCl	chlorure d'hydrogène
HDL	lipoprotéines de haute densité
HMG CoA réductase	3-hydroxy-3-méthylglutaryl Coa réductase
IDL	lipoprotéines de densité intermédiaire
L	litre
LCAT	lécithine cholestérol acyl transférase
LDL	lipoprotéines de faible densité
LPL	lipoprotéine lipase
mg	milligramme
mL	millilitre
mM	millimole
mmol/L	millimole par litre
mU	milliunité
n	nombre
NaCl	chlorure de sodium
pmol/L	picomole par litre

uL	microlitre
umol/g	micromole par gramme
uU	microunité
VLDL	lipoprotéines de très faible densité
VLM	muscle vastus lateralis (vastus lateralis muscle)
w-3	famille d'acides gras polyinsaturés dont la première liaison double se trouve sur le 3ème carbone en comptant à partir de la terminaison méthyl de la chaîne carbonée
w-6	famille d'acides gras polyinsaturés dont la première liaison double se trouve sur le 6ème carbone en comptant à partir de la terminaison méthyl de la chaîne carbonée

CHAPITRE 1

INTRODUCTION GÉNÉRALE

Les maladies cardiovasculaires sont une des principales causes de décès en Amérique du Nord. Plusieurs facteurs favorisent leur développement, comme l'hypercholestérolémie, l'hypertriglycéridémie et une diminution des taux de cholestérol des lipoprotéines de haute densité (HDL) (1). Or, on sait que le régime alimentaire est un facteur important dans la détermination des concentrations sériques de lipides. En effet, comme ils affectent le métabolisme des lipides dans l'organisme, les protéines (2) et les lipides (1) alimentaires peuvent influencer le risque de maladies coronariennes. Cependant, bien que les effets de ces deux types de nutriments aient été largement étudiés, peu de données sont disponibles au sujet des interactions possibles entre protéines et lipides dans la régulation du métabolisme lipidique.

Le rôle des protéines alimentaires dans la modulation de la lipémie a été soulevé au début du siècle par Ignatowsky (3) suite à la mise en évidence de lésions artérielles chez des lapins nourris avec des régimes riches en protéines animales comparativement aux protéines végétales. Ce sont surtout la caséine et la protéine de soya qui ont par la suite été utilisées en recherche pour représenter ces deux types de protéines. L'effet hypocholestérolémiant de la protéine de soya (comparativement à la caséine) est maintenant bien établi. Chez le rat, elle entraîne une diminution de la cholestérolémie totale (4, 5) alors que chez l'humain, elle est associée à des modifications antiathérogéniques des lipides sériques, soit une diminution du cholestérol des lipoprotéines de faible densité (LDL) et une augmentation de cholestérol des HDL (6, 7, 8). Pour ce qui est de l'influence des lipides alimentaires sur les niveaux de lipides

sériques, il est bien connu que les acides gras saturés favorisent une augmentation de la cholestérolémie totale et du cholestérol des lipoprotéines de faible densité (LDL) comparativement aux acides gras polyinsaturés ω -6 (9, 10, 11). De plus, il semble que ces derniers puissent aussi entraîner une diminution des concentrations des triglycérides de lipoprotéines de très faible densité (VLDL) (12, 13).

Quant aux acides gras polyinsaturés ω -3 présents dans les huiles de poisson, leur puissant potentiel hypotriglycéridémiant serait en partie responsable de la diminution du risque de maladie coronarienne associée à la consommation de poisson (1, 14, 15). C'est principalement par une diminution des triglycérides des VLDL que se traduit cet effet (16), mais aussi, en phase post-prandiale, par une diminution des concentrations plasmatiques de chylomicrons (17).

Les effets de la protéine de poisson, qui est aussi un constituant important du poisson, sont cependant moins bien documentés. Il semble qu'elle agisse sur les mêmes paramètres que la protéine de soya, mais différemment. Une étude effectuée récemment chez le rat a montré un effet hypocholestérolémiant de la protéine de morue lorsque comparée à la caséine, mais aussi un effet hypotriglycéridémiant (18), alors que ce dernier n'est pas toujours observé avec la protéine de soya.

Les études mentionnées précédemment ont traité principalement des effets individuels de lipides et des protéines alimentaires. Ainsi, on connaît peu de choses sur les interactions possibles entre les protéines et les lipides dans la modulation du métabolisme lipidique. Une étude effectuée chez le lapin a montré que l'effet hypocholestérolémiant des acides gras polyinsaturés ω -6 observé quand ils sont combinés à la caséine et à la protéine de soya est absent lorsqu'ils sont combinés à la protéine de morue (14). Les protéines alimentaires, et particulièrement la protéine de morue, pourraient donc moduler les effets des acides gras polyinsaturés ω -6 sur la cholestérolémie. Mais qu'en est-il de l'effet hypotriglycéridémiant des acides gras polyinsaturés ω -3 de l'huile de poisson? La protéine de morue pourrait-elle aussi moduler cet effet? C'est une possibilité, puisque l'huile de poisson et la protéine de morue pourraient influencer certains paramètres communs impliqués dans la détermination des niveaux de triglycérides sériques. En effet, outre une diminution de la synthèse hépatique de VLDL (20), on a observé chez le rat une hausse de l'activité de la LPL au cœur et au muscle squelettique suite à un régime contenant de l'huile de poisson comparativement à un régime contenant de l'huile de maïs, ainsi qu'une forte corrélation entre l'activité de la LPL au muscle squelettique et les taux plasmatiques de triglycérides (20). Comme l'activité de la LPL au muscle squelettique était corrélée négativement avec les taux d'insuline plasmatique (20), cet effet

des acides gras polyinsaturés ω -3 sur l'activité de la LPL pourrait être médié par les taux d'insuline plasmatique. La protéine de poisson, quant à elle, favorise chez le lapin une hausse de l'activité de la LPL post-héparine, lorsque comparée à la protéine de soya (21). De plus, on a observé chez le rat, en phase post-prandiale, un rapport insuline/glucagon supérieur suite à la consommation de protéine de morue que de protéine de soya (18).

Une étude a d'ailleurs été effectuée précédemment chez le lapin pour déterminer les effets indépendants et interactifs de l'huile de poisson et de la protéine de morue sur les lipides sériques et hépatiques (22). Cependant, il semble que le modèle de lapin utilisé ne soit pas approprié pour étudier les effets des acides gras polyinsaturés ω -3 sur la triglycéridémie, car l'huile de poisson n'a pas reproduit chez cet animal la diminution des triglycérides sériques déjà établie chez l'humain. La présente étude a donc été entreprise dans le but de vérifier si la protéine de morue pourrait moduler l'effet des acides gras polyinsaturés ω -3 sur le métabolisme lipidique différemment des autres protéines, en utilisant cette fois le rat comme modèle animal, sa réponse triglycéridémique à l'huile de poisson étant semblable à celle de l'humain (20, 23).

CHAPITRE 2

REVUE DE LA LITTÉRATURE

2.1. MÉTABOLISME DES LIPIDES ET LIPOPROTÉINES SÉRIQUES

2.1.1 Composition et classification des lipoprotéines sériques

Les lipides étant hydrophobes, leur transport dans le plasma est possible grâce à leur intégration à des complexes macromoléculaires solubles en milieu aqueux: les lipoprotéines (24, 25, 26). De forme sphérique pour la plupart, les lipoprotéines sont constituées en leur centre par des lipides neutres hydrophobes (triglycérides et cholestérol estérifié) et en surface par des composés hydrophiles (phospholipides, cholestérol libre et apolipoprotéines) (3, 15, 17).

De par leurs caractéristiques propres (densité, mobilité électrophorétique, taille ou composition en apolipoprotéines), on peut différencier plusieurs classes de lipoprotéines. Les noms couramment utilisés pour désigner les lipoprotéines proviennent de leur classification selon la densité, laquelle est déterminée par les différentes proportions de lipides et de protéines formant le complexe. Les lipides étant beaucoup moins denses que les protéines, ce sont les lipoprotéines relativement riches en lipides qui ont une faible densité, et celles qui contiennent une plus grande proportion de protéines qui ont une densité élevée. On distingue donc, en ordre croissant de densité: les chylomicrons, présents en période post-prandiale (densité en g/mL (d) < 0.95), les lipoprotéines de très faible densité ou VLDL (pour *Very Low Density Lipoproteins*) ($d=0.95-1.006$), les lipoprotéines de densité intermédiaire ou IDL (pour *Intermediate Density Lipoproteins*) ($d=1.006-1.019$), les lipoprotéines de faible densité ou LDL (pour *Low Density*

Lipoproteins) ($d=1.019-1.063$) et les lipoprotéines de densité élevée ou HDL (pour *High Density Lipoproteins*) ($d=1.063-1.125$) qui comprennent deux sous-classes: les HDL₂ ($d=1.063-1.125$) et les HDL₃ ($d=1.125-1.21$) 0.

Non seulement les proportions relatives de lipides et de protéines varient-elles d'une classe de lipoprotéines à l'autre, mais aussi le type de lipides qu'elles contiennent, et de là, leur fonction. Les chylomicrons et les VLDL, riches en triglycérides, transportent ces lipides vers les tissus périphériques (24, 26). Les LDL, quant à elles, sont les principaux transporteurs du cholestérol vers les tissus périphériques chez l'humain (28, 29). Enfin, les HDL assurent le transport inverse du cholestérol des tissus extrahépatiques vers le foie (30). Ainsi, les lipoprotéines les moins denses sont les plus riches en triglycérides, alors qu'une augmentation du contenu en cholestérol est associée à une augmentation de la densité (24, 27).

2.1.2 Métabolisme du cholestérol

2.1.2.1 Cholestérol exogène

Le cholestérol alimentaire, suite à la digestion enzymatique, est absorbé sous forme libre. Dans les entérocytes, il est estérifié par l'ACAT (acyl coenzyme A: cholestérol acyl transférase). Il peut alors s'associer aux triglycérides et apolipoprotéines pour former les chylomicrons (27). Une fois en circulation, les chylomicrons participent à un échange d'apolipoprotéines (apo) avec les HDL, ce qui leur permet d'acquérir les apo C et E (26, 31, 32). L'apo CII est nécessaire à l'activation de la lipoprotéine lipase (LPL) (27, 33, 34) située au niveau de la paroi des capillaires sanguins de la majorité des organes (35). La LPL hydrolyse les triglycérides des chylomicrons, dont le volume diminue graduellement. Cela donne lieu à la formation de résidus de chylomicrons, lesquels sont captés par le foie via des récepteurs spécifiques à l'apolipoprotéine E (apo E) (26, 32, 36). Le cholestérol hépatique peut ensuite être utilisé pour la synthèse d'acides biliaires (32) ou remis en circulation sous forme de VLDL (28).

2.1.2.2 Cholestérol endogène

Le cholestérol peut être synthétisé dans la majorité des tissus à partir de l'acétyl coenzyme A, mais c'est au foie et à l'intestin que la production de cholestérol est la plus importante (37). Au foie, tout comme le cholestérol exogène, le cholestérol endogène peut être excrété par la bile (32), ou bien sécrété dans le plasma comme constituant des VLDL (28, 32). Aussitôt après leur arrivée dans la circulation sanguine, les VLDL s'enrichissent en apo C et E, transférées à partir

des HDL (12, 27). Au même titre que les chylomicrons, les VLDL subissent l'action de la LPL qui hydrolyse leurs triglycérides. De plus, elles s'enrichissent en cholestérol estérifié, acquis par échange avec les HDL grâce à l'action de la protéine de transfert des esters de cholestérol (CETP) (38). Les VLDL deviennent ainsi graduellement des IDL, lesquelles sont en majorité captées par le foie via les récepteurs apoB/E (36, 39). Les triglycérides des IDL restantes sont hydrolysés par la lipase hépatique. Cette lipolyse s'accompagne, là encore, d'un enrichissement en cholestérol estérifié et les IDL acquièrent progressivement une densité LDL (27). Les LDL transportent le cholestérol vers les tissus périphériques et le foie, où elles sont captées par les récepteurs apoB/E (26, 36, 39). Ces lipoprotéines favorisent l'athérosclérose lorsqu'elles sont présentes en grande quantité (28, 40): en plus de leur capacité à livrer leur contenu en cholestérol aux tissus périphériques, elles peuvent être oxydées ou modifiées par l'action de certains agents chimiques (28, 40, 41). Ainsi modifiées, elles sont captées par les récepteurs *scavengers* des macrophages et des cellules endothéliales, entraînant ainsi la formation de cellules spumeuses à l'origine de la plaque athéromateuse (26, 42, 43).

2.1.2.3 Transport inverse du cholestérol

On entend par "transport inverse du cholestérol" le transport du cholestérol des tissus périphériques vers le foie, où il pourra être éliminé (30). Ce transport est effectué en grande partie par les HDL, et particulièrement les HDL₂, qui sont considérées comme antiathérogéniques (44). Des HDL immatures, de forme discoïdale, sont sécrétées dans le plasma par le foie (26) et l'intestin (30, 45). Très rapidement, ces disques acquièrent du cholestérol libre provenant soit de l'hydrolyse des lipoprotéines de plus faible densité par la LPL, soit des tissus extrahépatiques (30, 44, 45). Ce cholestérol libre est estérifié sous l'action de la LCAT (lécithine: cholestérol acyltransférase) (24, 26) et migre vers le centre de la lipoprotéine, ce qui donne lieu à la formation des HDL₃. Les HDL₃ acceptent des constituants de surface libérés lors de l'hydrolyse des chylomicrons et des VLDL, et continuent à capter le cholestérol libre qui sera estérifié à nouveau par la LCAT. La particule moins dense qui en résulte est alors appelée HDL₂ (30, 45). Les HDL₂ peuvent ensuite être captées par le foie grâce à des récepteurs spécifiques qui reconnaissent leurs apoprotéines (30, 41), ou bien perdre des phospholipides et des triglycérides suite à l'action de la lipase hépatique (30, 32). Cette perte de lipides régénère des particules de HDL₃ qui pourront progressivement redevenir des HDL₂ et prendre en charge le cholestérol des tissus périphériques (27).

D'autre part, le cholestérol capté par les HDL peut se rendre au foie par l'intermédiaire d'autres lipoprotéines. En effet, en échange de triglycérides, les HDL peuvent céder une partie de leurs

esters de cholestérol aux lipoprotéines de faible densité (chylomicrons, VLDL, IDL et LDL) (26, 27, 30). Ce transfert de lipides est possible grâce à l'action de la protéine de transfert des esters de cholestérol (CETP) présente en circulation (26, 30, 38). La captation subséquente par le foie de lipoprotéines de faible densité enrichies en cholestérol contribue alors au retour du cholestérol des tissus périphériques vers le foie (26, 27).

2.1.3 Métabolisme des triglycérides

2.1.3.1 Triglycérides exogènes

Après l'hydrolyse en acides gras libres, mono- et diglycérides effectuée par les enzymes digestives, les triglycérides alimentaires sont reconstitués dans la cellule intestinale, où ils s'associent au cholestérol estérifié et aux apolipoprotéines pour former les chylomicrons (27). Contrairement au cholestérol alimentaire qui aboutit au foie, les triglycérides des chylomicrons sont hydrolysés par la LPL attachée à l'endothélium vasculaire (27, 46). Les acides gras libres ainsi libérés traversent la paroi des capillaires sanguins et pénètrent dans les tissus. Ils peuvent alors être oxydés immédiatement pour fournir de l'énergie (47) ou réestérifiés en triglycérides et mis en réserve au tissu adipeux (47, 48, 49) ou dans les muscles (37).

2.1.3.2 Triglycérides endogènes

Pendant le jeûne, les acides gras entreposés au tissu adipeux sont libérés dans la circulation (47, 50). Certains sont captés par les tissus périphériques pour être oxydés, alors que d'autres se rendent au foie (47) où ils pourront être réestérifiés pour former des triglycérides (50). Le foie peut aussi synthétiser des triglycérides à partir de certains précurseurs (32) comme les glucides et les acides aminés (32). Ces triglycérides seront par la suite incorporés aux VLDL et sécrétés dans la circulation (32, 50). Comme les triglycérides transportés par les chylomicrons, les triglycérides des VLDL seront hydrolysés par la LPL (27, 46).

2.1.4 Lipases

2.1.4.1 Lipoprotéine lipase

La LPL est synthétisée dans les cellules parenchymateuses des tissus extrahépatiques, en particulier les cellules adipeuses, musculaires et cardiaques (51). Une fois synthétisée, la LPL migre à la surface luminale des cellules endothéliales des capillaires adjacents. De là, elle peut

atteindre la circulation générale et se répartir aux sites de liaison des autres tissus, dont ceux qui ne produisent pas de LPL (35). Sa concentration dans la circulation reste basse car une partie des nouvelles molécules de LPL sont dégradées de façon intracellulaire au site de synthèse (27, 52), ou bien captées par le foie (35). La LPL catalyse l'hydrolyse des triglycérides de chylomicrons et des VLDL à l'endothélium vasculaire des tissus extrahépatiques (35, 46, 47). Elle affecte aussi le sort des HDL: par le biais des modifications lipidiques subies par les VLDL et les LDL pendant la lipolyse, la LPL favorise une augmentation du transfert des esters de cholestérol des HDL vers les VLDL, lequel est médié par la CETP (53, 54). De plus, il existe une corrélation positive entre les niveaux de cholestérol des HDL et des HDL₂ (C-HDL et C-HDL₂) d'une part, et l'activité post-héparine de la LPL d'autre part (30, 55, 56, 57). L'activité de la LPL serait donc un facteur déterminant des niveaux de HDL plasmatiques.

Plusieurs facteurs sont impliqués dans la régulation de l'activité de la LPL. La présence de l'apo CII, qui agit comme cofacteur, est nécessaire à son activité (33, 34, 46), laquelle est aussi modulée de façon hormonale: l'insuline et les glucocorticoïdes stimulent l'activité de l'enzyme dans les adipocytes, alors que les catécholamines l'inactivent (58, 59, 60). À l'état de jeûne l'activité de la LPL diminue dans le tissu adipeux, alors qu'elle augmente dans les muscles squelettiques et/ou le coeur, favorisant ainsi l'utilisation des acides gras comme source d'énergie. Par contre, à l'état post-prandial, il y a augmentation de l'activité de la LPL dans les adipocytes, mais diminution ou aucun changement dans les muscles squelettiques, ce qui favorise l'entreposage des acides gras (47, 48).

2.1.4.2 Lipase hépatique

Synthétisée par les cellules hépatiques, cette lipase migre à la surface des cellules endothéliales du foie (61). Elle favorise la captation et la dégradation hépatique des HDL₂ (30) dont elle catalyse l'hydrolyse des phospholipides (30), régénérant ainsi des molécules de HDL₃ (61, 62). L'activité de la lipase hépatique pourrait réguler en partie les concentrations plasmatiques de HDL. En effet, une corrélation négative a été observée entre l'activité de cette enzyme et les niveaux de C-HDL total d'une part ainsi que de C-HDL₂ d'autre part (56, 63). En plus de son rôle principal de phospholipase, la lipase hépatique hydrolyse aussi les triglycérides des IDL, participant ainsi à la formation des LDL (27, 63).

Il semble qu'aucun cofacteur ne soit indispensable à l'activité de la lipase hépatique, mais il se pourrait qu'elle soit stimulée par l'apoE et l'apoAII (52). Les facteurs hormonaux jouent un rôle important dans la régulation de l'activité de cette enzyme: les oestrogènes diminuent l'activité

de la lipase hépatique (61), alors que les androgènes et la testostérone l'augmentent (61, 63). Cela est lié à des concentrations plus faibles de HDL₂ chez l'homme que chez la femme (27, 57). Contrairement à la LPL des tissus musculaires ou adipeux, l'activité de la lipase hépatique ne serait pas influencée par l'insuline (27, 56).

2.1.5 Rôles de l'insuline dans la régulation métabolique

2.1.5.1 Insuline et équilibre glycémique

Le rôle premier de l'insuline, de concert avec le glucagon, est de maintenir constante la concentration de glucose sanguin. L'homéostasie obtenue par l'action de ces deux hormones pancréatiques permet, entre autres, d'assurer un apport constant de glucose au cerveau, lequel utilise 60 à 80% du glucose libéré dans la circulation à jeun. Entre les repas, la concentration de glucose sérique est maintenue par le catabolisme du glycogène au foie (glycogénolyse), mais aussi, pendant la nuit, par la gluconéogénèse. Les principaux précurseurs gluconéogéniques pendant cette période sont le lactate et le pyruvate, qui proviennent surtout des globules rouges et des muscles squelettiques. Le glucose peut aussi être produit à partir des acides aminés libérés par le foie et les muscles, ou à partir du glycérol provenant de l'hydrolyse des triglycérides du tissu adipeux (64).

Après un repas, en réponse à l'augmentation de la glycémie, les cellules bêta du pancréas sécrètent de l'insuline (64, 65). Les principaux effets métaboliques de l'insuline touchent le foie, les muscles et le tissu adipeux. L'insuline entraîne une diminution de la glycémie en augmentant le transport du glucose dans les tissus, particulièrement les muscles et le tissu adipeux (37). Dans le muscle, le glucose est utilisé en partie comme source d'énergie pour la contraction. L'insuline favorise aussi l'entreposage du glucose sous forme de glycogène (muscles et foie) ou de triglycérides (tissu adipeux) (37). En plus de cet effet sur la captation du glucose par les tissus, l'insuline entraîne une diminution de l'apport de précurseurs gluconéogéniques au foie (64). D'une part, elle favorise un arrêt de la libération des acides aminés par le muscle (66), lequel les convertit en protéines (64). D'autre part, en inhibant l'activité de la lipase hormonosensible au tissu adipeux (64), elle entraîne une diminution de la libération d'acides gras et de glycérol (66). Enfin, elle favorise une diminution de la glycogénolyse au foie (37). En période de jeûne, lorsque la glycémie s'abaisse, la sécrétion d'insuline diminue, alors que les cellules alpha du pancréas libèrent du glucagon en circulation. Les effets du glucagon sont contraires à ceux de l'insuline: il favorise une augmentation de la glycémie (64). Le glucagon stimule la glycogénolyse hépatique (37, 64) et inhibe la synthèse de glycogène au foie. De plus,

il favorise une augmentation de la gluconéogénèse par un apport accru de précurseurs gluconéogéniques (64): il entraîne une augmentation de la dégradation des triglycérides au tissu adipeux (37) ainsi qu'une augmentation de la libération d'acides aminés à partir de protéines musculaires (64).

La régulation de la glycémie par les hormones pancréatiques dépend donc d'un juste équilibre entre la sécrétion d'insuline et celle du glucagon: si le rapport insuline/glucagon est anormalement faible, une situation semblable au diabète se produit; par contre, si ce rapport est trop élevé, une hypoglycémie peut survenir. Un système de rétrorégulation où le glucagon stimulerait la sécrétion d'insuline et où l'insuline inhiberait la sécrétion de glucagon pourrait être impliqué dans la coordination de la sécrétion de ces deux hormones (66). Libérées par le pancréas, elles pénètrent dans la veine porte. Le foie est donc le premier tissu exposé à ces hormones (37). En cas de déficience en insuline, le foie est soumis à un rapport insuline/glucagon abaissé, ce qui favorise une augmentation de la glycogénolyse et de la gluconéogénèse (67, 68), toutes deux participant à l'augmentation de la glycémie typique du diabète insulino-dépendant (37). Dans le cas d'une résistance à l'insuline, malgré l'hyperinsulinémie associée, les cellules cibles répondent peu à l'action de cette hormone (69). Il s'ensuit une diminution de l'utilisation périphérique du glucose, particulièrement dans les muscles squelettiques (70, 71), ainsi qu'une absence d'inhibition de libération d'acides gras par le tissu adipeux, laquelle favorise une augmentation de la gluconéogénèse (72). En bout de ligne, ces anomalies entraînent une hyperglycémie.

2.1.5.2 Insuline et métabolisme lipidique

L'insuline joue également un rôle dans le métabolisme de plusieurs lipoprotéines: VLDL, LDL et HDL. Son influence sur la production hépatique des VLDL diffère selon le degré d'insulinémie (73) et la durée d'exposition à l'insuline (50). De façon aiguë, c'est-à-dire en moins de 24 à 48 heures, l'insuline entraîne une diminution de la sécrétion des VLDL par les hépatocytes (50). Cela serait dû en partie à une diminution de la libération des acides gras libres dans le plasma suite à une inhibition de la lipolyse au tissu adipeux (73, 74). Une diminution de l'association intrahépatique des apolipoprotéines et des triglycérides formant les VLDL pourrait aussi être impliquée (50, 75). D'autre part, l'insuline stimule la lipogénèse hépatique et l'estérification des acides gras libres pour former des triglycérides (73), lesquels s'accumulent dans les hépatocytes et pourront être libérés dans la circulation sous forme de VLDL suite à une diminution des niveaux d'insuline (50). À long terme, lorsque l'insuline est présente pendant plus de 24 à 48 heures, elle favorise une augmentation de la sécrétion des VLDL, sans doute reliée à une rétro-régulation des niveaux

de récepteurs hépatiques de l'insuline (50). Un des effets principaux de cette hormone est de favoriser le catabolisme des triglycérides des VLDL et l'entreposage des acides gras au tissu adipeux, par le biais d'une augmentation de l'activité de la LPL (73, 74). D'ailleurs, une corrélation positive a été observée entre les taux plasmatiques d'insuline et de triglycérides à jeun (76), ainsi qu'entre les taux plasmatiques d'insuline et l'activité de la LPL au tissu adipeux (77). Pour ce qui est de l'activité de la LPL dans les muscles, elle est diminuée par l'insuline, ce qui favorise aussi l'entreposage des acides gras au tissu adipeux (47, 78, 79). La transformation des VLDL en LDL est aussi affectée par l'insuline. En effet, en influençant le taux de sécrétion des triglycérides des VLDL (qui seront par la suite catabolisés en LDL par l'action de la LPL), l'insuline détermine en partie le taux de formation des LDL. D'une part, l'insuline inhibe la lipolyse au tissu adipeux, ce qui entraîne une baisse de la disponibilité des acides gras libres en circulation, lesquels sont utilisés pour la synthèse hépatique des triglycérides des VLDL (73). D'autre part, l'insuline stimule la synthèse hépatique d'acides gras, ainsi que la synthèse des triglycérides et des VLDL (73). L'effet net de cette hormone sur la production de VLDL est donc variable et dépend, entre autres, du degré d'insulinémie et du régime alimentaire. Par exemple, un régime riche en glucides accentue l'effet de l'insuline sur la lipogénèse hépatique comparativement à un régime riche en lipides (73). Pour ce qui est du catabolisme des VLDL en LDL, l'insuline le favorise, puisqu'elle est nécessaire à la lipolyse des triglycérides des VLDL par la LPL (73). Enfin, cette hormone pourrait aussi provoquer une augmentation de la captation et de la dégradation des LDL par les tissus (73). En ce qui concerne les HDL, l'effet de l'insuline est plutôt indirect. En influençant l'activité de la LPL et donc la lipolyse des lipoprotéines riches en triglycérides, l'insuline pourrait affecter le transfert des constituants des VLDL et des chylomicrons vers les HDL (73).

Ce rôle de l'insuline dans le métabolisme lipidique est confirmé par les anomalies présentes en cas d'insulinorésistance: augmentation de l'insulinémie et des concentrations de triglycérides des VLDL, et diminution du C-HDL (80, 81). Il semble qu'une diminution de la réponse du tissu adipeux à l'insuline soit à l'origine des autres perturbations (70). Une augmentation de la libération des acides gras libres par le tissu adipeux entraîne une sécrétion hépatique accrue de triglycérides des VLDL. L'activité de la LPL au tissu adipeux étant peu ou pas stimulée par l'insuline, le catabolisme des triglycérides des VLDL est diminué, ainsi que le transfert de cholestérol des lipoprotéines riches en triglycérides vers les HDL (70, 82). Enfin, l'augmentation de l'arrivée des acides gras libres au foie diminue l'extraction hépatique de l'insuline, ce qui entraîne une hyperinsulinémie (69, 70, 82).

2.2. MODÈLE ANIMAL

Le rat est un modèle animal fréquemment utilisé pour l'étude des métabolismes lipidique et glucidique. Il se révèle particulièrement adéquat pour l'étude des effets du régime alimentaire sur le métabolisme des triglycérides sanguins. Il a d'ailleurs été utilisé à maintes reprises dans des protocoles expérimentaux visant à déterminer les effets des acides gras polyinsaturés ω-3 sur la triglycéridémie. Les effets observés sont semblables à ceux qui ont été notés chez l'humain, soit une diminution des taux de triglycérides sériques totaux et plus précisément de ceux des triglycérides des VLDL suite à la consommation d'huile de poisson (20, 23, 83, 84). Il existe aussi des modèles de rats génétiquement hypertriglycéridémiques, qui sont utilisés comme modèles représentatifs des sujets humains atteints d'hypertriglycéridémie (85, 86).

Outre les triglycérides sériques, un autre paramètre semble réagir au régime alimentaire d'une façon semblable chez l'humain et chez le rat. Il s'agit de l'insulinémie. En effet, chez le rat comme chez l'humain, un régime riche en acides gras saturés favorise le développement d'une résistance à l'insuline et une hausse de la glycémie (87, 88, 89, 90). En ce qui concerne l'effet des protéines alimentaires sur l'insulinémie, il est aussi le même chez le rat et chez l'humain: les protéines d'origine végétale, comparativement aux protéines d'origine animale, entraînent chez ces deux espèces une diminution des concentrations sériques de glucose et d'insuline (18, 91, 92, 93, 94). Le rat apparaît donc comme un bon modèle pour l'étude des effets du régime alimentaire sur le métabolisme des triglycérides et l'insulinémie, d'autant plus qu'il ne semble avoir aucune différence majeure entre le rat et l'humain en ce qui concerne la modulation de ces paramètres.

Le rat a aussi été largement utilisé pour l'étude du métabolisme du cholestérol en réponse aux modifications du régime alimentaire. Cependant, dans ce cas, l'extrapolation des résultats à l'humain doit être faite avec prudence: les profils lipidiques, et sans doute le métabolisme de ces différentes fractions lipoprotéiques, sont différents chez le rat et chez l'humain. Chez le rat, la majorité du cholestérol plasmatique est transporté par les HDL (60 à 80%) alors que seulement 10 à 15% sont transportés par les LDL (95). Cela rend le rat résistant à l'athérosclérose (29). Chez l'humain, par contre, ce sont les LDL qui transportent la plus grande proportion du cholestérol plasmatique (60 à 80%), alors que les HDL n'en contiennent que 27 à 35% (96). Il semble qu'une élimination plasmatique plus rapide de l'apo B des VLDL chez le rat puisse expliquer les niveaux plus faibles de LDL observés chez cet animal en comparaison des niveaux observés chez l'humain (24). De plus, l'activité de la lipase hépatique pourrait jouer un rôle dans la genèse de ces différents profils lipidiques notés selon l'espèce: alors que l'activité de la LPL est élevée chez le

différentes espèces animales (activité post-héparine=350 mU/mL chez l'humain et 440 mU/mL chez le rat), l'activité de la lipase hépatique varie beaucoup d'une espèce à l'autre (activité post-héparine=370 mU/mL chez l'humain et 700 mU/mL chez le rat) (52).

2.3. EFFET DES LIPIDES ALIMENTAIRES SUR LES MÉTABOLISMES LIPIDIQUE ET GLUCIDIQUE

2.3.1 Effets sur les lipides plasmatiques et hépatiques

Les lipides alimentaires peuvent influencer le développement de maladies cardiovasculaires de plusieurs façons. Leurs effets sur le métabolisme des lipides sont très documentés (1). Les prochaines pages présentent un résumé des connaissances à ce sujet.

2.3.1.1 Cholestérol alimentaire

La contribution du cholestérol alimentaire au développement de l'hypercholestérolémie est encore controversée (97). Environ 20 à 25% de la population seraient sensibles à une augmentation du cholestérol alimentaire (98). Plusieurs études ont montré une augmentation du cholestérol sérique total (10%), associée à une augmentation du C-LDL (14%), en réponse au cholestérol alimentaire (99). Environ 85% de l'augmentation du cholestérol sérique résiderait dans la fraction LDL (99). Une augmentation du C-HDL (100, 101) et des triglycérides plasmatiques (100) a aussi été observée. Plusieurs facteurs modèleraient chez l'humain les effets du cholestérol alimentaire sur les lipides plasmatiques: la dose utilisée, les différences individuelles d'absorption et de précision des mécanismes de feedback entraînant une diminution de la synthèse de cholestérol quand l'apport alimentaire est accru (97), ainsi que la présence de différents types d'acides gras dans le régime (9, 102).

Chez le rat, on a aussi observé une augmentation des taux de cholestérol plasmatique total (103, 104, 105, 106) et de C-LDL (107) en réponse au cholestérol alimentaire. Contrairement à ce qui avait été noté chez l'humain, certaines études ont rapporté une diminution des concentrations sériques de C-HDL (103, 107). En plus d'une augmentation de la cholestérolémie, la consommation de cholestérol favorise aussi une augmentation des concentrations plasmatiques de triglycérides totaux (103, 106) et des VLDL (103). Quant aux effets du cholestérol alimentaire sur les lipides hépatiques, ils consistent en une augmentation des taux de triglycérides et d'esters de cholestérol (103, 107, 108, 109). Ces effets du cholestérol alimentaire sur les lipides plasmatiques et hépatiques semblent liés à la dose (103, 108).

L'hypercholestérolémie provoquée chez l'humain par un apport alimentaire accru de cholestérol serait due principalement à une incapacité de supprimer la synthèse de cholestérol endogène, laquelle dépendrait en partie du phénotype de l'apoE (97). Chez les rats hyperpondeurs au cholestérol exogène, par contre, le problème se situerait plutôt au niveau

de la captation hépatique et de l'incorporation du cholestérol dans les acides biliaires (110). D'ailleurs, chez les rats qui présentent une résistance à l'élévation des taux de cholestérol plasmatique normalement induite par un apport accru de cholestérol exogène, les esters de cholestérol seraient convertis plus efficacement en acides biliaires (104). Une augmentation des taux de synthèse (101) et de sécrétion hépatique des lipoprotéines serait aussi impliquée (93), ainsi qu'une diminution de la captation hépatique des LDL et VLDL (97, 101, 111). Cette dernière serait due à une diminution de la transcription du gène (97) et de la synthèse de récepteurs des LDL (112) subséquente à l'accumulation de cholestérol au foie (112). Enfin, chez les rats diabétiques, une augmentation du taux d'absorption du cholestérol provoquée par une augmentation de l'activité de l'ACAT (acyl-CoA: cholestérol acyltransférase) intestinale serait aussi en cause (113).

2.3.1.2 Acides gras saturés

Les études épidémiologiques montrent que les taux de cholestérol sérique sont élevés chez les populations consommant de grandes quantités d'acides gras saturés, alors qu'ils sont faibles chez les populations en consommant de petites quantités (12). De façon expérimentale, on a observé chez l'humain une augmentation des concentrations de cholestérol total (9), principalement due à une élévation du C-LDL (10). Des augmentations des taux de C-HDL (114) et de C-VLDL (115) ont aussi été observées. Il semble que l'action des acides gras saturés, particulièrement de l'acide palmitique, soit reliée à l'apport alimentaire en cholestérol (115, 116) dont ils moduleraient les effets (117). Il faut mentionner cependant que l'effet hypercholestérolémiant des acides gras saturés varie selon la longueur de leur chaîne carbonée: les acides laurique (C12:0), myristique (C14:0) et palmitique (C16:0) sont particulièrement hypercholestérolémiants (106), alors que les acides gras à chaîne courte (moins de 12C) et l'acide stéarique (C18:0), rapidement converti en acide oléique (118), seraient dépourvus de cet effet (119, 120). On a d'ailleurs observé chez le rat une diminution des concentrations hépatiques de cholestérol suite à un régime contenant de l'acide stéarique comparativement à un régime contenant de l'acide palmitique (121).

On a de plus observé chez le hamster une augmentation de la concentration des triglycérides sériques totaux et chez le rat une augmentation des triglycérides des chylomicrons suite à la consommation d'acides gras saturés (117, 122).

Parmi les mécanismes proposés pour expliquer l'augmentation des concentrations de cholestérol suite à la consommation d'acides gras saturés, il y a la diminution, chez l'humain et

l'animal, de l'activité (118, 123) et de la synthèse (124) des récepteurs hépatiques des LDL. En effet, en favorisant l'accumulation de triglycérides et de cholestérol au foie, ils entraîneraient une diminution des niveaux d'ARN messager pour les récepteurs des LDL (125, 126). De plus, ils seraient responsables d'une augmentation de la synthèse du C-LDL (123, 127). Une augmentation de la synthèse hépatique des VLDL pourrait aussi être à l'origine de l'augmentation des triglycérides sériques chez le rongeur, l'acide palmitique étant incorporé plus rapidement aux triglycérides hépatiques que l'acide stéarique chez le rat (128). Une stimulation de l'activité de la CETP (115, 120, 129) ainsi qu'une augmentation de l'absorption intestinale de cholestérol, en cas de diabète (130), seraient aussi impliquées.

2.3.1.3 Acides gras monoinsaturés

Acide gras monoinsaturé le plus répandu dans l'alimentation (124), l'acide oléique sera associé de façon inverse à l'incidence de maladies cardiovasculaires (1). Bien qu'on ait initialement considéré son effet sur la cholestérolémie comme neutre (131, 132), il semble que l'acide oléique favorise chez l'humain, au même titre que les acides gras polyinsaturés (133), une diminution de la cholestérolémie totale et du C-LDL (134, 135). Contrairement aux acides gras polyinsaturés qui entraînent une baisse du C-HDL lorsqu'ils sont consommés en grande quantité et à long terme, les acides gras monoinsaturés sont dépourvus de cet effet (136). Cependant, ils n'auraient que peu ou pas d'influence sur les taux de triglycérides sériques, alors que les acides gras polyinsaturés, à doses élevées, en favorisent la diminution (133, 135).

Il semble que l'effet de l'acide oléique sur la cholestérolémie totale et le C-LDL chez l'animal soit le même que chez l'humain; c'est du moins ce que l'on a observé chez le hamster (129). Chez ce rongeur, les acides gras monoinsaturés n'entraîneraient pas non plus une diminution des taux de C-HDL lorsque présents en grande quantité dans le régime (129).

Plusieurs mécanismes expliqueraient les effets des acides gras monoinsaturés: inhibition de l'effet suppresseur du cholestérol sur la synthèse hépatique des récepteurs des LDL (12, 129), augmentation de l'expression de ces récepteurs (137), prévention de l'augmentation d'activité de la CETP induite par le cholestérol (129) et les acides gras saturés (138), diminution du taux de production de l'apoB des LDL (139) et compétition pour la lipase hépatique entre les HDL et les résidus de chylomicrons contenant des acides gras monoinsaturés (137).

2.3.1.4 Acides gras polyinsaturés w-6

Bien qu'une étude épidémiologique ait montré un effet protecteur de l'acide linoléique contre le développement des maladies cardiovasculaires (140), l'innocuité des acides gras polyinsaturés w-6 est controversée (141). Comparativement aux acides gras saturés, entraînent une diminution de la cholestérolémie totale (9, 11, 139), du C-LDL (11, 134, 135) possiblement des TG des VLDL (12, 13). Cependant, lorsque consommés en grande quantité (>13% de l'apport énergétique total), ils provoquent aussi un abaissement du C-HDL (1, 12, 139) lié à une diminution des taux d'apo A1 (11, 142). Plusieurs mécanismes ont été évoqués pour expliquer l'effet hypocholestérolémiant des acides gras polyinsaturés w-6: hausse de l'excrétion de stérols (124), inhibition de la synthèse hépatique d'acides gras (143) et des VLDL (124, 144), diminution du contenu en cholestérol (124) et de la synthèse des LDL (145), baisse du taux de production et augmentation du catabolisme de l'apoB (139). Toutefois, l'effet le plus probable des acides gras polyinsaturés w-6 serait une augmentation de l'activité des récepteurs des LDL (124, 146) sans doute consécutive au retrait d'une bonne proportion d'acides gras saturés du régime (12), mais qui pourrait être due aussi en partie à une action directe des acides gras polyinsaturés w-6 (23, 124, 146).

2.3.1.5 Acides gras polyinsaturés w-3

Des études épidémiologiques effectuées chez les Eskimos du Groënland et les communautés japonaises consommatrices de poisson ont mené à la suggestion que l'apport en acides gras w-3 serait inversement associé au risque de maladie coronarienne (1). Cela serait dû en partie au puissant potentiel hypotriglycéridémiant des acides gras polyinsaturés w-3, lequel se traduit chez l'humain par une diminution des triglycérides des VLDL (16), mais aussi, en phase post-prandiale, par une diminution des concentrations plasmatiques de chylomicrons (17). Bien que les acides gras polyinsaturés w-3 favorisent une diminution du C-LDL lorsque substitués aux acides gras saturés, ils entraîneraient une augmentation du C-LDL lorsque supplémentés au régime de base (16) et ce, tant chez les sujets normaux (16), hypercholestérolémiques (148) que diabétiques (148, 149). Comme les acides gras polyinsaturés w-6, les acides gras w-3 favoriseraient, à des doses élevées, une baisse du C-HDL (124).

L'effet hypotriglycéridémiant des acides gras polyinsaturés w-3 a été rapporté aussi chez le rat (83) où on a observé une diminution des taux de triglycérides des VLDL de même qu'une diminution des concentrations plasmatiques de chylomicrons en phase post-prandiale (23). C

a aussi observé une baisse de la cholestérolémie totale suite à un régime contenant de l'huile de poisson plutôt que du lard (20).

Des études effectuées chez le rat indiquent que l'effet hypotriglycéridémiant des acides gras w-3 pourrait être consécutif à une diminution de la synthèse hépatique des VLDL, laquelle serait secondaire à une diminution de la disponibilité des acides gras pour la synthèse de ces lipoprotéines (20, 23, 83). La sécrétion des VLDL pourrait aussi être directement affectée (83). En plus, il a été suggéré qu'une augmentation de la dégradation des VLDL et des chylomicrons par la LPL puisse être impliquée. En effet, on a noté une augmentation de l'activité de la LPL au cœur et au muscle squelettique chez des rats nourris avec un régime contenant de l'huile de poisson plutôt que de l'huile de maïs (84), ainsi qu'une forte corrélation entre l'activité de la LPL au muscle squelettique et les taux plasmatiques de triglycérides (20). Cet effet des acides gras w-3 sur l'activité de la LPL pourrait être médié par les taux d'insuline plasmatiques, une corrélation positive ayant été observée entre l'insulinémie et les taux plasmatiques de triglycérides (20). Toutefois, une étude effectuée chez l'humain suite à des repas tests n'a pu permettre d'établir un lien entre l'activité post-héparine de la LPL et les concentrations plasmatiques d'insuline (150). La durée d'exposition aux acides gras w-3 pourrait donc jouer un rôle dans la modulation de leurs effets sur l'activité de la LPL et la sensibilité à l'insuline.

2.3.2 Effets sur l'insulinémie

L'intérêt d'étudier l'impact des lipides alimentaires sur l'insulinémie réside dans le fait qu'ils peuvent favoriser ou prévenir l'apparition de la résistance à l'insuline. Un apport élevé en lipides est corrélé à une diminution de la sensibilité à l'insuline (151) et à une augmentation des taux d'insuline à jeun (152). Outre l'apport total en lipides, la composition spécifique du régime en acides gras pourrait aussi influencer la sensibilité à l'insuline. C'est ce qui fera l'objet de prochains paragraphes.

2.3.2.1 Cholestérol alimentaire

L'effet du cholestérol sur le métabolisme glycémique n'est pas bien établi. D'après les résultats d'une étude épidémiologique, les hommes atteints de diabète présentaient, vingt ans avant le diagnostic, une consommation de cholestérol plus élevée que les hommes normaux ou ceux atteints seulement d'une modification de la tolérance au glucose (153). On a aussi observé chez des hommes non diabétiques atteints de maladie coronarienne, une corrélation positive entre l'apport en cholestérol et les taux d'insuline, à jeun ou après un test d'hyperglycémie.

provoquée par voie orale (153). Selon Beynen, le niveau de cholestérol plasmatique pourrait même être un déterminant de la tolérance au glucose (154). Cependant, d'autres études n'ont montré aucune association entre l'hypercholestérolémie isolée et la résistance à l'insuline (155) ou entre le cholestérol alimentaire et les indices d'hyperinsulinémie (156). Aucun mécanisme biologique valable ne permet pour l'instant de relier directement la résistance à l'insuline à la consommation de cholestérol. Ainsi, il se pourrait que l'apport en cholestérol ne soit qu'un indicateur de la consommation en acides gras saturés, et qu'il n'ait pas de rôle propre à jouer dans le développement de la résistance à l'insuline (153).

2.3.2.2 Acides gras saturés

Bien que les études ne concordent pas toutes à ce sujet, il semble que les acides gras saturés favorisent le développement de la résistance à l'insuline. En effet, selon certaines données épidémiologiques, un apport élevé en acides gras saturés serait associé à une diminution de la tolérance au glucose (89). On a aussi observé une corrélation positive entre l'apport en acides gras saturés et les taux d'insuline après un test d'hyperglycémie provoquée par voie orale (153, 156). La consommation en acides gras saturés serait en fait un facteur de prédiction de concentrations plasmatiques d'insuline à jeun et en phase post-prandiale (152). De plus, il existe une association positive entre l'incidence du diabète et la consommation d'acides gras saturés (157). On a aussi constaté que les hommes qui développent un diabète présentaient plusieurs années avant le diagnostic de la maladie, des taux sériques d'acides gras saturés dans les esters de cholestérol (158) et un apport en acides gras saturés (153) plus élevés que chez ceux qui restent normoglycémiques.

Des études effectuées chez l'animal ont mené aux observations suivantes: un régime riche en acides gras saturés induit une diminution de la tolérance au glucose (159) et une résistance à l'insuline chez le rat (87, 90). Cela est associé à une diminution de la sensibilité du muscle soléus à l'action de l'insuline (159). In vitro, une exposition prolongée des adipocytes à du palmitate entraîne aussi une résistance à l'insuline (160).

Les mécanismes impliqués dans l'effet insulino-résistant des acides gras saturés sont encore hypothétiques. Les acides gras saturés entraîneraient, entre autres, une diminution du nombre de récepteurs à l'insuline (161) et de la liaison de cette hormone aux adipocytes (162), ainsi qu'une diminution du transport du glucose et de la capacité à l'oxyder et le métaboliser (161, 163).

2.3.2.3 Acides gras monoinsaturés

La plupart des études portant sur la relation entre l'apport en acides gras monoinsaturés et le métabolisme glucidique ont été effectuées chez les diabétiques. Dans ce cas, un régime riche en acides gras monoinsaturés (huile d'olive et/ou avocat) permet le maintien d'un contrôle glycémique adéquat, au même titre que le régime riche en glucides complexes habituellement recommandé (164, 165). Certaines études ont même mis en évidence une diminution de la glycémie suite à un régime riche en acides gras monoinsaturés en comparaison d'un régime riche en glucides complexes, avec (166) ou sans (167, 168) diminution des taux d'insuline plasmatiques. Ainsi, en général on n'a noté aucun effet néfaste des acides gras monoinsaturés sur le métabolisme glucidique, et même un effet bénéfique dans certains cas. Par contre, les études épidémiologiques de Feskens et al ont mis en évidence une corrélation positive entre l'apport en acides gras monoinsaturés et les niveaux plasmatiques de peptide C (Indicateur de résistance à l'insuline et d'hyperinsulinémie) chez des individus non diabétiques (156), ainsi qu'une consommation plus élevée d'acides gras monoinsaturés chez les hommes qui développent un diabète en comparaison de ceux qui restent normoglycémiques (153).

2.3.2.4 Acides gras polyinsaturés

Des données épidémiologiques montrent que la consommation d'aliments riches en acides gras polyinsaturés diminue l'incidence du diabète sucré (169, 170, 171) et que l'apport en acides gras polyinsaturés est inversement associé, chez les individus âgés, aux taux d'insuline plasmatiques (156). De plus, un régime riche en lipides dont la proportion en acides gras polyinsaturés est élevée favorise une augmentation de la liaison de l'insuline aux adipocytes de rats normaux (172, 173) ainsi qu'une augmentation du transport et de l'utilisation du glucose par les adipocytes de rats normaux et diabétiques (173). Il convient cependant de différencier les effets de deux classes d'acides gras polyinsaturés, les acides gras w-6 et les acides gras w-3.

2.3.2.4.1 Acides gras polyinsaturés w-6

En ce qui concerne les acides gras polyinsaturés w-6, les études effectuées chez le rat montrent pour la plupart des effets bénéfiques sur le métabolisme du glucose. Comparativement aux acides gras saturés, les acides gras polyinsaturés entraînent une augmentation de l'utilisation périphérique du glucose (174, 175) et une diminution des

concentrations plasmatiques d'insuline à jeun (175). Cet effet bénéfique des acides gras w-6 dépend de la proportion de lipides dans le régime: un régime contenant 30% d'huile de tournesol améliore la tolérance au glucose et la sensibilité à l'insuline, mais lorsque la quantité totale de lipides est doublée, il y a détérioration de la tolérance au glucose (159). Si la teneur en lipides est diminuée à 6% chez des rats diabétiques, les acides gras w-6 n'ont aucun effet bénéfique sur le nombre de récepteurs et l'affinité de liaison des adipocytes à l'insuline, ni sur le transport et l'utilisation du glucose par les cellules adipeuses, lorsque comparés aux acides gras saturés (176). Chez l'humain, il est plus difficile de mettre en évidence un effet bénéfique des acides gras polyinsaturés w-6. À court terme, les acides gras w-6 entraînent la même réponse insulínique en phase post-prandiale que les acides gras saturés (150). Chez les diabétiques, on a observé des proportions plus faibles d'acide linoléique dans le sérum dix ans avant le diagnostic (158), mais aucun effet bénéfique d'un régime enrichi en acide linoléique sur le contrôle glycémique n'a pu être mis en évidence, malgré une petite augmentation de l'utilisation du glucose modulée par l'insuline (177).

Les mécanismes par lesquels la consommation d'acides gras polyinsaturés w-6 pourrait favoriser une amélioration de la sensibilité à l'insuline ne sont pas clairs. Une augmentation de la proportion de ces acides gras dans les phospholipides musculaires pourrait être en cause (178). Il pourrait aussi s'agir simplement d'une diminution simultanée de la proportion d'acides gras saturés dans les régimes riches en acides gras polyinsaturés (175).

2.3.2.4.2 Acides gras polyinsaturés w-3

Les acides gras polyinsaturés w-3 n'auraient pas d'effets néfastes, et pourraient même être bénéfiques pour le métabolisme glucidique des individus normaux ou atteints de maladie coronarienne, mais en ce qui a trait aux sujets diabétiques, cela est controversé.

Chez le rat normal, les acides gras w-3 ont des effets désirables, en comparaison des acides gras monoinsaturés et saturés: accélération de l'utilisation métabolique du glucose, diminution des concentrations plasmatiques d'insuline à jeun (175) et prévention du développement de la résistance à l'insuline au niveau du muscle squelettique (87) en favorisant la liaison de l'insuline au sarcolemme, sans doute par un changement de la composition des phospholipides entourant le récepteur à l'insuline (179). En comparaison des acides gras w-6, les effets bénéfiques des acides gras w-3 pourraient être comparables, ou même supérieurs: sécrétion d'insuline équivalente (180) ou diminuée, et même taux d'utilisation du glucose (175). De plus, le

acides gras w-3 pourraient aider à prévenir la résistance à l'insuline normalement induite par régime riche en lipides (87, 181).

2.4. EFFET DES PROTÉINES ALIMENTAIRES SUR LES MÉTABOLISMES LIPIDIQUE ET GLUCIDIQUE

2.4.1 Effet sur les lipides plasmatiques

2.4.1.1 Caséine et protéine de soya

Le rôle possible des protéines alimentaires dans le développement de l'athérosclérose a été soulevé au début du siècle par Ignatowsky (183) suite à la mise en évidence de lésions artérielles chez des lapins nourris avec des régimes riches en protéines animales. Plus tard, des études épidémiologiques effectuées chez l'humain ont montré une corrélation positive entre la consommation de protéines animales dans différents pays et la mortalité par maladie coronarienne (2, 182).

Il est maintenant généralement admis que les protéines d'origine végétale sont associées à des taux de cholestérol sérique plus faibles que les protéines d'origine animale (183, 184). En effet, chez des lapins recevant un régime purifié exempt de cholestérol, le remplacement de la protéine de soya par la caséine entraîne une augmentation de la cholestérolémie (185, 186). Il semble que l'effet hypercholestérolémiant de la caséine en comparaison de la protéine de soya se traduise d'abord par une élévation du C-LDL (186, 187), mais aussi, lors d'une exposition prolongée au régime, par une élévation du C-VLDL (187) et du C-HDL (188). L'effet hypocholestérolémiant de la protéine de soya, par opposition à la caséine, a été observé aussi chez le rat, où il se traduit par une diminution de la cholestérolémie totale, du C-HDL (les HDL étant les principales lipoprotéines transporteuses du cholestérol chez le rat) ainsi que du C-LDL et du C-VLDL (4, 5). Chez l'humain en santé, il est plus difficile de mettre en évidence l'effet hypocholestérolémiant des protéines d'origine végétale. En effet, bien que Carroll et al aient observé des niveaux de cholestérol plasmatique plus élevés suite à la consommation de protéines animales plutôt que végétales (189), d'autres études n'ont montré aucune diminution de la cholestérolémie totale avec la protéine de soya lorsque comparée à la caséine, mais une légère diminution du C-LDL et une augmentation du C-HDL (6, 7). Ce pouvoir antiathérogénique de la protéine de soya serait plus manifeste lorsque l'apport alimentaire en cholestérol est élevé (8, 190), ainsi que chez les sujets hyperlipémiques, où on a observé une diminution de la cholestérolémie totale et du C-LDL (191, 192, 193).

Quant aux effets de la protéine de soya et de la caséine sur les taux de triglycérides sériques, ils sont moins bien établis. Chez le lapin, on a noté un effet hypertriglycéridémiant ou hypotriglycéridémiant de la protéine de soya comparativement à la caséine selon que le

régime contenait du dextrose et peu de lipides ($\leq 4\%$) (194, 195) ou une quantité plus élevée d'acides gras saturés ($\geq 9\%$) (196). Chez le hamster, un régime à base de protéine de soya entraîné des taux de triglycérides plasmatiques inférieurs à ceux obtenus avec un régime base de caséine, mais les différences observées n'étaient pas statistiquement significatives (197). Chez l'humain hyperlipémique cependant, il semble que la protéine de soya entraîne une diminution significative des triglycérides sériques lorsque comparée à la caséine (198, 199).

2.4.1.2 Protéine de poisson

Les effets de la protéine de poisson sur les taux de cholestérol sérique varient d'une étude à l'autre. Cela pourrait être dû aux différentes quantités de lipides et de cholestérol contenues dans le régime.

Chez le lapin, il semble que la proportion et le type de lipides alimentaires aient un rôle important à jouer dans la modulation des effets de la protéine de poisson sur la cholestérolémie. En effet, lorsque la protéine de poisson fait partie d'un régime pauvre en lipides (1% d'huile de maïs), elle aurait un effet hypercholestérolémiant semblable à celui de la caséine, comparativement à la protéine de soya (200). Par contre, lorsque l'apport en lipides est élevé, la protéine de poisson aurait un effet hypocholestérolémiant relativement à la caséine si la composition lipidique du régime alimentaire favorise initialement l'hypercholestérolémie chez le lapin, c'est-à-dire si le régime contient des acides gras saturés (14% d'huile de coco) (201) ou du cholestérol (11% d'huile de maïs et 0.06% de cholestérol) (22). Cependant, en présence d'une proportion élevée d'acides gras polyinsaturés (11% d'huile de maïs) (19), on a observé le même effet qu'en présence d'une faible proportion de lipides polyinsaturés (1% d'huile de maïs) (200), soit des niveaux de cholestérol sérique semblables après la consommation de protéine de poisson et de caséine (19). Enfin, lorsque l'apport lipidique est modéré (5% de lipides dont 4% d'huile de coco et 1% d'huile de maïs), l'effet de la protéine de poisson serait intermédiaire à celui de la caséine et de la protéine de soya (201). Il faut noter cependant que, malgré des effets variables sur la cholestérolémie totale selon l'apport lipidique, la protéine de poisson favorise une hausse du C-HDL chez le lapin quel que soit le contenu en lipides du régime purifié, et ce, comparativement à la caséine (19, 201, 202) et à la protéine de soya (19, 202).

Des observations semblables ont été faites chez le rat. Incorporée à un régime pauvre en lipides (1% d'huile de maïs), la protéine de poisson aurait un effet hypercholestérolémiant similaire à celui de la caséine, lorsque comparée à la protéine de soya (91). Par contre, en présence de cholestérol et d'une proportion relativement élevée de lipides saturés (7% d'huile

de coco et 1% d'huile de maïs (18) ou 9% d'huile de coco et environ 1% d'huile de maïs (203), la protéine de poisson, lorsque comparée à la caséine, entraînerait une diminution de la cholestérolémie totale semblable à celle induite par la protéine de soya. Cet effet hypocholestérolémiant serait plus marqué si la proportion de protéine de poisson dans le régime est accrue (203).

Quant aux effets de la protéine de poisson sur la cholestérolémie chez l'humain, ils ont été étudiés à l'aide de régimes contrôlés contenant soit du poisson maigre (dont le constituant majeur est la protéine de poisson), soit des protéines d'origine animale (boeuf, porc, oeufs et produits laitiers) (204, 205). Chez des femmes post-ménopausées dont certaines étaient hypercholestérolémiques (type IIa) (204), ainsi que chez des femmes préménopausées normolipémiques (205), le régime de poisson maigre a favorisé après quatre semaines le maintien de concentrations élevées de cholestérol sérique total, C-HDL et apoB des LDL comparativement au régime à base d'autres protéines d'origine animale qui les a abaissées.

Pour ce qui est de l'influence de la protéine de poisson sur la triglycéridémie, elle varie aussi selon les études. Chez le lapin, la protéine de poisson pourrait entraîner des concentrations de triglycérides sériques semblables ou supérieures à celles obtenues avec la caséine, selon que le régime contient du sucrose et une quantité élevée (14%) de lipides (201) ou de la fécule de maïs et une quantité modérée de lipides (5%) (202). Par contre, chez le rat, on a observé avec la protéine de poisson des taux de triglycérides sériques équivalents à ceux induits par la protéine de soya, et inférieurs à ceux engendrés par la caséine (18). De même, chez l'humain, l'étude de Gascon et al (205) a mis en évidence une diminution des niveaux de triglycérides sériques dans les VLDL suite au régime de poisson maigre comparativement au régime à base d'autres protéines animales. Cependant, cet effet pourrait aussi être dû à la présence d'acides gras polyinsaturés w-3 dans le régime de poisson (205).

En résumé, malgré des effets variables de la protéine de poisson sur la cholestérolémie totale et la triglycéridémie, dépendamment du type de sujets étudiés et de la composition du régime, dans la majorité des cas où le profil lipoprotéique a été étudié, on a observé une augmentation du C-HDL avec la protéine de poisson comparativement à la caséine (201, 202, 206), aux autres protéines animales (204, 205) et à la protéine de soya (202, 206).

2.4.2 Effet sur les lipides hépatiques

2.4.2.1 Caséine et protéine de soya

Les études effectuées chez l'animal ont permis d'investiguer les effets de la consommation de caséine et de protéine de soya sur les taux de lipides hépatiques. Bien qu'une étude n'ait pu corroborer ces observations (202), l'hypercholestérolémie induite par la caséine chez le lapin comparativement à la protéine de soya, pourrait être associée à une absorption accrue de cholestérol ainsi qu'à une augmentation de la concentration de cholestérol au foie (185, 196). Chez le rat, l'effet hypercholestérolémiant de la caséine en comparaison de la protéine de soya serait aussi accompagné d'une hausse des taux de cholestérol hépatique (207). En ce qui concerne les triglycérides hépatiques, aucune différence de concentration n'a été observée chez le lapin suite à la consommation de caséine ou de protéine de soya, malgré une hausse des triglycérides sériques induite par la caséine (196). Toutefois, on a observé chez le rat des taux de triglycérides au foie plus élevés suite au régime contenant de la caséine qu'après un régime à base de protéine de soya (208).

2.4.2.2 Protéine de poisson

Il semble que la protéine de poisson favorise chez le lapin, en comparaison de la caséine, une diminution des concentrations de cholestérol hépatique similaire à celle causée par la consommation de protéine de soya (209). Chez le rat, par contre cet effet n'est pas toujours observé. Bien qu'une étude ait suggéré que la baisse des concentrations hépatiques de cholestérol pourrait être proportionnelle au pourcentage de ces protéines dans le régime (203), une autre étude n'a montré aucune diminution des concentrations hépatiques de cholestérol après la consommation de protéine de poisson (18). Chez le lapin, malgré l'hypertriglycéridémie provoquée par la protéine de poisson, les niveaux de triglycérides hépatiques consécutifs à la consommation de protéine de morue seraient semblables à ceux obtenus après la consommation de caséine, et inférieurs à ceux engendrés par la protéine de soya (202). Cependant, chez le rat, la protéine de poisson favoriserait des concentrations hépatiques de triglycérides aussi élevées que celles obtenues avec la caséine, et supérieures à celles produites par la protéine de soya (208).

2.4.3 Mécanismes d'action des protéines alimentaires sur le métabolisme lipidique

2.4.3.1 Caséine et protéine de soya

Bien que l'effet hypercholestérolémiant de la caséine en comparaison de la protéine de soya soit bien reconnu, les mécanismes d'action par lesquels les protéines alimentaires affectent le métabolisme lipidique ne sont pas encore totalement élucidés. Les hypothèses émises peuvent être regroupées en deux classes: celles qui soutiennent que l'effet des protéines a lieu au niveau gastro-intestinal, et celles qui impliquent des voies métaboliques post-absorptives.

2.4.3.1.1 Hypothèse gastro-intestinale

Selon cette hypothèse, c'est au niveau de la circulation entérohépatique du cholestérol et des acides biliaires que se situerait l'effet des protéines alimentaires (210). Des études effectuées chez l'animal ont montré que, contrairement à la protéine de soya, la caséine stimule l'absorption intestinale du cholestérol (185, 211) et des acides biliaires (212), et diminue l'excrétion fécale de ces derniers (213). L'état de phosphorylation de la caséine (214) et sa digestibilité supérieure à celle de la protéine de soya (215) pourraient être en partie responsables de ces effets. Il s'ensuivrait un transport accru de cholestérol et d'acides biliaires de l'intestin vers le foie, et donc une augmentation de la concentration de cholestérol hépatique, ce qui a d'ailleurs été observé chez des lapins nourris de caséine plutôt que de protéine de soya (185, 196). Suite à la hausse de cholestérol hépatique, la synthèse endogène de cholestérol serait inhibée. En effet, on a démontré chez le lapin (185) et chez le rat (211, 216) une diminution significative de l'activité de la HMG-CoA réductase (3-hydroxy-3-méthylglutaryl CoA réductase) suite à un régime à base de caséine comparativement à un régime à base de protéine de soya. Cela serait accompagné, du moins chez le lapin, d'une diminution du nombre et/ou de l'activité des récepteurs des LDL au foie (186, 217, 218). Enfin, il semble que la caséine favorise chez le lapin, en comparaison de la protéine de soya, la synthèse d'apoB des LDL (219).

2.4.3.1.2 Hypothèse post-absorptive

Cette hypothèse stipule que les acides aminés et peptides libérés lors de la digestion des protéines affectent le métabolisme du cholestérol en modulant les concentrations d'hormones impliquées dans sa régulation (210, 220). On ne sait pas encore avec certitude quels sont les acides aminés ou groupes d'acides aminés impliqués. Certains acides aminés, pris

individuellement, auraient une action hypercholestérolémiante (méthionine, tyrosine, histidine et lysine), alors que d'autres seraient hypocholestérolémiants (glycine, alanine et arginine) (201, 221, 222, 223). Par exemple, l'ajout de méthionine à un régime de protéine de soya provoque chez le lapin une augmentation des taux de cholestérol sérique (200). Chez le rat, les variations de concentrations plasmatiques de glycine et d'alanine, suite à la consommation de protéine de soya et de caséine, pourraient aussi être responsables des différences de cholestérolémie engendrées par ces deux protéines (224). De plus, il se pourrait que le contenu élevé de la caséine en acides aminés essentiels soit impliqué dans l'action hypercholestérolémiante de cette protéine chez le lapin (225). Le rapport lysine/arginine plus élevé pour la caséine que pour la protéine de soya pourrait aussi jouer un rôle dans la modulation de la cholestérolémie (201). En effet, on a observé chez le rat une corrélation positive entre le rapport lysine/arginine et les taux de cholestérol plasmatiques (91).

Les acides aminés ainsi libérés dans la circulation pourraient affecter la sécrétion d'hormones impliquées dans la régulation du métabolisme du cholestérol. Chez le rat (92, 226) et l'humain (94, 223, 240), on a noté des niveaux plasmatiques d'insuline et un rapport insuline/glucagon plus élevés suite à un régime à base de caséine qu'après un régime à base de protéine de soya. Or, l'insuline et le glucagon modulent l'activité de la HMG CoA réductase au foie (227), et une augmentation du rapport insuline/glucagon favorise une augmentation de la lipogénèse (94, 227) et l'hypercholestérolémie (82). Il se pourrait donc que l'effet hypercholestérolémiant de la caséine soit dû en partie à un rapport insuline/glucagon élevé. D'ailleurs, Sanchez et Hubbard (223) ont proposé que le rapport insuline/glucagon puisse être un indice métabolique précoce de l'effet des protéines alimentaires sur les taux de cholestérol et un facteur de risque des maladies cardiovasculaires.

La thyroxine (T4) (228) et les oestrogènes (229) sont d'autres hormones possiblement impliquées dans l'effet des protéines alimentaires sur le métabolisme lipidique. En effet, une hausse des concentrations plasmatiques de T4, telle qu'observée chez la gerboise après la consommation de protéine de soya (230), pourrait être responsable des différentes modifications métaboliques observées chez les animaux nourris de protéine de soya, par exemple l'augmentation de la synthèse hépatique du cholestérol par hausse de l'activité de la HMG CoA réductase (231). Enfin, des études effectuées chez le singe suggèrent que les oestrogènes contenus dans la protéine de soya (232) seraient responsables de 60 à 70% de l'effet hypocholestérolémiant de cette protéine (229).

2.4.3.2 Protéine de poisson

Bien qu'on attribue à la protéine de poisson des effets sur le métabolisme lipidique, dont une élévation du C-HDL comparativement aux autres protéines alimentaires, les mécanismes impliqués sont encore méconnus.

2.4.3.2.1 Hypothèse gastro-intestinale

Les études montrent des effets variables de la protéine de poisson sur la circulation entérohépatique du cholestérol et des acides biliaires: chez le rat, on a observé dans certains cas une augmentation de l'excrétion fécale de stérols neutres avec la protéine de poisson par opposition à la caséine (91, 233), ainsi qu'une augmentation (233) ou une diminution (205) de l'excrétion des acides biliaires, alors qu'une autre étude n'a montré aucun effet de la protéine de poisson sur ces deux paramètres (234).

2.4.3.2.2 Hypothèse post-absorptive

De façon similaire à la protéine de soya, on a imputé au faible rapport lysine/arginine de la protéine de poisson (1.44), comparativement à celui de la caséine (1.89), son effet sur l'hypercholestérolémie chez le lapin (201). Cependant, on n'a pas réussi à établir un tel lien entre le rapport lysine/arginine et les taux de cholestérol sérique chez le rat (235). Il se pourrait aussi que le contenu élevé de la protéine de poisson en acides aminés essentiels, lysine et méthionine, lesquels ont un effet hypercholestérolémiant chez le lapin (225, 236), soit responsable en partie de l'hypercholestérolémie observée dans certains cas suite à un régime de protéine de poisson.

Chez le lapin, l'élévation des HDL et la diminution des taux de triglycérides des VLDL observées avec la protéine de poisson comparativement à la protéine de soya seraient liées à une augmentation de l'activité de la LPL (21, 206). Bien qu'une hausse de l'activité de cette enzyme soit favorisée par une augmentation des taux d'insuline plasmatique (59), le mécanisme par lequel la protéine de poisson module l'activité de la LPL ne semble pas être lié à une modification des concentrations plasmatiques d'insuline à jeun (21). Chez le rat cependant, on a mis en évidence en phase post-prandiale un rapport insuline/glucagon plus élevé suite à l'ingestion de protéine de poisson que de caséine ou de protéine de soya (18). Ainsi, la hausse des concentrations de cholestérol et de triglycérides hépatiques observée chez cet animal avec la protéine de poisson en comparaison de la protéine de soya pourrait être due à

l'élévation du rapport insuline/glucagon (18), cette dernière favorisant la lipogénèse au foie (73).

2.4.4 Effets sur l'insulinémie

2.4.4.1 Caséine et protéine de soya

Selon l'hypothèse post-absorptive, les protéines alimentaires modèleraient les taux sériques de certaines hormones, notamment l'insuline et le glucagon. Nosedà et Fragiàcomo ont été les premiers à mettre en évidence un tel effet: chez des humains hypercholestérolémiques (type II), le remplacement des protéines animales du régime habituel par de la protéine de soya entraînè, après huit semaines, une augmentation significative des taux plasmatiques de glucagon et une diminution du rapport insuline/glucagon, l'insulinémie ètant restée la mème (237). Plus tard, Hubbard et al ont observè un rapport insuline/glucagon plus èlevè deux heures après un repas à base de caséine qu'après un repas à base de protéine de soya et ce, aussi chez des sujets normaux qu'hyperlipidiques (93, 94). La protéine de soya avait entraînè une augmentation de la glucagonémie comparativement à la caséine, alors que cette dernière avait favorisè une augmentation de l'insulinémie (94). De mème, chez des sujets intolérants au glucose, les taux plasmatiques d'insuline deux heures après l'ingestion d'un repas à base de caséine étaient beaucoup plus èlevés qu'après un repas à base de protéine de soya, et le rapport insuline/glucagon beaucoup plus haut. Les auteurs ont d'ailleurs suggèrè qu'un repas test à base de caséine puisse ètre utilisè pour le diagnostic préclinique du diabète de type II (238).

Des modifications du métabolisme glucidique en réponse aux protéines alimentaires ont èté observées aussi chez le rat, où les protéines végétales étaient associées, comparativement aux protéines animales, à une diminution de l'insulinémie et de la glycémie à jeun, mais sans augmentation significative des taux plasmatiques de glucagon (91). On a aussi notè une insulinémie et une glycémie plus èlevées à jeun (18, 92, 226, 239) et en phase post-prandiale (23) chez des rats nourris de caséine, comparativement à ceux nourris de protéine de soya. En plus, des ètudes effectuées avec des foies de rats perfusés ont montrè une plus grande sècrètion de glucose dans le cas de rats nourris avec de la protéine de soya plutòt que de caséine (240), suggèrant certaines modifications du métabolisme du glucose au niveau de gluconéogènèse et de la glycogénolyse (223, 240). D'ailleurs, bien que la diffèrence n'était pas significative ($p < 0.08$), Montminy et al ont observè des rèserves hépatiques de glycogène plus

grandes trois heures après un repas contenant des protéines d'origine animale qu'après un repas à base de protéine de soya (241).

2.4.4.2 Protéine de poisson

Peu d'études ont porté sur la modulation de l'insulinémie par la protéine de poisson. Bielecki et al. (91) ont observé chez le rat à jeun une augmentation de la glycémie et du rapport insuline/glucagon avec l'ensemble des protéines animales comparativement à l'ensemble des protéines végétales étudiées. Sugano et al n'ont pu mettre en évidence aucune différence significative entre les effets de la caséine et de la sardine sur ces deux paramètres (91). Cependant, une étude subséquente (18) comparant les effets de la caséine, de la protéine de soya et de la protéine de morue a mené aux observations suivantes: une glycémie à jeun équivalente suite à un régime de protéine de morue ou de soya, et inférieure à celle obtenue suite à un régime à base de caséine, sans effet protéique toutefois sur l'insulinémie, le glucagonémie et le rapport insuline/glucagon, suggérant une augmentation de la sensibilité à l'insuline avec les protéines de morue et de soya en comparaison de la caséine. Par contre, en phase post-prandiale, aucun effet protéique significatif sur la glycémie n'a été noté, mais une hausse de l'insulinémie et du rapport insuline/glucagon suite à la consommation de protéine de morue plutôt que de protéine de soya. Dans les deux cas, il n'y avait aucune différence significative des réserves hépatiques de glycogène (18). Pour ce qui est de l'insulinémie chez le lapin à jeun, on a obtenu des résultats semblables à ceux produits chez le rat, soit aucun effet de la protéine de morue comparativement à la protéine de soya (21). L'effet de la caséine sur les autres paramètres du métabolisme glucidique n'ont toutefois pas fait l'objet de cette étude (21). Enfin, chez l'humain, aucune différence significative des taux de glucose et d'insuline plasmatiques n'a été mise en évidence suite à la consommation d'un repas de poisson lorsque comparé à des repas à base de boeuf ou de poulet (242).

2.4.5 Mécanisme d'action des protéines alimentaires sur l'insulinémie

2.4.5.1 Caséine et protéine de soya

Pour expliquer l'effet des protéines alimentaires sur le métabolisme du cholestérol, Sanchez et al ont suggéré que les taux d'acides aminés plasmatiques résultant de la digestion de protéines puissent moduler la sécrétion d'hormones telles que le glucagon et l'insuline (243). Ces hormones ayant un rôle primordial à jouer dans le métabolisme glucidique, il va sans dire que la réponse glycémique en sera affectée. Ainsi, la composition des protéines en acide

aminés serait un des facteurs impliqués dans la régulation de la glycémie (239). Parmi les différents acides aminés possiblement en cause, l'arginine aurait un rôle important à jouer: à dose élevée, il semble qu'elle soit l'acide aminé qui stimule le mieux la sécrétion d'insuline (240) et celle du glucagon (245). Par contre, aux niveaux présents dans les protéines alimentaires, l'arginine serait associée à une diminution des taux d'insuline et du rapport insuline/glucagon (93, 232). Ainsi, chez des patients traités de façon chronique avec un régime à base de protéine de soya, laquelle est relativement riche en arginine, on a mis en évidence une diminution du rapport insuline/glucagon dans le plasma (237). De plus, lorsque la caséine, qui contient relativement peu d'arginine comparativement à la protéine de soya, est supplémentée en cet acide aminé, on observe une augmentation des taux plasmatiques de glucagon chez le rat jeune, augmentation proportionnelle à la quantité d'arginine ajoutée (92). Il se pourrait aussi qu'il s'agisse de ce soit le rapport lysine/arginine qui module en partie la sécrétion de l'insuline et du glucagon. En effet, chez l'humain, un rapport lysine/arginine élevé dans le plasma après la consommation de caséine, comparativement à la protéine de soya (227), est associé à un rapport insuline/glucagon élevé (93). Cependant, l'ajout de lysine à la protéine de soya, dans le but d'augmenter le rapport lysine/arginine de cette protéine à un niveau semblable à celui de la caséine, n'a eu aucun effet sur la glycémie, l'insulinémie et la glucagonémie chez le rat (92). Cela pourrait être dû au fait que, outre l'arginine et la lysine, d'autres acides aminés, comme la glycine, seraient impliqués. Ainsi, chez l'humain hypercholestérolémique, la supplémentation de la caséine avec de l'arginine et de la glycine, en quantités semblables à celles retrouvées dans la protéine de soya, augmente les niveaux plasmatiques de ces deux acides aminés et diminue le rapport insuline/glucagon en phase post-prandiale. Le rapport insuline/glucagon obtenu dans ce cas est similaire à celui produit par la consommation d'un repas à base de protéine de soya (93). Des résultats semblables ont été observés chez le rat, soit une diminution du rapport insuline/glucagon chez les animaux ayant consommé de la caséine supplémentée en arginine et en glycine, en comparaison des rats nourris de caséine seulement (246).

Outre la composition en acides aminés des protéines alimentaires, la séquence des acides aminés et la structure protéique pourraient être importantes (238). De plus, les acides aminés et les peptides libérés durant la digestion protéique pourraient agir comme sécrétagogues de glucagon par le biais d'un mécanisme autre que l'augmentation des niveaux plasmatiques de certains acides aminés. En effet, l'apport protéique pourrait influencer la fonction des cellules alpha du pancréas en stimulant la libération d'hormones gastro-intestinales (247).

2.4.5.2 Protéine de morue

On a peu investigué les mécanismes par lesquels la protéine de poisson agirait sur les taux d'insuline sérique. Cependant, il a été suggéré que l'augmentation de l'insulinémie postprandiale observée chez les rats nourris de protéine de morue plutôt que de caséine ou de protéine de soya soit due au contenu élevé en leucine de la protéine de morue (206). En effet, la leucine est reconnue comme étant un sécrétagogue de l'insuline (248). Il se pourrait aussi que pendant la digestion de la protéine de morue, il y ait libération de peptides gastro-intestinaux stimulant la sécrétion de l'insuline (18).

2.5. INTERACTION ENTRE LES PROTÉINES ET LES LIPIDES ALIMENTAIRES

Jusqu'à maintenant, ce sont surtout les effets individuels des protéines et des lipides alimentaires sur le métabolisme lipidique qui ont été étudiés. Bien que les protéines et les lipides se retrouvent simultanément dans l'alimentation, peu d'études ont porté sur les effets combinés de ces deux nutriments, et sur leurs interactions possibles.

La majorité des données recueillies sur ce sujet ont été obtenues chez le lapin. Une étude effectuée par Carroll et Hamilton en 1975 (200), où on avait soumis les lapins à des régimes purifiés contenant de la protéine de soya ou de la caséine combinées à du beurre (riche en acide palmitique) et à du cholestérol ou à de l'huile de maïs (riche en AGP w-6) sans cholestérol, a montré que l'huile de maïs, comparativement au beurre, atténue l'effet hypercholestérolémiant de la caséine et que le beurre, comparativement à l'huile de maïs, diminue l'effet hypocholestérolémiant de la protéine de soya. Il en est ressorti que l'effet de protéines alimentaires sur la cholestérolémie pourrait être modulé par la nature des lipides présents dans le régime alimentaire (200). Cependant, les auteurs n'ont pas émis d'hypothèse quant à la ou les voies métaboliques qui pourraient être impliquées dans cette modulation. En ce qui concerne la réduction de l'effet hypercholestérolémiant de la caséine par l'huile de maïs, il pourrait s'expliquer en partie par les effets opposés des acides gras polyinsaturés w-6 comparativement à la caséine sur plusieurs paramètres du métabolisme lipidique. En effet, selon l'hypothèse gastrointestinale, l'hypercholestérolémie induite par la caséine pourrait résulter d'une augmentation de l'absorption intestinale du cholestérol (185, 211) et d'une diminution de l'excrétion fécale des acides biliaires (213). Les acides gras polyinsaturés w-6 pourraient contrecarrer cet effet en favorisant une hausse de l'excrétion des stérols (124). De plus, la consommation de caséine entraînerait une diminution du nombre et/ou de l'activité des récepteurs des LDL au foie (186, 217, 218), alors que les acides gras polyinsaturés w-6, en l'absence de cholestérol, pourraient induire une augmentation de l'activité de ces récepteurs (124, 146), diminuant ainsi l'effet indésirable de la caséine sur ce paramètre. La caséine favorise aussi la production des LDL en provoquant une hausse de la synthèse de l'apo B des LDL (219), alors que les acides gras polyinsaturés w-6, en l'absence de cholestérol, entraînent une diminution du taux de production et une augmentation du catabolisme de l'apo B (139). Enfin, pour ce qui est de l'hypothèse post-absorptive, la caséine et les acides gras polyinsaturés w-6 ont des effets contraires sur les concentrations plasmatiques d'insuline: comparativement à la protéine de soya, la caséine provoque une hausse de l'insulinémie (92, 226), laquelle favorise la lipogénèse au foie (94, 227) et l'hypercholestérolémie (82). Les acides gras polyinsaturés w-6, quant à eux, entraînent une baisse des niveaux d'insuline plasmatique lorsqu'on les compare

aux acides gras saturés (175). Quant à la diminution de l'effet hypocholestérolémiant de la protéine de soya par le beurre, les mêmes voies pourraient être impliquées. Alors que la protéine de soya diminue l'absorption du cholestérol (185, 211) et des acides biliaires (212), les acides gras saturés et le cholestérol favorisent dans certains cas une augmentation de l'absorption intestinale du cholestérol (130). De plus, la protéine de soya, comparativement à la caséine, entraîne une augmentation du nombre et ou de l'activité des récepteurs des LDL au foie (186, 217, 218), tandis que les acides gras saturés et le cholestérol provoquent une diminution de la synthèse (124) et de l'activité (118, 123) de ces récepteurs. Comparativement à la caséine la protéine de soya favorise une baisse de la synthèse des LDL en diminuant la synthèse de l'apo B (219), mais les acides gras saturés et le cholestérol augmentent la synthèse du C-LDL (123, 127). Enfin, la diminution de l'insulinémie favorisée par la protéine de soya (92, 226) pourrait être contrecarrée par l'effet des acides gras saturés qui favorisent le développement de la résistance à l'insuline (92, 90) et une hausse des concentrations sériques de cette hormone (152). C'est donc à tous ces niveaux métaboliques que pourrait avoir lieu l'interaction entre les protéines et les lipides alimentaires dans la modulation de la cholestérolémie.

Par la suite, Kritchevsky et al (249) ont observé que l'huile de soya (riche en acide linoléique) comparativement à l'huile de soya hydrogénée (riche en acide oléique, et comportant une certaine proportion d'acides gras saturés), entraîne chez le lapin une diminution des concentrations de cholestérol et de triglycérides sériques et hépatiques, et du C-VLDL, C-IDL et C-LDL lorsqu'elle est combinée à la caséine, mais non lorsqu'elle est combinée à la protéine de soya. Les résultats indiquaient aussi que la caséine serait hypercholestérolémiante relativement à la protéine de soya seulement en présence d'huile de soya hydrogénée. Les auteurs en ont conclu qu'une interaction devait exister entre les protéines et les lipides alimentaires dans la régulation du métabolisme du cholestérol chez le lapin (249). Encore une fois, aucune hypothèse n'a été émise quant au mécanisme possible de cette interaction. Pour ce qui est de l'effet hypocholestérolémiant et hypotriglycéridémiant de l'huile de soya lorsqu'elle est combinée à la caséine, mais non lorsqu'elle est combinée à la protéine de soya, cela pourrait s'expliquer en partie, bien que de façon très spéculative, par le fait que les acides gras polyinsaturés ω -6, comme l'acide linoléique, favorisent une diminution de la cholestérolémie (9, 11, 139) par des mécanismes communs à la protéine de soya (voir le paragraphe précédent). Ainsi, il est possible que la baisse de cholestérolémie entraînée par la protéine de soya masque l'effet hypocholestérolémiant de l'huile de soya, dont l'effet s'observerait seulement en présence de caséine. Il pourrait exister un seuil de cholestérolémie au dessous duquel une diminution supplémentaire ne pourrait être obtenue. Par contre, l'effet hypocholestérolémiant des acides gras polyinsaturés ω -6 de l'huile de soya a peut-être été

assez puissant dans cette étude pour contrecarrer l'effet hypercholestérolémiant de caséine, observé seulement en présence d'huile de soya hydrogénée. Un certain degré de saturation des lipides alimentaires pourrait donc favoriser l'effet hypercholestérolémiant de caséine.

Une autre équipe (250) a aussi étudié les effets de la caséine et de la protéine de soya en présence de deux sources lipidiques différentes, mais en utilisant cette fois de l'huile d'amande (riche en acide oléique) et du beurre (riche en acide palmitique). Bien qu'ayant identifié des effets indépendants des protéines alimentaires sur le C-LDL et des lipides alimentaires sur le cholestérol sérique total, le C-VLDL et le C-HDL, ils n'ont identifié aucune interaction protéines-lipides dans la régulation de la cholestérolémie. Cela est peut-être dû au fait que la teneur protéique du régime (20% dans cette étude vs 25%) et le type de lipides étudiés différaient de ceux utilisés par Kritchevsky et al (249). Par contre, on a observé chez les lapins nourris avec un régime contenant de la protéine de soya et du beurre des concentrations élevées de cholestérol sérique, ce qui suggère que des quantités élevées d'acides gras saturés pourraient contrecarrer l'effet hypocholestérolémiant de la protéine de soya (250), sans doute par les mécanismes qui ont été évoqués précédemment pour expliquer les résultats obtenus par Carroll et Hamilton (200). Il faut cependant mentionner que le contenu en cholestérol des gras d'origine animale comme le beurre pourrait être en partie responsable de cet effet (250).

Plus récemment, Bergeron et al (19) ont soumis des lapins à des régimes expérimentaux contenant de la caséine, de la protéine de soya ou de la protéine de morue comme source protéique, et de l'huile de maïs (riche en AGP n-6) ou de l'huile de coco (riche en AGS) comme source lipidique. Ils ont observé certains effets indépendants des protéines (effet hypercholestérolémiant de la caséine comparativement à la protéine de soya) et des lipides alimentaires (augmentation du C-VLDL et diminution du rapport C-LDL/C-HDL avec l'huile de coco en comparaison de l'huile de maïs), mais aussi une interaction protéines-lipides dans la modulation des taux de C-HDL. En effet, la protéine de morue avait favorisé le maintien de concentrations élevées de C-HDL quelle que soit la source lipidique, alors qu'une diminution de C-HDL avait été observée avec l'huile de maïs comparativement à l'huile de coco lorsqu'elle était combinée à la caséine ou à la protéine de soya (19). Il semble que les acides gras polyinsaturés w-6 (dont l'huile de maïs est une source importante) provoquent une diminution de C-HDL liée à une diminution de l'apo A1, lorsqu'on les compare aux acides gras saturés (11, 142) (contenus par exemple dans l'huile de coco). D'autre part, Bergeron et al ont montré dans une étude subséquente que la protéine de poisson pourrait favoriser une hausse des niveaux de C

HDL par une augmentation de l'activité de la LPL (21). Cet effet de la protéine de poisson pourrait donc être plus puissant que l'effet réducteur des acides gras polyinsaturés w-6, expliquant les concentrations élevées de C-HDL en présence d'huile de maïs lorsque combinée à la protéine de poisson. Une interaction protéines-lipides a aussi été observée dans la régulation des taux de cholestérol hépatique, soit une diminution avec l'huile de coco comparativement à l'huile de maïs lorsque combinée à la protéine de poisson, mais aucun effet de la source lipidique en présence de caséine ou de protéine de soya (19). Il apparaît donc que la protéine de poisson pourrait moduler les effets des lipides alimentaires dans la régulation de la cholestérolémie chez le lapin.

Une autre étude, menée par Bergeron et al (22) avait pour but de déterminer les effets de régimes à base de caséine, protéine de soya ou protéine de morue, combinées soit à de l'huile MaxEpa (source d'acides gras polyinsaturés w-3) ou à de l'huile de maïs (source d'acides gras polyinsaturés w-6) sur le métabolisme lipidique chez le lapin. Les résultats n'ont montré aucune interaction entre les protéines et les lipides alimentaires sur les différents paramètres lipidiques, mais des effets protéiques et lipidiques indépendants sur la cholestérolémie totale, le C-VLDL, le C-HDL, de même que sur le cholestérol hépatique. Entre autres, la protéine de poisson a entraîné des concentrations de cholestérol sérique total intermédiaires et significativement différentes de celles induites par la caséine et la protéine de soya. Contrairement à ce qui était attendu, l'huile MaxEpa a provoqué une hausse des triglycérides sériques totaux et des VLDL comparativement à l'huile de maïs (22). Or, les acides gras polyinsaturés w-3 (fournis ici par l'huile MaxEpa) ont un effet hypotriglycéridémiant reconnu chez le rat et chez l'humain, comparativement aux acides gras polyinsaturés w-6 (dont l'huile de maïs est une source importante) (251, 252, 253, 254). Les auteurs ont émis l'hypothèse que les niveaux de triglycérides sériques de base chez le lapin sont probablement trop bas pour qu'une diminution subséquente soit observable suite à la consommation d'acides gras polyinsaturés (222). Cela pourrait peut-être expliquer en partie l'absence d'interaction protéines-lipides observée dans cette étude, et suggère que le lapin pourrait ne pas être un modèle animal approprié pour l'étude de l'effet hypotriglycéridémiant des acides gras polyinsaturés w-3 tel qu'observé chez l'humain.

Chez le rat, une seule étude a été effectuée dans le but d'étudier les interactions entre protéines et lipides sur divers paramètres lipidiques. Ikeda et al (255) ont soumis des rats hypercholestérolémiques à des régimes variant selon la source protéique (caséine ou protéine de soya) et selon la source lipidique (huile de périlla riche en AGP w-3 ou huile de carthame riche en acide linoléique). Quelle que soit la source lipidique, l'effet hypocholestérolémiant de

la protéine de soya comparativement à la caséine était reproduit, suggérant l'absence d'une modulation des effets protéiques sur la cholestérolémie par les lipides étudiés. Cependant, l'absence d'interaction notée dans ce cas est peut-être due à la nature des lipides utilisés, qui étaient tous deux riches en AGP, alors que les études ayant montré ou suggéré une interaction chez le lapin avaient comparé une source d'AGP à une source d'AGM ou à une source d'AGS (22, 200, 255). Cependant, bien que l'analyse statistique effectuée par les auteurs n'ait pas permis d'identifier de façon précise les interactions protéines-lipides, les données obtenues montrent que l'huile de périlla a entraîné, comparativement à l'huile de carthame, une diminution plus marquée des taux de triglycérides hépatiques lorsqu'elle était combinée à la caséine que lorsqu'elle était combinée à la protéine de soya. Le même type d'effet a aussi été observé sur les taux de triglycérides plasmatiques, mais de façon beaucoup moins marquée (255). Il semble donc que les effets des AGP w-3 sur les concentrations de triglycérides hépatiques puissent être modulés chez le rat par la nature des protéines présentes dans le régime. Cette modulation pourrait se faire au niveau de la synthèse et de la sécrétion de triglycérides hépatiques, puisque les protéines alimentaires, aussi bien que les AGP w-3 ont des effets sur ces paramètres. On a montré chez le rat une diminution des concentrations hépatiques de triglycérides suite à la consommation de protéine de soya plutôt que de caséine (208). De plus, on sait que le principal effet des AGP w-3 est de réduire la synthèse et la sécrétion hépatique des triglycérides (20, 23, 83). Il se pourrait donc, comme dans le cas des effets de l'huile de soya sur la cholestérolémie lorsque combinée à la protéine de soya (voir plus haut l'hypothèse concernant les résultats obtenus par Kritchevsky et al (249) que l'effet réducteur des AGP w-3 sur les triglycérides hépatiques et sériques soit masqué par l'effet de la protéine de soya, et ne puisse être observé de façon significative qu'en présence de caséine. Ainsi, il se pourrait qu'en dessous d'un certain niveau de triglycérides hépatiques, aucune diminution supplémentaire ne soit observable (comme dans le cas de la protéine de soya) et qu'au dessus de ce niveau (ce qui serait le cas avec la caséine), on note une diminution des concentrations hépatiques de triglycérides en présence d'AGP w-3.

Il apparaît donc d'après ces études que les protéines et lipides alimentaires interagissent dans la modulation du métabolisme lipidique chez l'animal. D'autres études sont cependant nécessaires pour déterminer la nature de ces interactions, de même que les mécanismes par lesquels elles se produisent.

2.6. HYPOTHÈSE ET OBJECTIFS

L'effet hypotriglycéridémiant des acides gras polyinsaturés w-3 présents dans les huiles de poisson est bien connu (16, 256). C'est à lui qu'on a attribué en partie la diminution du risque de maladies cardiovasculaires chez les populations consommatrices de poisson (17). Cependant, il semble qu'un effet protecteur contre les maladies cardiovasculaires soit obtenu avec une consommation de 1 à 2 repas de poisson par semaine, c'est-à-dire avec des quantités assez faibles d'acides gras polyinsaturés w-3, et qu'une consommation accrue de poisson n'apporte aucun effet bénéfique supplémentaire. Il se pourrait donc qu'un autre nutriment présent dans le poisson, comme par exemple les protéines, puisse influencer l'effet hypotriglycéridémiant des acides gras polyinsaturés w-3. Une étude effectuée chez le lapin a montré que la protéine de morue contrecarrait l'effet hypocholestérolémiant des acides gras polyinsaturés w-6 qui était observé en présence de caséine ou de protéine de soya (19), suggérant que la protéine de morue puisse moduler les effets des lipides alimentaires sur le métabolisme lipidique. Comme la protéine de poisson se retrouve dans le poisson gras simultanément aux acides gras polyinsaturés w-3 de l'huile de poisson, il est nécessaire de vérifier si **la protéine de morue module les effets de l'huile de poisson sur le métabolisme lipidique différemment des autres protéines alimentaires.**

Afin de vérifier cette hypothèse, l'**objectif général** du protocole était donc d'**évaluer les effets respectifs et interactifs des protéines et des lipides alimentaires sur le métabolisme lipidique chez le rat.**

Trois protéines ont été choisies pour ce protocole, soient la caséine et la protéine de soya, comme représentantes classiques des protéines d'origine animale et végétale, et la protéine de morue, dont on voulait comparer les effets à ceux de la caséine et de la protéine de soya. Nous avons choisi comme sources lipidiques l'huile de menhaden, riche en acides gras polyinsaturés w-3, mais aussi, comme point de comparaison, l'huile de coco, riche en acides gras saturés reconnus pour leur effet hypercholestérolémiant (9).

Ainsi, le **premier objectif spécifique** consistait à déterminer les effets respectifs et interactifs des protéines (caséine, protéine de soya et protéine de morue) et des lipides alimentaires (huile de menhaden, comme source d'huile de poisson, et huile de coco) sur les concentrations de cholestérol et de triglycérides totaux et lipoprotéiques chez le rat à jeun et à l'état post-prandial.

Afin de clarifier le mécanisme par lequel le régime alimentaire peut affecter les taux de lipides sériques, nous avons voulu déterminer les effets respectifs et interactifs des protéines et de lipides alimentaires sur les concentrations de cholestérol et de triglycérides hépatiques chez le rat à jeun (**deuxième objectif spécifique**) de même que sur l'activité de la lipoprotéine lipase dans le tissu adipeux blanc, le muscle squelettique et le cœur chez le rat à jeun et à l'état post-prandial (**troisième objectif spécifique**).

Enfin, comme l'insuline est un modulateur important de l'activité de la LPL, le **quatrième objectif spécifique** visait à déterminer les effets respectifs et interactifs des protéines et des lipides alimentaires sur les concentrations sériques d'insuline et de glucose chez le rat à jeun et à l'état post-prandial.

CHAPITRE 3

DIETARY PROTEINS MODULATE THE EFFECT OF FISH OIL ON TRIGLYCERIDEMIA IN THE RAT

Ce chapitre correspond au texte d'un article qui sera soumis pour publication à la revue "Lipids". Les auteurs en sont Isabelle Demonty, Yves Deshaies et Hélène Jacques. Cet article décrit les effets sur le métabolisme lipidique chez le rat de trois protéines alimentaires, caséine, la protéine de soya et la protéine de morue lorsque combinées avec l'un ou l'autre de ces deux sources lipidiques: huile de coco ou huile de menhaden.

3.1 Résumé

Afin de vérifier les effets indépendants et interactifs des protéines et des lipides alimentaires sur les lipides sériques et hépatiques, ainsi que sur l'activité de la lipoprotéine lipase (LPL) tissulaire, des rats mâles de race Sprague-Dawley ont été nourris pendant 28 jours avec des régimes purifiés variant selon les sources protéiques (20%) et lipidiques (11%), soit: caséine-huile de menhaden, caséin-huile de coco, protéine de soya-huile de menhaden, protéine de soya-huile de coco, protéine de morue-huile de menhaden ou protéine de morue-huile de coco. La consommation alimentaire et le gain de poids étaient semblables pour tous les groupes expérimentaux. Chez les rats sacrifiés à jeun, les concentrations de cholestérol sérique total étaient plus faibles chez les rats nourris de protéine de soya et de protéine de morue que chez ceux nourris de caséine. Chez les rats sacrifiés en phase post-prandiale, par contre, la protéine de morue a entraîné une cholestérolémie totale semblable à celle induite par la caséine et plus élevée que celle obtenue après la consommation de protéine de soya. Une interaction significative a été observée entre les protéines et les lipides sur les taux de triglycérides sériques: l'huile de menhaden, comparativement à l'huile de coco, a entraîné une diminution des triglycérides sériques lorsque combinée à la protéine de soya, mais non lorsqu'elle est combinée à la protéine de morue et à la caséine. Quelle que soit la source lipidique, les taux de cholestérol hépatique étaient plus faibles après la consommation de protéine de soya qu'après la consommation de caséine. L'huile de menhaden, comparativement à l'huile de coco, de même que la protéine de soya, comparativement à la caséine, ont causé une diminution des triglycérides hépatiques. L'activité totale de la LPL au cœur était plus élevée en phase post-prandiale chez les rats nourris d'huile de menhaden que chez ceux nourris d'huile de coco, et une corrélation négative a été observée entre l'activité de la LPL au cœur et les concentrations sériques de triglycérides chez les rats à jeun et post-prandiaux. Chez les rats à jeun, la protéine de morue a augmenté l'activité de la LPL dans le tissu adipeux blanc, mais n'y avait pas de corrélation avec les concentrations sériques de triglycérides. En conclusion, les niveaux de triglycérides sériques plus faibles observés chez les rats nourris de protéine de soya-huile de menhaden pourraient résulter en partie d'une diminution des concentrations de lipides hépatiques avec la protéine de soya et l'huile de menhaden, et d'une augmentation de l'activité de la LPL au cœur avec l'huile de menhaden. L'absence d'effet hypotriglycéridémiant de l'huile de poisson lorsque combinée à la protéine de morue pourrait être attribuée à l'absence de diminution des triglycérides hépatiques lorsque l'huile de menhaden était combinée à la protéine de morue.

3.2 Abstract

In order to verify the independent and interactive effects of dietary proteins and lipids on serum and hepatic lipids, and on tissue lipoprotein lipase (LPL) activity, male Sprague-Dawley rats were fed purified diets varying in both protein (20%) and lipid (11%) content, and consisting of either casein-menhaden oil (CAMO), casein-coconut oil (CACO), soy protein-menhaden oil (SPMO), soy protein-coconut oil (SPCO), cod protein-menhaden oil (CPMO) or cod protein-coconut oil (CPCO) for 28 days. Food consumption and weight gain were similar in all diet groups. In fasted rats, serum cholesterol was lower in SP and CP fed rats than in CA fed rats. However, in fed rats, serum cholesterol was higher after CP and CA consumption than after SP consumption. A significant protein-lipid interaction was seen on serum triglyceride levels: MO compared with CO, induced a decrease in serum triglyceride levels when combined with SP but not when combined with CP and CA. Regardless of lipid origin, hepatic cholesterol was lower after SP consumption than after CA consumption. MO compared with CO and SP compared with CA induced a decrease in hepatic triglycerides. Total LPL activity in the heart was higher in MO fed rats than in CO fed rats in the postprandial state, and a negative correlation was seen between LPL activity in the heart and serum triglyceride levels of fasted and fed rats. In fasted rats, CP increased LPL activity in white adipose tissue, but there was no correlation with serum triglyceride concentrations. In conclusion, the lower serum triglyceride levels observed in the SPMO fed rats could be the result in part of decreased hepatic triglycerides with SP and MO and of increased LPL activity in the heart with MO. The lack of a hypotriglyceridemic effect of fish oil when combined with CP could be attributed to the absence of a reducing effect with MO on hepatic triglycerides when combined with CP.

3.3 Introduction

Intake of fish has been inversely associated with the risk of coronary heart disease (14, 15). These correlations with cardiovascular events appear to be mediated by the hypotriglyceridemic and antithrombogenic effects of n-3 polyunsaturated fatty acids present in fish oil (17). The reduction of plasma triglycerides has been attributed to a diminution of hepatic synthesis of very low-density lipoproteins (VLDL) (16) and to an increase of VLDL and chylomicron degradation by lipoprotein lipase (LPL) (20, 256). Indeed in rats, an increase of heart and skeletal muscle LPL activity has been observed after a diet containing fish oil compared with a diet containing corn oil (84), as well as a strong correlation between LPL activity in skeletal muscle and plasma triglyceride levels (20). Since there was a positive

correlation between insulinemia and plasma triglyceride levels (20), it is also possible that the hypotriglyceridemic effect of fish oil may be mediated by plasma insulin levels.

The impact of dietary fish protein, which is also a major nutrient in fish, has been examined less extensively. Studies in rats have shown a hypotriglyceridemic effect with fish protein but not with soy protein when compared with casein (18). However, fish protein has been shown to induce high concentrations of hepatic triglycerides similar to those observed with casein when compared to soy protein (18). Since the hypotriglyceridemic effect of fish oil is related to lower hepatic triglyceride synthesis (83), there is thus a possibility that fish protein may interact with fish oil and modulate its effects on serum triglycerides through their concentrations in the liver. Moreover, fish protein has been previously shown to interact with dietary lipids to modulate lipidemia. Indeed, our previous study in rabbits demonstrated that, when combined with fish protein, ω -6 polyunsaturated fatty acids do not reduce total and HDL-cholesterol as they do when combined with either casein or soy protein (19). An attempt has thus been made in rabbits to determine if such interactions between fish protein and ω -3 polyunsaturated fatty acids may modulate serum and hepatic lipid concentrations (22). However, when fish oil was combined to either casein, fish protein or soy protein, there was an increasing effect of fish oil on triglyceridemia when compared with corn oil, suggesting that the rabbit model we used was not the best animal model for studying the reducing effects of dietary ω -3 polyunsaturated fatty acids on triglyceridemia observed in humans (22). To verify the hypothesis that fish protein modulates fish oil effects on lipid metabolism differently than other dietary proteins, the present study was thus undertaken in the rat, whose triglyceridemic response to fish oil is comparable to the one of humans (20, 23).

The aim of this study was to determine the distinct and interactive effects of dietary lipids, menhaden oil and coconut oil, and of dietary proteins, casein, cod protein and soy protein, on serum lipid levels. To gain insight into the mechanisms by which the diet may influence serum lipids, hepatic lipids and LPL activity in white adipose tissue, skeletal and heart muscles were assessed. As insulin is a major modulator of lipogenesis and LPL activity, serum insulin levels were also determined.

3.4 Methods and materials

3.4.1 Experimental animals. One hundred and twenty Sprague Dawley rats (St. Constant, Québec, Canada) initially weighing approximately 200g were housed individually in stainless steel wire-bottom meshed cages. The temperature ($20\pm 2^\circ\text{C}$) and humidity (45-55%) of the

animal room were constant and the rats were kept under a daily inverted light-dark cycle (light from 2000 to 0800). During an adaptation period of two days in their new environment, the rats were fed a non purified commercial diet (Purina rat chow). They were then divided into 6 groups of 20 rats of same average weight. Purified diets and water were provided once daily on an *ad libitum* basis for a period of 28 days. Food intake was measured daily and body weight was monitored three times a week. At the end of the experimental period, 10 rats of each group were sacrificed in the fasted state and the remaining 10 rats were sacrificed in the fed state. Two rats, one in the fasted state and one in the fed state, have been eliminated before statistical analysis because of low abnormally low growth rate.

3.4.2 Purified diets. Powdered purified diets, varying in both protein (20%) and lipid (11%) sources, consisted of either casein-menhaden oil (CAMO), casein-coconut oil (CACO), soy protein-menhaden oil (SPMO), soy protein-coconut oil (SPCO), cod protein-menhaden oil (CPMO) or cod protein-coconut oil (CPCO). The composition of the purified diets is detailed in *Table 1*. Alpha-tocopherol, BHA and BHT were added to the diets as proposed by Fritsche and Johnston (257) to minimize the oxidation of ω -3 and ω -6 polyunsaturated fatty acids of menhaden oil and ω -6 polyunsaturated fatty acids of corn oil. The cod protein was prepared in our laboratory by freeze-drying of cod fillets and delipidation for 24 hr in an industrial Soxhlet type apparatus (Canadawide scientific, Montréal, Québec, Canada) using diethyl ether as solvent. The residual lipid content of casein (0.07%), soy protein (0.44), and cod protein (0.19%) was determined with a Goldfish Lipid Extractor (Model 35001; Labconco Corporation, Kansas City, MO, USA). The protein content (N X 6.25) was assayed by the Kjeldahl method using a Kjeldahl-Foss autoanalyzer (Model 16210; Foss Co., Hillerød, Denmark) and the level of protein in the diets was adjusted at the expense of the cornstarch to obtain an isonitrogenous content. The energy content of the diets was measured in an automatic adiabatic calorimeter (Model 1241; Parr Instruments, Moline, IL, USA) and was similar between CAMO (19.6 kJ/g), CACO (19.6 kJ/g), SPMO (19.8 kJ/g), SPCO (19.4 kJ/g), CPMO (19.1 kJ/g) and CPCO (19.1 kJ/g).

At the end of the 28-day experimental period, all rats were food-deprived for 12 hr and weighed. Six groups of 10 rats, that were first conditioned to meal eating, were fed for 30 minutes a meal similar to the experimental diet. These rats were sacrificed by decapitation 2.5 hr after the meal. The remaining rats were sacrificed after the 12-hr fast.

3.4.3 Serum lipoproteins and hepatic lipids. Blood samples of all rats were collected in a 10 mL tube and centrifuged (3,000 rpm, 4°C, 15 min) to isolate serum. Total cholesterol and triglycerides were determined by enzymatic methods using CHOD-PAP and Triglyceride without

free glycerol enzymatic kits provided by Boehringer Mannheim (Laval, Québec, Canada) respectively. High-density lipoprotein cholesterol (HDL-C) was measured enzymatically with CHOD-PAP kit after precipitation of very low-density lipoproteins (VLDL) and low-density lipoproteins (LDL) with phosphotungstic acid and magnesium ions as described by Burstein et al (258), using HDL precipitant solution supplied by Boehringer Mannheim (Laval, Québec, Canada). Total (VLDL+LDL)-C was determined by subtracting HDL-C from total cholesterol.

The livers of fasted rats were removed, weighed, frozen in liquid nitrogen, and stored at -80°C. Hepatic lipids were then extracted by chloroform:methanol (2:1, vol/vol) according to Folch et al (259), and determined enzymatically as described above.

3.4.4 Tissue lipoprotein lipase activity. Epididymal adipose tissue, vastus lateralis muscle and heart of fasted and fed rats were removed and weighed. Approximately 50 mg from each of these tissues were homogenized in 1 mL of solution using all-glass Duall grinders (Kontek Glass, Vineland, NJ). The homogenization solution of adipose tissue consisted of 0.25 M sucrose, 12 mM deoxycholate, 10 mM tris(hydroxy)-methylaminomethane hydrochloride (Tris-HCl), and 1 mM ethylenediamine tetraacetate (EDTA), at pH 7.4. The homogenization solution of muscle tissues consisted of 1 M ethylene glycol, 50 mM Tris-HCl, 3 mM deoxycholate, 10 UI/mL heparin and 5% (v/v) aprotinin (Tyrasol, Miles Pharmaceuticals, Rexdale, Ont), pH 7.4. The homogenates of epididymal adipose tissue were centrifuged at 12,000 g, 4°C for 20 min. The fraction between the upper fat layer and the bottom sediment was removed and diluted with volumes of a dilution solution similar to homogenization solution but without deoxycholate. Homogenates of vastus lateralis muscle and heart, as well as diluted samples of epididymal adipose tissue, were then quickly frozen and stored at -80°C until lipoprotein lipase measurements.

Lipoprotein lipase activity was measured in these extracts using a modification of the method of Taskinen et al (260) and Krauss et al (261) as described by Deshaies et al (262). Samples of 100 µL of tissue homogenates were incubated for 1 hr at 28°C with 100 µL of a substrate containing either 0.1 or 0.2 M NaCl. The substrate consisted of 0.2 M tris(hydroxymethyl)aminomethane (Tris)-HCl buffer, pH 8.6, containing 10 MBq/L (¹⁴C)carboxytriolein and 2.52 mM cold triolein emulsified in 5% gum arabic, 2% fatty acid-free bovine serum albumin, and 10% human serum as a source of apolipoprotein C-II. After incubation, free oleate released by LPL was separated from intact triolein. Sample radioactivity was then determined. LPL activity was calculated by subtracting lipolytic activity measured in a final NaCl concentration of 1 M (activity not due to LPL) from total lipolytic activity measured in a final NaCl concentration of 0.05 M.

3.4.5 Serum glucose and insulin. Serum insulin was measured by radioimmunoassay as described by Desbuquois and Aurback (263). Serum glucose was measured with a Technicon autoanalyzer (YSI 2700 Select; Terochem Scientific, Toronto, Canada).

3.4.6 Statistical analysis. Data were subjected to an analysis of variance (ANOVA) using the general linear model (GLM) procedure of the Statistical Analysis System (SAS Institute, Cary, NC, USA), according to a 3 X 2 factorial arrangement used to determine the main protein and lipid effects, as well as interactions among dietary proteins and lipids ($p < 0.05$). When statistically significant protein and lipid effects, as well as protein-lipid interactions were detected, a Duncan's New-Multiple-Range test was performed to identify differences among diet groups. Data for serum triglycerides and (VLDL + LDL)-C of fasted rats were logarithmically transformed to achieve normality of residues. However data presented in tables and figures are not transformed.

3.5 Results

3.5.1 Food consumption and weight gain. Table 2 summarizes the effects of diet on mean food intake and body weight gain of rats. At the end of the experimental period, food consumption and weight gain were similar for the 6 dietary groups of rats sacrificed either in the fasted or in the fed state. Food intake at the last meal was also the same for the six dietary groups.

3.5.2 Serum and hepatic lipids. Mean values of serum total, lipoprotein and hepatic cholesterol of fasted rats are presented in Table 3. The overall analysis of variance and multiple comparisons are shown in the bottom half of the table. A significant protein effect was seen only on total serum cholesterol concentrations, which were lower in rats fed soy protein and cod protein than in those fed casein. The lipid source induced significant effect on total and HDL-cholesterol in the fasted state. Coconut oil diets provoked higher levels of total and HDL-cholesterol than menhaden oil diets. Casein and cod protein induced higher hepatic cholesterol concentrations than soy protein. However, hepatic cholesterol was higher in rats fed casein than those fed cod protein. Neither an independent lipid effect nor a protein-lipid interaction was observed on hepatic cholesterol concentrations.

Table 4 shows the effects of the purified diets on serum and lipoprotein cholesterol of rats in the fed state. Significant protein effects were observed on serum cholesterol. Total, VLDL+LDL and HDL-cholesterol was higher in the casein fed rats than in the soy protein fed rats. Total and HDL-

cholesterol was also lower after soy protein consumption when compared with cod protein consumption. In contrast to the lipid effect observed in the fasted state, the lipid source induced no significant effect on serum total and lipoprotein cholesterol levels.

Serum total triglycerides of rats in the fasted and fed states are presented in *Figures 1* and *2*, and hepatic triglycerides of rats in the fasted state are shown in *Figure 3*. As shown in *Figures 1* and *2*, a significant protein-lipid interaction was observed in the fasted and the fed states: there was a hypotriglyceridemic effect of menhaden oil compared to coconut oil when combined with soy protein but not when combined with either casein or cod protein. The lowest values of serum triglycerides in both the fasted and the fed states were thus observed when rats were fed soy protein-menhaden oil. In the fasted state, serum triglyceride concentrations of soy protein-menhaden oil fed rats were lower than those of casein-coconut oil and soy protein-coconut oil fed rats. In the fed state the effects between dietary proteins were more pronounced: when combined with coconut oil, cod protein induced lower serum triglycerides than soy protein, casein being intermediate, and when combined with menhaden oil, soy protein induced lower serum triglycerides than casein and cod protein. Proteins and lipids in the diets had independent effects on hepatic triglyceride concentrations (*Figure 3*). Casein and cod protein caused similar triglyceride levels in the liver, but casein induced higher triglyceride concentrations than soy protein. The lipid effect was attributed to a diminution of hepatic triglycerides after menhaden oil compared to coconut oil feeding. Menhaden oil, compared with coconut oil, induced a greater diminution of hepatic triglyceride content when combined with casein (38%) and soy protein (34%) than when combined with cod protein (13%).

3.5.3 LPL activity. *Table 5* shows the LPL activity in epididymal adipose tissue, vastus lateralis muscle and heart of fasted and fed rats. In fasted rats, LPL activity in epididymal fat and VLM was modulated by significant protein effects. Total LPL activity in epididymal fat, expressed as uU/tissue, was higher following cod protein consumption than after casein or soy protein feeding. In the VLM, casein feeding induced higher LPL activities than either soy protein or cod protein feeding. No lipid or protein effect, and no protein-lipid interaction was observed in the heart in fasted rats. However, in fed rats, the only significant effect was a lipid effect in the heart: LPL activity was higher when coconut oil was replaced by menhaden oil. In addition, the significant correlations between LPL activity in epididymal fat, VLM or heart and serum triglyceride levels were verified. As shown in *Figure 4*, significant negative correlations were seen between LPL activity in the heart and serum triglyceride levels in the fasted ($n=59$; $r=-0.31$; $p=0.016$) and fed ($n=59$; $r=-0.34$; $p=0.01$) rats, suggesting a relationship between triglyceride

hydrolysis rate in the heart and serum triglyceride levels. No such correlations were observed between LPL activity in epididymal fat or VLM and serum triglycerides.

3.5.4 Serum insulin and glucose. Serum insulin and glucose levels of fasted and fed rats are presented in *Table 6*. No significant effect of diet was observed on serum insulin or glucose levels. As shown in *Table 7*, Pearson correlation coefficients between insulin levels and total LPL activity in tissues were also calculated. LPL activity in epididymal adipose tissue was positively correlated with serum insulin levels in the fed state. Variations of insulinemia could explain about 14% ($r^2=0.14$) of variations of LPL activity in this tissue. When all rats were considered, very weak correlations were seen between LPL activity in VLM and heart and serum insulin levels. Variations of insulinemia could explain only 4% ($r^2=0.04$) of variations of LPL activity in these tissues.

3.6 Discussion

The present data demonstrate for the first time that dietary proteins, namely casein, cod protein and soy protein interact with dietary menhaden and coconut oils in the regulation of serum triglycerides in both fasted and fed rats. Coconut oil, a source of saturated fatty acids, has been chosen in comparison with menhaden oil, a source of w-3 polyunsaturated fatty acids since its effects on lipidemia are very different than those of fish oil and w-3 polyunsaturated fatty acids can affect serum triglyceride levels in the same way when compared with either saturated or w-6 polyunsaturated fatty acids. Indeed, many studies in rats (84, 251) and humans (253, 254) show that w-3 polyunsaturated fatty acids lower triglycerides by themselves, and not only when compared with saturated fatty acids, but also when compared with w-6 polyunsaturated fatty acids. The study of Weintraub et al (253) demonstrate it very well: a diet rich in w-3 polyunsaturated fatty acids (P/S ratio=1.39) had a higher hypotriglyceridemic effect than a w-6 polyunsaturated fatty acid diet (P/S ratio=1.4), when compared with a saturated fatty acid diet (P/S ratio=0.07). In addition, w-3 polyunsaturated fatty acids affect some parameters that modulate serum triglyceride levels in rats, and that are few or not influenced by w-6 polyunsaturated and saturated fatty acids. In fact, fish oil consumption enhance LPL activity in muscle adipose tissue when compared with corn oil, beef tallow or lard (20, 84), as well as LPL activity in the heart of rats when compared with corn oil and beef tallow (84). Thus, the hypotriglyceridemic effect of fish oil is not related only to a diminution of saturated fatty acids in the diet or to an increase in P/S ratio, but also to hypotriglyceridemic properties of w-3 fatty acids.

The cholesterol-lowering effect of soy protein observed in the present study when compared with casein is in good accordance with earlier findings of Hurley et al (18), Gallbois et al (239) and Saeki et al (264). Two hypotheses are actually proposed to explain the hypocholesterolemic effect of soy protein compared with casein (212, 265, 266). According to the gastrointestinal hypothesis, soy protein lowers cholesterol (265) and bile acid (265) absorption at the intestinal level, which leads to increased excretion of neutral steroids and bile acids in feces (212). The lower digestibility of soy protein, compared with casein (266) and its phosphorylation state (266) may account for these effects. A decreased absorption of bile acids induced by soy protein would cause a diminution of hepatic cholesterol concentration (212) as observed in this study in fasted rats. These lowered liver cholesterol concentrations would stimulate the hepatic synthesis of cholesterol and bile acids (212) and increase the number and/or activity of apoB/E receptors (212, 265). The synthesis of LDL apo B and the liver secretion of cholesterol would be also impaired (265). The second hypothesis, the postabsorptive one, stipulates that the amino acid composition of soy protein may influence cholesterol metabolism directly or by modulating serum concentrations of hormones. For example, the low methionine content and lysine/arginine ratio (266) of soy protein compared with casein has been thought to be responsible for the hypocholesterolemic effects of soy protein. Lower plasma concentrations of insulin and a diminished insulin/glucagon ratio following soy protein feeding instead of casein feeding (265) may also contribute to the characteristic effect of soy protein by reducing HMG-CoA reductase activity and lipogenesis (227).

In the present study, cod protein was shown to have a hypocholesterolemic effect similar to that of soy protein compared to casein in the fasted state. These results are in good accordance with those previously observed in rats (18, 203, 233). The mechanisms by which fish protein may influence lipid metabolism are less documented. Concerning the gastrointestinal hypothesis, studies in rats are not consistent. In some cases, an elevation of fecal excretion of neutral steroids (91, 233) and biliary acids (233) was observed when fish protein was compared with casein, but other studies have shown a diminution of biliary acid excretion (205) or no effect of fish protein on these parameters (234). According to the postabsorptive hypothesis, an elevation of LPL activity may explain the increase in HDL-C and the decrease in VLDL triglycerides observed in some studies in rabbits fed fish protein compared with soy protein (21, 206). In the rat, the higher hepatic cholesterol and triglyceride concentrations observed after fish consumption compared with soy protein consumption may be attributed in part to an elevation of insulin/glucagon ratio (18). As with soy protein, it is possible that the lower lysine/arginine ratio

62

of cod protein (1.44) when compared with that of casein (1.89) (201) may have played a role to play in the hypocholesterolemic effect of cod protein observed in this study.

The hypotriglyceridemic impact of fish oil consumption is well-established in humans (16, 256) and has also been also observed in rats (20, 23). It has been attributed to a reduction of hepatic triglyceride synthesis and secretion in the blood (266, 267) induced by omega-3 long chain polyunsaturated fatty acids present in fish oil. The present results demonstrate for the first time that the effects of fish oil on serum triglycerides can be modulated by dietary proteins. The lowering effect of fish oil on serum triglycerides is observed only when menhaden oil is combined with soy protein and is accompanied by a 34% diminution of hepatic triglyceride concentrations in fasted rats, suggesting strongly that the reducing effect of soy protein-menhaden oil on serum triglycerides could be the result of a diminution of hepatic triglyceride synthesis. In presence of coconut oil, soy protein already induced lower hepatic cholesterol and triglyceride concentrations than casein, confirming previous data obtained in rats by Terpstra et al (207, 267) and Hurley et al (18) on hepatic cholesterol and by Iritani et al (208) on hepatic triglycerides. The combination of soy protein plus menhaden oil accentuated the reducing effect of menhaden oil on hepatic triglycerides, suggesting that soy protein has an additive effect with fish oil on hepatic triglycerides, resulting in a greater diminution of serum triglycerides. Of note is the observation that LPL activity in the heart was inversely correlated with serum triglycerides in both fasted and fed rats. However, the increase of LPL activity in the heart when rats were fed menhaden oil could explain only 10% of the diminutions of serum triglyceride levels ($r^2=0.096$ and 0.11 for fasted and fed rats respectively), thereby contributing slightly to the lowering effects of soy protein-menhaden oil diet on serum triglycerides.

The hypotriglyceridemic effect of fish oil was not reproduced in fasted and fed state when combined with casein and cod protein. Menhaden oil combined with casein reduced only slightly and not significantly serum triglycerides by 17% in the fasted state and 6% in the fed state, despite a 38% reduction of hepatic triglycerides. These effects could result from a decrease in triglyceride synthesis in the liver without a concomitant reduction in the rate of triglyceride secretion from the liver to the blood. The combination of menhaden oil plus cod protein unexpectedly provoked no reducing effect on serum triglycerides in fasted rats. The lack of a hypotriglyceridemic effect of menhaden oil with cod protein could be partly related to the low reducing effect of menhaden oil on hepatic triglycerides (13%) when combined with cod protein. Neither the higher fasting LPL activity in vastus lateralis muscle in rats fed casein than in rats fed cod and soy protein nor the higher fasting LPL activity in epididymal fat tissue in rats fed cod protein than in rats fed casein and soy protein can explain the absence of reduced

triglycerides when menhaden oil was combined with either casein or cod protein. Further studies are thus necessary to verify the rates of synthesis and secretion of triglycerides from the liver when rats are fed casein, cod protein, and soy protein in presence of menhaden oil.

In contrast with the interactions outlined above, was the lack of serum insulin and glucose response to the diets. Our inability to detect insulin differences between diets may be partly attributed to the high variability of insulin values in rats fed menhaden oil. Also, in rats, insulinemia reaches a peak in postprandial state at 30 minutes to 1 hour after the meal, and insulin determination was done in this study at only one time point, that is 3 hours after the meal, not allowing under these conditions a complete investigation of insulin response. Thus, fasting and postprandial insulinemia in the present study does not seem to be responsible of the interaction between dietary proteins and lipids on triglyceridemia. A modulation of the hypotriglyceridemic effect of fish oil by dietary proteins through a regulation of LPL activity by plasma insulin level has neither been confirmed in the present study.

In conclusion, the above results show that there are interactions between dietary proteins and lipids in the regulation of serum triglyceride levels in the rat. Indeed, soy protein enhanced the hypotriglyceridemic effect of fish oil, whereas casein and to a greater extent cod protein dampened it. The results suggest that serum triglyceride concentrations may be modulated by the diet through hepatic triglyceride concentrations and, to a small extent, through heart LPL activities. The role of insulin levels in this modulation is still unclear. Further studies, determining the rates of synthesis and secretion of triglycerides and the overall response of insulinemia and triglyceridemia by repeated measures in the postprandial state, would be of help to clarify the mechanism by which dietary protein modulate the hypotriglyceridemic effect of fish oil.

3.7 Acknowledgements

The authors wish to acknowledge the invaluable professional assistance of Charles Lavigne and technical help of Rachel Gaudreault and Josée Lalonde. This research was supported by NSERC.

TABLE 1
Composition of the purified diets^a

Ingredients	CACO	CAMO	SPCO (g/100g)	SPMO	CPMO	CPCO
Casein ^b	23.30	23.30	---	---	---	---
Soy protein ^c	---	---	22.80	22.80	---	---
Cod protein ^d	---	---	---	---	21.30	21.30
Cornstarch ^e	54.84	54.84	55.34	55.34	56.84	56.84
Cellulose ^f	5	5	5	5	5	5
Coconut oil ^g	10	---	10	---	10	---
Menhaden oil ^e	---	10	---	10	---	10
Corn oil ⁱ	1	1	1	1	1	1
Cholesterol ^g	1	1	1	1	1	1
Minerals ^j	3.5	3.5	3.5	3.5	3.5	3.5
Vitamins ^k	1	1	1	1	1	1
Choline bitartrate ^e	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2
Alpha-tocopherol ^e	0.12	0.12	0.12	0.12	0.12	0.12
BHA & BHT ^e	0.04	0.04	0.04	0.04	0.04	0.04

^a CA=casein; SP=soy protein; CP=cod protein; CO=coconut oil; MO=menhaden oil.

^b Casein purified high nitrogen (ICN Nutritional Biochemicals, Cleveland, OH, USA), 85.8 % protein.

^c Soybean protein isolate (ICN Nutritional Biochemicals), 87.6 % protein.

^d Prepared as described in Methods and materials, 93.7 % protein.

^e ICN Nutritional Biochemicals.

^f Alphacel nonnutritive bulk (ICN Nutritional Biochemicals).

^g Sigma Chemical Co (St. Louis, MO, USA).

^h Mazola corn oil, Best Foods (Canada Starch, Montréal, Canada).

ⁱ AIN mixture 76 (ICN Nutritional Biochemicals).

^j Vitamin mix (Teklad test Diets, Madison, WI, USA).

TABLE 2**Food intake and weight gain of rats fed the purified diets^a**

Dietary group ^b	n	Food intake (g/day/animal)	Food intake last meal (g/day/animal)	Weight gain (g/day/animal)
<i>Fasted</i>				
CACO	10	21.3 ± 0.8	—	4.6 ± 0.4
CAMO	10	21.4 ± 0.4	—	5.3 ± 0.4
SPCO	9	20.6 ± 0.6	—	3.8 ± 0.3
SPMO	10	21.1 ± 0.6	—	4.5 ± 0.3
CPCO	10	22.6 ± 0.5	—	4.9 ± 0.3
CPMO	10	21.8 ± 0.5	—	5.2 ± 0.4
<i>Fed</i>				
CACO	10	20.5 ± 0.5	4.7 ± 0.2	4.3 ± 0.3
CAMO	10	20.1 ± 0.5	4.1 ± 0.3	4.5 ± 0.2
SPCO	10	20.9 ± 0.4	4.0 ± 0.2	3.9 ± 0.2
SPMO	9	20.3 ± 1.0	3.9 ± 0.3	3.8 ± 0.3
CPCO	10	20.5 ± 0.5	4.0 ± 0.3	3.7 ± .4
CPMO	10	21.7 ± 0.3	4.6 ± 0.3	4.7 ± 0.2

^a Values are means ± SEM

^b CA=casein; SP=soy protein; CP=cod protein; CO=coconut oil; MO=menhaden oil.

TABLE 3

Total serum, lipoprotein and hepatic cholesterol levels of rats fed the purified diets in the fasted state^a

Dietary group ^b	Serum			
	Total cholesterol (mmol/L)	(VLDL + LDL)-C (mmol/L)	HDL-C (mmol/L)	Hepatic cholesterol (umol/g)
CACO	2.0 ± 0.1	0.8 ± 0.1	1.2 ± 0.1	99.3 ± 7.8
CAMO	1.8 ± 0.1	0.8 ± 0.1	1.0 ± 0.1	99.4 ± 5.7
SPCO	1.9 ± 0.1	0.8 ± 0.1	1.1 ± 0.1	55.5 ± 4.7
SPMO	1.4 ± 0.1	0.5 ± 0.1	0.9 ± 0.1	69.0 ± 4.1
CPCO	1.8 ± 0.1	0.7 ± 0.1	1.0 ± 0.1	74.6 ± 6.2
CPMO	1.6 ± 0.2	0.7 ± 0.2	0.9 ± 0.1	85.3 ± 7.5
<i>Sources of variations</i>		<i>Anova (P values)^c</i>		
Protein (P)	0.04	0.08	0.02	0.001
Lipid (L)	0.008	0.12	0.29	0.13
P X L	0.28	0.16	0.10	0.91
<i>Comparisons^d</i>				
Protein	CA>SP	CA=SP	CA=SP	CA>SP
	CA>CP	CA=CP	CA=CP	CA>CP
	CP=SP	CP=SP	CP=SP	CP>SP
Lipid	CO>MO	CO=MO	CO>MO	CO=MO

^a Values are means ± SEM, n=9-10 rats per dietary group

^b CA=casein; SP=soy protein; CP=cod protein; CO=coconut oil; MO=menhaden oil;

^c P<0.05 indicates significant protein or lipid effects or their interactions

^d Explanation of the symbols: =, no difference among the groups at P<0.05;

>, significantly higher than the group with which it is compared at P<0.05;

<, significantly lower than the group with which it is compared at P>0.05.

TABLE 4

Total serum and lipoprotein cholesterol levels of rats fed the purified diets in the fed state^a

Dietary group ^b	Total cholesterol (mmol/L)	(VLDL + LDL)-C (mmol/L)	HDL-C (mmol/L)
CACO	2.4 ± 0.1	1.4 ± 0.1	1.0 ± 0.1
CAMO	2.4 ± 0.2	1.3 ± 0.2	1.1 ± 0.1
SPCO	2.1 ± 0.1	1.1 ± 0.1	1.0 ± 0.1
SPMO	1.7 ± 0.1	0.9 ± 0.1	0.8 ± 0.04
CPCO	2.2 ± 0.2	1.1 ± 0.1	1.1 ± 0.1
CPMO	2.2 ± 0.2	1.1 ± 0.1	1.1 ± 0.1
<i>Sources of variations</i>	<i>Anova (P values) ^c</i>		
Protein (P)	0.007	0.054	0.02
Lipid (L)	0.26	0.30	0.29
P X L	0.50	0.56	0.10
<i>Comparisons^d</i>			
Protein	CA>SP	CA>SP	CA>SP
	CA=CP	CA=CP	CA=CP
	CP>SP	CP=SP	CP>SP
Lipid	CO=MO	CO=MO	CO=MO

^a Values are means ± SEM, n=9-10 rats per dietary group.

^b CA=casein; SP=soy protein; CP=cod protein; CO=coconut oil; MO=menhaden oil;

^c P<0.05 indicates significant protein or lipid effects or their interactions

^d Explanation of the symbols: =, no difference among the groups at P<0.05;

>, significantly higher than the group with which it is compared at P<0.05;

<, significantly lower than the group with which it is compared at P<0.05.

TABLE 5
Tissue LPL activity of rats fed the purified diets

Dietary group ^b	Fasted			Fed		
	Epididymal adipose tissue	Vastus lateralis muscle (uU/tissue) ^c	Heart	Epididymal adipose tissue	Vastus lateralis muscle (uU/tissue) ^c	Heart
CACO	12.3 ± 1.5	4.5 ± 0.7	23.6 ± 2.5	10.8 ± 2.0	4.3 ± 0.7	18.0 ± 1.2
CAMO	11.4 ± 2.0	5.1 ± 1.1	26.0 ± 2.1	10.5 ± 4.3	4.9 ± 0.9	25.3 ± 2.4
SPCO	11.1 ± 2.7	2.3 ± 0.3	25.9 ± 3.0	11.1 ± 1.7	5.4 ± 1.6	17.2 ± 1.3
SPMO	9.3 ± 1.4	3.6 ± 0.3	29.4 ± 2.6	9.0 ± 2.5	4.4 ± 0.9	22.2 ± 2.1
CPCO	15.1 ± 1.2	3.2 ± 0.6	28.0 ± 2.6	8.3 ± 1.5	3.4 ± 0.8	17.1 ± 1.4
CPMO	14.6 ± 2.3	2.8 ± 0.8	27.4 ± 2.6	9.7 ± 2.3	3.2 ± 0.6	24.2 ± 2.8

Sources of variations		Anova (P values) ^d	
Protein (P)	0.02	0.30	0.76
Lipid (L)	0.69	0.31	0.85
P X L	0.77	0.61	0.80

Comparisons ^e		Anova (P values) ^d	
Protein	CA=SP CA<CP CP>SP	CA=SP CA=CP CP=SP	CA=SP CA=CP CP=SP
Lipid	CO=MO	CO=MO	CO=MO

^a Values are means ± SEM, n=9-10 rats per dietary group in the fasted state and 9-10 rats per dietary group in the fed state.

^b CA=casein; SP=soy protein; CP=cod protein; CO=coconut oil; MO=menhaden oil;

^c 1 uU= 1μmol nonesterified fatty acids released per h of incubation

^d P<0.05 Indicates significant protein or lipid effects or their interactions

^e Explanation of the symbols: =, no difference among the groups at P<0.05; >, significantly higher than the group with which it is compared at P<0.05; <, significantly lower than the group with which it is compared at P<0.05

TABLE 6

Serum insulin and glucose levels of rats fed the purified diets^a

Dietary group ^b	Fasted		Fed	
	Insulin (pmol/L)	Glucose (mmol/L)	Insulin (pmol/L)	Glucose (mmol/L)
CACO	319 ± 42	7.6 ± 0.2	677 ± 80	8.4 ± 0.1
CAMO	309 ± 27	7.6 ± 0.2	511 ± 104	8.5 ± 0.2
SPCO	265 ± 27	7.4 ± 0.1	509 ± 77	8.5 ± 0.2
SPMO	289 ± 62	7.3 ± 0.2	478 ± 101	8.5 ± 0.2
CPCO	261 ± 18	7.7 ± 0.3	379 ± 74	8.4 ± 0.2
CPMO	388 ± 65	7.9 ± 0.2	540 ± 69	8.4 ± 0.1
<i>Sources of variation</i>		<i>Anova (P values)^c</i>		
Protein (P)	0.47	0.17	0.18	0.73
Lipid (L)	0.17	0.86	0.72	0.83
P X L	0.28	0.84	0.11	0.98
<i>Comparisons^d</i>				
Protein	CA=SP	CA=SP	CA=SP	CA=SP
	CA=CP	CA=CP	CA=CP	CA=CP
	CP=SP	CP=SP	CP=SP	CP=SP
Lipid	CO=MO	CO=MO	CO=MO	CO=MO

^a Values are means ± SEM, n=9-10 rats per dietary group in the fasted state and 9-10 rats in the fed state.

^b CA=casein; SP=soy protein; CP=cod protein; CO=cod protein; CO=coconut oil; MO=menhaden oil.

^c P<0.05 indicates significant protein or lipid effects or their interactions

^d Explanation of the symbols: =, no difference among the groups at P<0.05;
 >, significantly higher than the group with which it is compared at P<0.05;
 <, significantly lower than the group with which it is compared at P<0.05.

TABLE 7

Pearson correlation coefficients between serum insulin levels and total LPL activity in tissues of rats fed the purified diets

	LPL activity		
	Epididymal adipose tissue	Vastus lateralis muscle	Heart
Insulin			
<i>Fasted rats</i>	n 59	59	59
	r 0.08	-0.07	-0.23
	p 0.58	0.63	0.08
<i>Fed rats</i>	n 59	59	59
	r 0.38	0.23	0.05
	p 0.006 ^a	0.09	0.71

^a P<0.05 indicates significant correlation

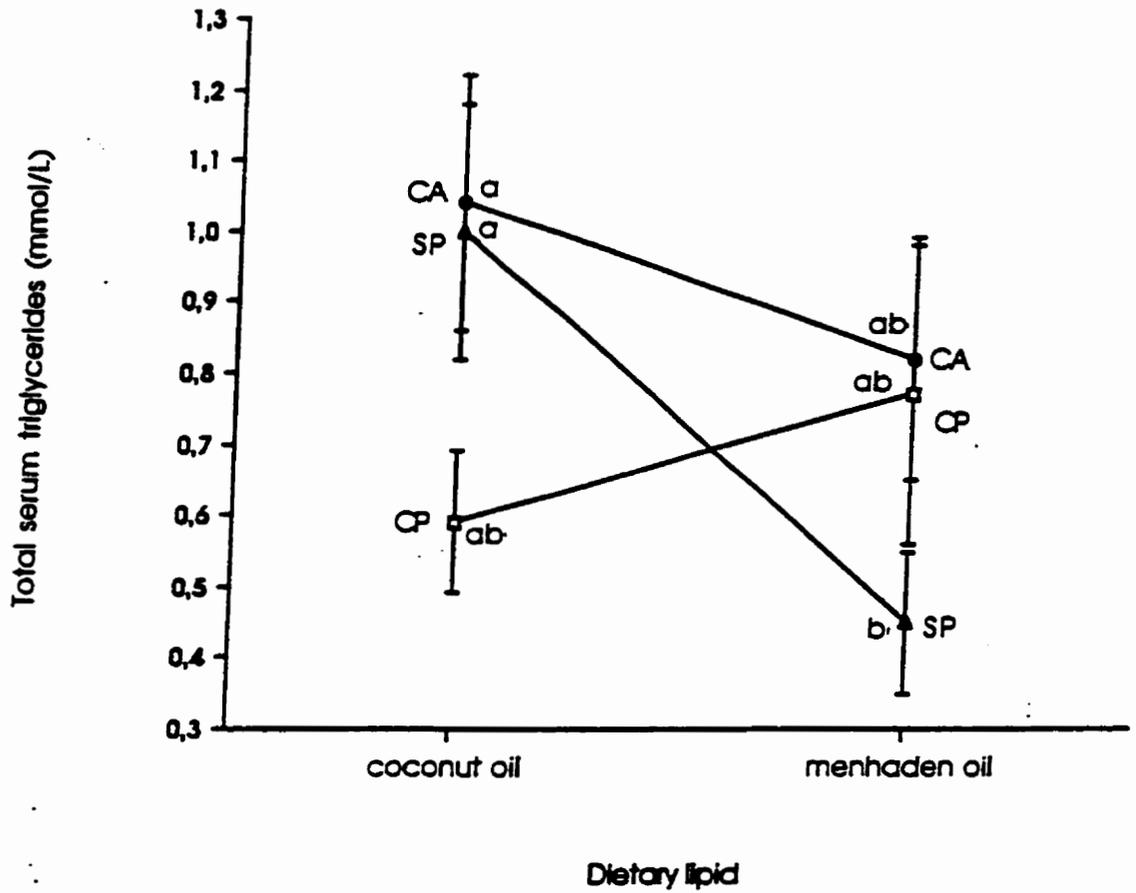


FIGURE 1

Interaction between proteins and lipids in the regulation of total serum triglycerides (n=9-10 rats per dietary group; p=0.046) of rats fed the purified diets in the fasted state. (CA=casein; SP=soy protein; CP=cod protein; CO=coconut oil; MO=menhaden oil; groups bearing different letters were significantly different at P<0.05)

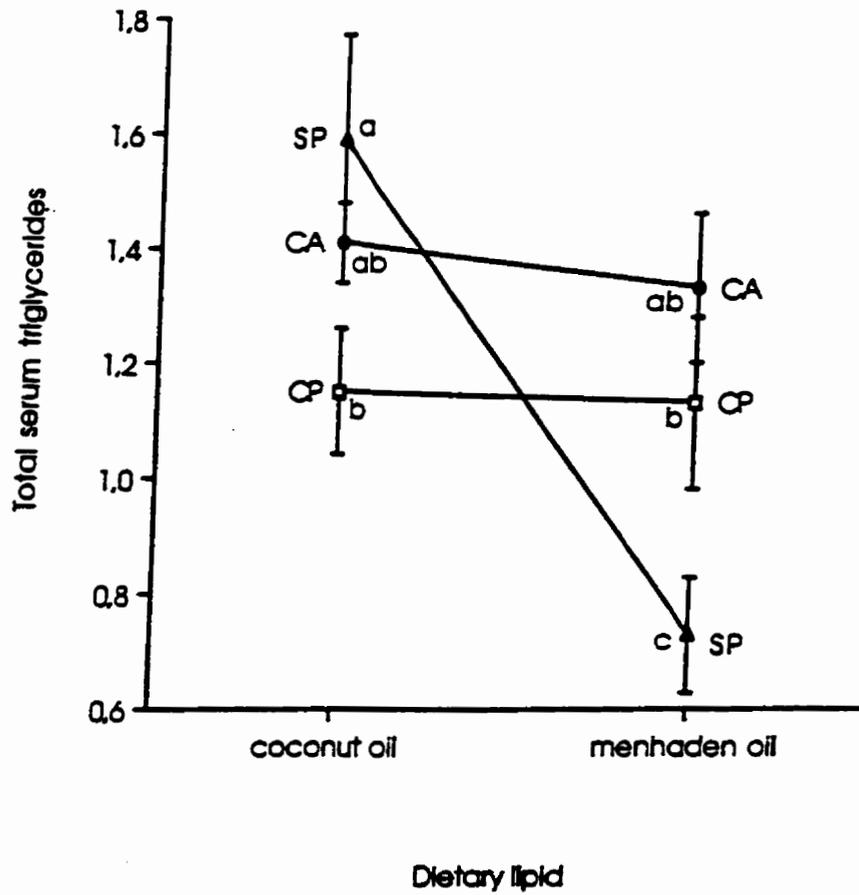


FIGURE 2

Interaction between proteins and lipids in the regulation of total serum triglycerides (n=9-10 rats per dietary group; p=0.003) of rats fed the purified diets in the fed state.

(CA=casein; SP=soy protein; CP=cod protein; CO=coconut oil; MO=menhaden oil; groups bearing different letters were significantly different at P<0.05)

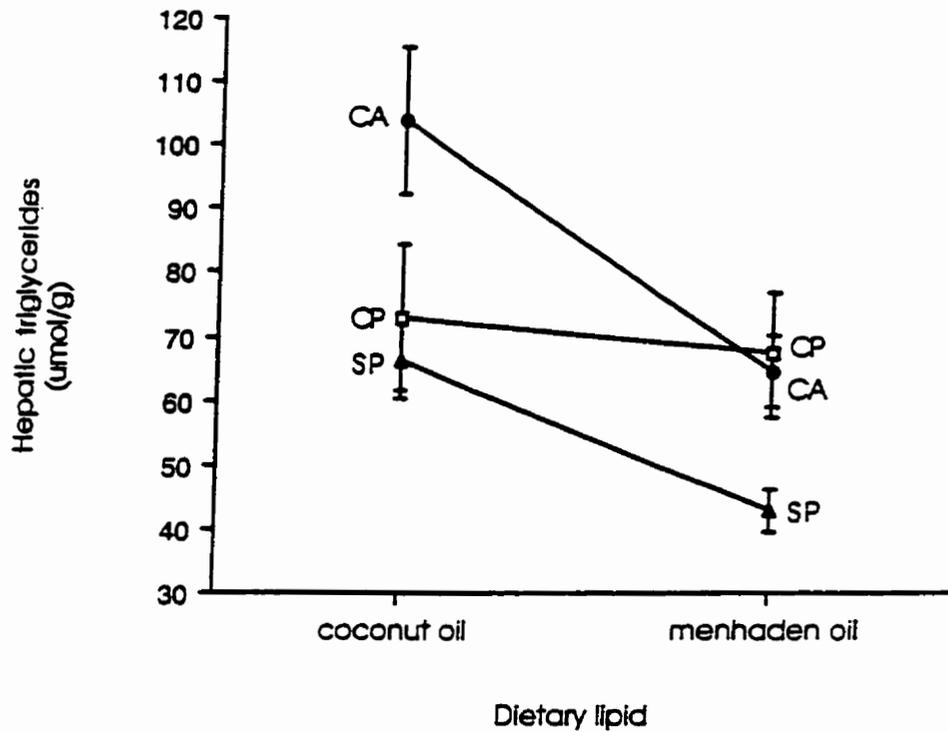


FIGURE 3

Main protein and lipid effects on hepatic triglycerides of rats fed the purified diets in the fasted state (n=9-10 rats per dietary group).
 (CA=casein; SP=soy protein; CP=cod protein; CO=coconut oil; MO=menhaden oil;
 P value for protein effect=0.009, CA>SP, CA=CP, CP=SP; P value for lipid effect=0.005, CO>MO;
 P value for protein-lipid interaction=0.2)

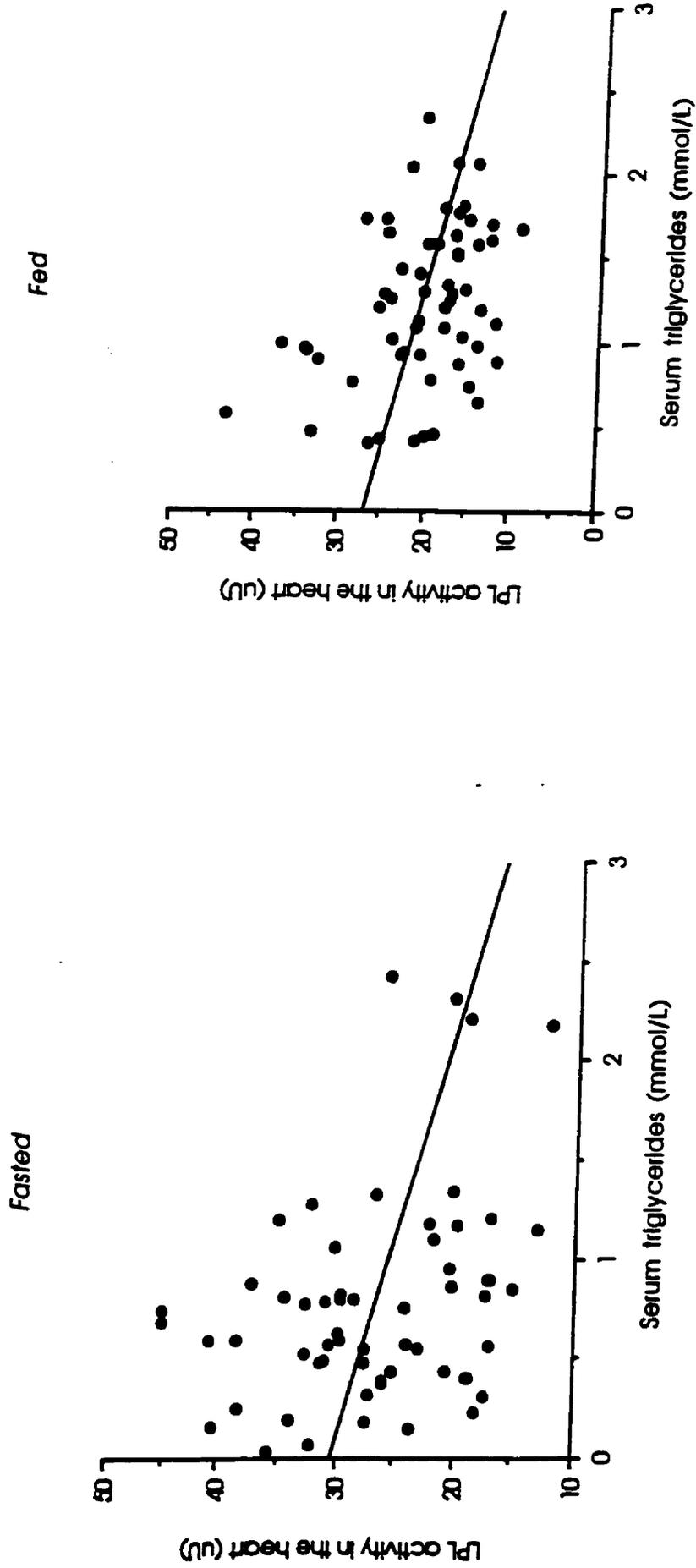


FIGURE 4

Correlation between LPL activity in the heart and serum triglyceride levels of fasted (n=59; r=0.31; p=0.02) and fed (n=59; r=0.33; p=0.009) rats.

CHAPITRE 4

DISCUSSION ET CONCLUSION GÉNÉRALES

4.1 Introduction

Des niveaux de lipides sériques élevés, particulièrement l'hypercholestérolémie et l'hypertriglycéridémie, sont associés à une hausse du risque de maladies cardiovasculaires (1). Or, plusieurs nutriments jouent un rôle important dans la détermination des concentrations sériques de lipides, comme par exemple les protéines (2) et les lipides (1) alimentaires. En affectant différemment le métabolisme lipidique, ces nutriments ont donc une incidence sur le risque de maladies cardiovasculaires. Cependant, on a peu étudié les effets de la présence simultanée de ces deux types de nutriments dans le régime alimentaire, et on ne sait pas si leurs effets combinés sont semblables à leurs effets individuels, plus largement documentés.

En ce qui concerne les effets des lipides alimentaires, l'effet hypotriglycéridémiant des acides gras polyinsaturés ω -3 est bien connu (17, 256). Cet effet serait dû à une diminution de la synthèse (16) et de la sécrétion (20) hépatiques des VLDL, mais aussi à une augmentation de la dégradation des VLDL et des chylomicrons par la LPL (20, 256). Il est possible que les concentrations plasmatiques d'insuline soient impliquées dans ce mécanisme, puisqu'on a observé chez le rat une corrélation positive entre l'insulinémie et les taux plasmatiques de triglycérides (20). D'ailleurs, comparativement aux acides gras saturés, les acides gras ω -3 entraînent une diminution des concentrations plasmatiques d'insuline chez le rat à jeun (175). Une autre différence entre les acides gras polyinsaturés ω -3 et les acides gras saturés réside dans leur effet sur la cholestérolémie: lorsque substitués aux acides gras saturés, les acides

gras polyinsaturés ω -3 favorisent chez le rat une diminution de la cholestérolémie totale (20) et du C-LDL (16).

Les acides gras polyinsaturés ω -3 de l'huile de poisson se retrouvent dans le poisson généralement simultanément combinés à la protéine de poisson, laquelle a ses effets propres sur le métabolisme lipidique, comme les autres protéines d'ailleurs. On connaît bien l'effet hypercholestérolémiant des protéines d'origine animale, comme la caséine, comparativement aux protéines d'origine végétale, comme la protéine de soya (183, 184). Quant à la protéine de poisson, elle aurait chez le rat un effet hypercholestérolémiant semblable à celui de la caséine, comparativement à la protéine de soya, lorsque l'apport en lipides est faible (1%) (91), mais entraînerait des taux de cholestérol sérique inférieurs à ceux obtenus avec la caséine en présence d'une quantité modérée de lipides (5%) (18). On a aussi observé avec la protéine de morue des taux de triglycérides sériques équivalents à ceux induits par la protéine de soya, et inférieurs à ceux engendrés par la caséine (18). En ce qui concerne les concentrations sériques d'insuline, elles sont plus élevées chez le rat à jeun suite à la consommation de caséine que suite à la consommation de protéine de soya (18, 92, 229, 239). Une étude récente a aussi montré une diminution de la glycémie à jeun suite à un régime à base de protéine de morue ou de protéine de soya, suggérant une amélioration de la sensibilité à l'insuline chez les rats nourris de protéine de morue et de soya (18). En phase post-prandiale, par contre, la protéine de morue avait entraîné une augmentation de l'insulinémie comparativement à la protéine de soya (18).

Mais qu'en est-il des effets combinés des protéines et des lipides alimentaires sur le métabolisme lipidique? Y a-t-il des interactions entre ces nutriments? La question est d'autant plus intéressante que la protéine et l'huile de poisson sont présentes simultanément dans le même aliment. Une étude effectuée précédemment chez le lapin a montré que la protéine de morue annulait l'effet hypocholestérolémiant des acides gras polyinsaturés ω -6 observé avec la caséine et la protéine de soya (19), et ce, même si la protéine de morue, lorsqu'étudiée individuellement, avait montré un effet hypocholestérolémiant (22, 202). La protéine de morue pourrait-elle aussi moduler l'effet hypotriglycéridémiant des acides gras polyinsaturés ω -3 différemment des autres protéines? Quelles sont les interactions possibles entre protéines et lipides alimentaires dans la régulation du métabolisme lipidique? C'est ce que nous avons voulu déterminer par la présente étude.

4.2 Bilan des travaux réalisés

La présente étude avait pour hypothèse que **la protéine de morue module les effets de l'huile de poisson sur le métabolisme lipidique chez le rat différemment des autres protéines alimentaires**. Cette hypothèse a été confirmée: la protéine de morue, et de façon moins marquée la caséine, contrecarrent l'effet hypotriglycéridémiant de l'huile de poisson, alors que la protéine de soya l'augmente.

L'objectif général du protocole expérimental nous permettant de vérifier notre hypothèse était **d'évaluer les effets respectifs et interactifs des protéines et des lipides alimentaires sur le métabolisme lipidique chez le rat**. Pour ce faire, cent vingt rats mâles ont été nourris pendant vingt-huit jours avec un des six régimes expérimentaux contenant 20% de protéines (caséine, protéine de soya ou protéine de morue) et 11% de lipides (huile de menhaden ou huile de coco). À la fin du protocole expérimental, soixante rats ont été sacrifiés deux heures et demi après avoir consommé un repas semblable au régime expérimental, alors que les soixante autres ont été sacrifiés à jeun. Des prélèvements sanguins et tissulaires ont été effectués dans le but de déterminer l'effet des régimes expérimentaux sur différents paramètres du métabolisme lipidique.

Nous avons choisi de comparer les effets de l'huile de menhaden à ceux de l'huile de coco (riche en acides gras saturés) plutôt qu'à une autre huile riche en acides gras polyinsaturés comme l'huile de maïs. En effet, plusieurs études montrent que les acides gras polyinsaturés $\omega-3$ ont un potentiel hypotriglycéridémiant propre, non seulement lorsqu'on les compare aux acides gras saturés, mais aussi lorsqu'ils sont comparés aux acides gras polyinsaturés $\omega-6$, et ce tant chez l'animal (84, 251) que chez l'humain (253, 254). L'étude de Weintraub et al (254) est particulièrement éloquent. On a comparé chez l'humain des régimes riches en acides gras saturés (rapport P/S de 0.07), en acides gras polyinsaturés $\omega-6$ (rapport P/S de 1.4) ou en acides gras polyinsaturés $\omega-3$ (rapport P/S de 1.39). Les résultats ont montré un effet hypotriglycéridémiant plus marqué des acides gras polyinsaturés $\omega-3$ que des acides gras polyinsaturés $\omega-6$ comparativement aux acides gras saturés, ce qui suggère que l'effet hypotriglycéridémiant de l'huile de poisson n'est donc pas dû uniquement à un rapport P/S plus élevé. De plus, les acides gras polyinsaturés $\omega-3$ affectent chez le rat certains paramètres qui modulent les concentrations sériques de triglycérides, et sur lesquels les acides gras polyinsaturés $\omega-6$ et les acides gras saturés n'ont que peu ou pas d'effet. Par exemple, la consommation d'huile de poisson entraîne une augmentation de l'activité de la LPL au muscle squelettique comparativement à l'huile de maïs, au lard et au suif (20, 84), de même qu'une

hausse de l'activité de la LPL au cœur comparativement à l'huile de maïs et au suif (84). apparaît donc que l'effet hypotriglycéridémiant des huiles de poisson n'est pas dû seulement à la diminution de l'apport en lipides saturés dans le régime et à une augmentation du rapport P/S, mais bien aux propriétés propres des acides gras polyinsaturés w-3. Le choix de l'huile de coco comme source lipidique du régime contrôle est donc justifié, puisque les acides gras polyinsaturés w-3 affectent les niveaux de triglycérides sériques de la même manière, quoiqu' de façon moins marquée, comparativement aux acides gras saturés que comparativement aux acides gras polyinsaturés w-6. Comme nous voulions mettre en évidence des interactions entre les lipides et les protéines alimentaires dans la modulation des concentrations de lipides sériques, nous avons choisi de comparer l'huile de poisson à une source dont les effets sont nettement différents (l'huile de coco). D'ailleurs, d'autres auteurs avant nous ont comparé les huiles de poisson à des sources d'acides gras saturés dans le but de déterminer leurs effets chez le rat, comme Haug et Hostmark (83) et Rustan et al (23).

En premier lieu, nous avons voulu déterminer les effets respectifs et interactifs des protéines et des lipides alimentaires sur les concentrations de cholestérol et de triglycérides totaux et lipoprotéiques chez le rat à jeun et à l'état post-prandial (**premier objectif spécifique**). Chez les **rats sacrifiés à jeun**, un effet protéique significatif n'a été observé que sur les concentrations de cholestérol sérique total, soit une hausse de la cholestérolémie chez les rats nourris de caséine comparativement à ceux nourris de protéine de soya et de protéine de morue. Ces résultats sont semblables à ceux observés précédemment chez le rat (18, 203, 233). L'effet hypocholestérolémiant de la protéine de soya par rapport à la caséine a aussi été rapporté par Galibois et al (239) et Saeki et al (264). Deux hypothèses permettraient d'expliquer cet effet de la protéine de soya. L'hypothèse gastrointestinale stipule que la protéine de soya diminue l'absorption intestinale du cholestérol (185, 211) et des acides biliaires (18), ce qui entraînerait une diminution des concentrations hépatiques de cholestérol (18, 185) et de sa sécrétion par le foie (217). Selon l'hypothèse postabsorptive, par contre, la composition en acides aminés de la protéine de soya pourrait affecter le métabolisme du cholestérol directement ou en modulant les concentrations sériques d'hormones, comme l'insuline (94, 227). En ce qui concerne la protéine de morue, il est possible que le contenu en acides aminés de la protéine de morue puisse expliquer en partie les résultats obtenus dans la présente étude. En effet, comme la protéine de soya, la protéine de morue a un faible rapport lysine/arginine (1.44 comparativement à celui de la caséine (1.89) (201). Toujours chez les rats sacrifiés à jeun, la source lipidique a eu un effet significatif sur les concentrations de cholestérol sérique total et de C-HDL: l'huile de coco a entraîné une hausse de la cholestérolémie totale et du C-HDL comparativement à l'huile de menhaden (Tableau 3). Haug et Hostmark (83) avaient aussi mi

78

en évidence une augmentation de la cholestérolémie avec l'huile de coco comparativement à l'huile de poisson.

En ce qui concerne les concentrations sériques de triglycérides chez les rats sacrifiés à jeun, nous avons observé une interaction protéines-lipides (Figure 1), c'est-à-dire que l'huile de poisson a eu un effet hypotriglycéridémiant comparativement à l'huile de coco lorsqu'elle était combinée à la protéine de soya, mais non lorsqu'elle était combinée à la caséine ou à la protéine de morue. C'est donc avec le régime soya-menhaden que les plus faibles concentrations de triglycérides sériques ont été observées.

Chez les rats sacrifiés en phase post-prandiale, des effets protéiques significatifs ont été observés sur les concentrations de cholestérol sérique total et lipoprotéique. La consommation de caséine a entraîné une augmentation des concentrations de cholestérol sérique total, C-VLDL+LDL et C-HDL comparativement à la consommation de protéine de soya (Tableau 4). En plus de son effet hypocholestérolémiant comparativement à la caséine, la protéine de soya a aussi entraîné une diminution des concentrations de cholestérol sérique total et de C-HDL par rapport à la protéine de morue, dont l'effet sur la cholestérolémie était semblable à celui de la caséine. Enfin, on a observé chez les rats post-prandiaux le même type d'interaction protéines-lipides que chez les rats sacrifiés à jeun, soit un effet hypotriglycéridémiant de l'huile de poisson seulement lorsqu'elle était combinée à la protéine de soya (Figure 2).

Afin de clarifier le mécanisme de la régulation des lipides sériques par les lipides et les protéines alimentaires, nous avons aussi déterminé les concentrations de cholestérol et de triglycérides hépatiques chez les rats sacrifiés à jeun (**deuxième objectif spécifique**). Les concentrations hépatiques de cholestérol étaient inférieures suite à la consommation de protéine de soya comparativement à la caséine et à la protéine de morue (Tableau 3), ce qui confirme les résultats obtenus chez le rat par Terpstra et al (207) avec la caséine et la protéine de soya. Cet effet pourrait être à l'origine de la diminution de la cholestérolémie observée chez les rats nourris de protéine de soya plutôt que de caséine. Pour ce qui est des concentrations hépatiques de triglycérides (Tableau 5), les protéines et les lipides alimentaires ont eu des effets indépendants soit une baisse des taux de triglycérides suite à la consommation de protéine de soya plutôt que de caséine et chez les rats nourris d'huile de menhaden plutôt que d'huile de coco. Même en présence d'huile de coco, la consommation de protéine de soya a résulté en de plus faibles concentrations hépatiques de triglycérides et de cholestérol que la caséine, ce qui est en accord avec plusieurs observations effectuées chez le rat (18, 207, 208). L'ajout de protéine de soya à l'huile de menhaden a accentué cet effet réducteur de l'huile de

menhaden sur les concentrations de triglycérides hépatiques, suggérant un effet additif de ces deux nutriments sur la teneur des triglycérides au foie, lequel pourrait être à l'origine de la diminution marquée des triglycérides sériques obtenue avec le régime soya-menhaden.

Il semble que la diminution des triglycérides hépatiques due à la consommation d'huile de poisson pourrait être attribuée à une diminution de leur synthèse par le foie (20, 83). Cette diminution des triglycérides hépatiques était toutefois moins marquée en présence de protéine de poisson (13%) qu'en présence des autres protéines, ce qui pourrait expliquer en partie l'absence d'effet hypotriglycéridémiant de l'huile de poisson lorsque combinée à la protéine de morue. La diminution des concentrations sériques de triglycérides n'était pas significative non plus lorsque l'huile de menhaden était combinée à la caséine (17% à jeun et 6% en phase post-prandiale). Cependant, cette combinaison a tout de même entraîné une diminution de 38% des taux de triglycérides hépatiques suggérant une diminution de la synthèse des triglycérides au foie sans une baisse concomitante du taux de sécrétion des triglycérides hépatiques dans le courant sanguin. Une hypothèse pourrait expliquer ces observations, bien qu'elle soit très spéculative. Beynen et al (1983) ont montré qu'il existe un seuil de saturation de cholestérol hépatique au-dessus duquel le foie ne semble plus avoir la capacité d'entreposer le cholestérol, d'où son élévation dans le sérum. Il pourrait peut-être y avoir un tel seuil de saturation pour les triglycérides hépatiques. La caséine entraînerait une "sursaturation" en triglycérides et il y aurait toujours une sécrétion élevée de triglycérides dans la circulation sanguine, malgré une diminution de synthèse hépatique favorisée par l'huile de poisson. Les concentrations hépatiques de triglycérides induites par la protéine de soya seraient plus faibles, donc sous le seuil de saturation, et donc reflétées par une baisse de sécrétion des VLDL. Dans le cas de la protéine de poisson cependant, les concentrations sériques de triglycérides ne sont pas abaissées, et un autre mécanisme pourrait être impliqué. Il semble qu'il n'y ait pas de diminution de la synthèse hépatique de triglycérides en présence de protéine de poisson. Ainsi, la protéine de poisson pourrait favoriser, comparativement à la caséine, une hausse du taux de synthèse et de renouvellement des triglycérides des VLDL et de l'apoB (205), ce qui expliquerait les concentrations élevées de triglycérides hépatiques et sériques observées.

Le **troisième objectif spécifique** visait à déterminer les effets respectifs et interactifs des protéines et des lipides alimentaires sur l'activité de la LPL dans le tissu adipeux blanc, le muscle squelettique et le coeur chez le rat à jeun et à l'état post-prandial. Deux effets protéiques ont été observés chez les **rats à jeun**. Premièrement, une augmentation de l'activité de la LPL au tissu adipeux épipidymal a été observée chez les rats nourris de protéine de morue plutôt que

de caséine ou de protéine de soya (Tableau 5). Bergeron et al (21) ont fait une observation semblable chez le lapin, soit une augmentation de l'activité de la LPL post-héparine avec protéine de morue comparativement à la protéine de soya. Il faut cependant mentionner que l'activité de la LPL sérique post-héparine ne reflète pas seulement l'activité de la LPL au tissu adipeux mais aussi celle des tissus musculaires. Le deuxième effet protéique était dû à une hausse de l'activité de la LPL au muscle vastus lateralis suite à la consommation de caséin plutôt que de protéine de soya et de protéine de morue.

Cependant, en **phase post-prandiale**, le seul effet significatif était un effet lipidique, c'est-à-dire que l'huile de poisson a entraîné une augmentation de l'activité de la LPL au coeur comparativement à l'huile de coco (Tableau 5). De plus, une corrélation négative significative a été observée entre l'activité de la LPL au coeur et les concentrations sériques de triglycérides, et ce, autant chez les rats à jeun ($n=59$; $r=-0.31$; $p=0.02$) qu'en phase post-prandiale ($n=59$; $r=-0.33$; $p=0.009$) (Figure 4). Baltzell et al (20) ont aussi observé chez le rat une augmentation de l'activité de la LPL au coeur et au muscle squelettique suite à la consommation d'huile de poisson, mais comparativement à la consommation d'huile de maïs. À noter cependant que les hausses de l'activité de la LPL au coeur dans la présente étude ne sont responsables que d'environ 10% de la diminution des triglycérides sériques ($r=0.096$ et 0.11 et à jeun et en phase post-prandiale respectivement).

Enfin, comme l'insuline est un modulateur important de l'activité de la LPL, et que par ailleurs cette hormone régule aussi la glycémie, nous avons voulu déterminer les effets indépendants et interactifs des protéines et des lipides alimentaires sur les concentrations sériques d'insuline et de glucose chez le rat à jeun et à l'état post-prandial (**quatrième objectif spécifique**). Aucun effet significatif n'a été observé sur ces paramètres, et ce autant à jeun qu'à l'état post-prandial (Tableau 6). Cette absence d'effet sur les concentrations d'insuline pourrait être due à la grande variabilité des valeurs insuliniques chez les rats nourris d'huile de poisson. Le tableau 6 montre les coefficients de corrélation de Pearson entre les niveaux d'insuline sérique et l'activité totale de la LPL dans les tissus. L'activité de la LPL au tissu adipeux épiploïque était corrélée de façon positive avec les concentrations sériques d'insuline à jeun. Les variations de l'insulinémie pouvaient expliquer environ 14% ($r^2=0.14$) des variations de l'activité de la LPL dans ce tissu. En considérant l'ensemble des rats, on a pu observer de très faibles corrélations entre l'activité de la LPL au muscle vastus lateralis et au coeur et les niveaux d'insuline sérique. Les variations de l'insulinémie ne pouvaient expliquer dans ce cas que 4% ($r^2=0.04$) des variations de l'activité de la LPL dans ces tissus. Ainsi, l'insulinémie et la glycémie à jeun et en phase post-prandiale ne nous permettent pas dans cette étude d'expliquer l'interaction entre les protéines

et les lipides alimentaires sur la triglycéridémie, ni la hausse d'activité de la LPL à jeun dans muscle vastus lateralis suite à la consommation de caséine et dans le tissu adipeux épидидymal suite à la consommation de protéine de morue. Ainsi, la possibilité que l'effet hypotriglycéridémiant de l'huile de poisson soit modulé par les protéines alimentaires via une régulation de l'activité tissulaire de la LPL par les concentrations sériques d'insuline n'a pas été confirmée par cette étude. Une telle possibilité ne peut cependant pas être éliminée, puisque le protocole expérimental utilisé ici n'a pas permis de mesurer de façon globale la réponse insulínique en phase post-prandiale.

4.3 Conclusion générale

Les résultats de la présente étude montrent qu'il existe une interaction entre les protéines et les lipides alimentaires dans la régulation de la triglycéridémie chez le rat. De plus, ils confirment l'hypothèse selon laquelle l'effet hypotriglycéridémiant de l'huile de poisson est modulé d'une façon différente par la protéine de poisson que par les autres protéines alimentaires. En effet, la protéine de morue, et de façon moins marquée la caséine, contrecarrent l'effet hypotriglycéridémiant de l'huile de poisson, alors que la protéine de soya l'augmente.

De plus, le mécanisme par lequel le régime soya-menhadén a entraîné une diminution de la triglycéridémie met en jeu une baisse des concentrations hépatiques de triglycérides. Une augmentation de l'activité de la LPL au muscle cardiaque serait aussi impliquée, de façon moins importante cependant. Pour ce qui est du rôle possible de l'insuline comme modulateur de l'activité de la LPL en réponse aux régimes expérimentaux, il n'a pas pu être confirmé probablement à cause de la nature du protocole expérimental choisi.

4.4 Limites de l'étude et perspectives de recherche

L'objectif principal de notre étude était de mettre en évidence une interaction possible entre les lipides et les protéines alimentaires dans la régulation du métabolisme lipidique chez le rat. Les différents paramètres lipidiques ont été mesurés à jeun et deux heures et demie après la prise d'un repas semblable au régime expérimental. Cependant, une mesure unique en phase post-prandiale ne permet pas d'évaluer de façon complète la réponse des différents paramètres après le repas. Par exemple, l'insuline sérique chez le rat atteint un maximum de trente minutes à une heure après la consommation alimentaire, et il n'est pas certain que le profil insulínique au moment du pic serait le même qu'à deux heures trente. Des mesures répétées dans le temps après la prise du repas permettraient de tracer la courbe de la réponse

insulinique, et d'avoir une idée plus globale de cette réponse. Il en est de même pour la mesure des concentrations sériques de triglycérides, dont on pourrait tracer la courbe dans le temps suite à la prise du repas, afin de déterminer si l'interaction protéines-lipides observée dans cette étude à deux heures et demie est aussi présente à d'autres moments de la phase postprandiale.

Les résultats obtenus dans cette étude suggèrent que la modulation de l'effet hypotriglycéridémiant de l'huile de poisson par les protéines alimentaires serait relié à la régulation des concentrations hépatiques de triglycérides (266, 267). Il serait intéressant de préciser de quelle façon s'exerce cette modulation en déterminant les effets sur les taux de synthèse et de sécrétion hépatiques des triglycérides des différentes protéines (caséine, protéine de morue et protéine de soya) en présence d'huile de poisson. Il a déjà été suggéré que l'effet hypotriglycéridémiant de l'huile de poisson soit lié à une diminution du taux de synthèse hépatique des triglycérides, mais il faudrait déterminer si le taux de sécrétion de triglycérides dans le sang varie parallèlement ou de façon différente de leur taux de synthèse. Ainsi, on pourrait mesurer l'activité des enzymes impliquées dans la synthèse des triglycérides, ainsi que le taux de sécrétion des VLDL dans le temps par injection de triton.

Ces études permettront d'élucider certains mécanismes impliqués dans la régulation du métabolisme des lipides suite à la consommation simultanée d'huile et de protéine de poisson. Il va sans dire que des études sur le métabolisme lipidique chez l'humain consommant du poisson gras, comparativement au poisson maigre, seront par la suite essentielles afin de vérifier les résultats obtenus chez l'animal.

BIBLIOGRAPHIE

1. Simons LA. Dietary fats in the causation of coronary heart disease. *Current Opin Lipidol* 1:23-7 (1990).
2. Connor WE et Connor SL. The key role of nutritional factors in the prevention of coronary heart disease. *Prev Med* 1: 49 (1972).
3. Ignatowsky A. Experimental arteriosclerosis produced by a diet of milk and egg yolk. *Arch Med Exp Anat Pathol* 20: 1-20 (1908).
4. Nagata Y, Tanaka K, Sugano M. Serum and liver cholesterol levels of rats and mice fed soybean protein or casein. *J Nutr Sci Vitaminol* 27: 583-593 (1981).
5. de Schrijver R. Cholesterol metabolism in mature and immature rats fed animal and plant protein. *J Nutr* 120: 1624-1632 (1990).
6. van Raaij JMA, Katan MB, Hautvast JGAJ, Hermus RJ. Effects of casein versus soy protein diets on serum cholesterol and lipoproteins in young healthy volunteers. *Am J Clin Nutr* 34: 1261-1270 (1981).
7. van Raaij JMA, Katan MB, West CE, Hautvast JGAJ. Influence of diets containing casein, soy isolate, and soy concentrate on serum cholesterol and lipoproteins in middle-aged volunteers. *Am J Clin Nutr* 35: 925-934 (1982).
8. Meinertz H, Nilausen K, Faergeman O. Soy protein and casein in cholesterol-enriched diet: effects on plasma lipoproteins in normolipemic subjects. *Am J Clin Nutr* 50: 786-793 (1989).
9. Hegsted DM, Ausman LM, Johnson JA, Dallal GE. Dietary fat and serum lipids: an evaluation of the experimental data. *Am J Clin Nutr* 57: 875-883 (1993).
10. Vega GL, Groszcek E, Wolf R, Grundy SM. Influence of polyunsaturated fats on composition of plasma lipoproteins and apolipoproteins. *J Lipid Res* 23: 811-822 (1982).

11. Gustafsson IB, Vessby B, Nydahl M. Effects of lipid-lowering diets enriched with monounsaturated and polyunsaturated fatty acids on serum lipoprotein composition in patients with hyperlipoproteinaemia. *Atherosclerosis* 96: 109-118 (1992).
12. Grundy SM. Cholesterol and atherosclerosis: diagnosis and treatment. Gower Medical Publishing, 101 Fifth Avenue, New York: 162 p. (1990).
13. Demacker PN, Reijnen IG, Katan MB, Stuyt PM, Stalenhoef AF. Increased removal of remnants of triglyceride-rich lipoproteins on a diet rich in polyunsaturated fatty acids. *Eur J Clin Invest* 21: 197-203 (1991).
14. Bang HO, Dyerberg J, Sinclair HM. The composition of the Eskimo food in north western Greenland. *Am J Clin Nutr* 33: 2657-2661 (1980).
15. Kromhout D, Bosschleter EB, deLezenne Coulander C. The inverse relationship between fish consumption and 20-year mortality from coronary heart disease. *N Engl J Med* 312: 1205-1209 (1985).
16. Harris WS. Fish oils and plasma lipid and lipoprotein metabolism in humans: a critical review. *J Lipid Res* 30: 785-807 (1989).
17. Connor WE, DeFrancesco CA, Connor SL. N-3 fatty acids from fish oil. Effects on plasma lipoproteins and hypertriglyceridemic patients. *Ann N Y Acad Sci* 683: 16-34 (1993).
18. Hurley C, Galibois I, Jacques H. Fasting and postprandial lipid and glucose metabolisms are modulated by dietary proteins and carbohydrates: role of plasma insulin concentrations. *J Nutr Biochem* 6: 540-546 (1995).
19. Bergeron N, Deshaies Y, Lavigne C, Jacques H. Interaction between dietary proteins and lipids in the regulation of serum and liver lipids in the rabbit. Effect of fish protein. *Lipids* 26: 759-764 (1991).
20. Balfzell JK, Wooten JT, Otto DA. Lipoprotein lipase in rats fed fish oil: apparent relationship to plasma insulin levels. *Lipids* 26: 289-294 (1991).

- 21.** Bergeron N, Dehaies Y, Jacques H. Dietary fish protein modulates high density lipoprotein cholesterol and lipoprotein lipase activity in rabbits. *J Nutr* 122: 1731-1737 (1992).
- 22.** Bergeron N, Deshaies Y, Jacques H. Factorial experiment to determine the influence of fish protein and fish oil on serum and liver lipids in rabbits. *Nutrition* 8: 354-358 (1992).
- 23.** Rustan AC, Hustvedt Bo-E, Drevon CA. Dietary supplementation of very long-chain n-3 fatty acids decreases whole body lipid utilization in the rat. *J Lipid Res* 34: 1299-1309 (1993).
- 24.** Eisenberg S et Levy RI. Lipoprotein metabolism. *Adv Lipid Res* 13: 1-89 (1975).
- 25.** Angelin B et Gibbons G. Lipid metabolism. *Current Opinion Lipidology* 4: 171-176 (1993).
- 26.** Illingworth DR. Lipoprotein metabolism. *Am J Kidney Dis* 22: 90-97 (1993).
- 27.** Luc G, Lecerf JM, Bard JM, Hachulla E, Fruchart JC, Devulder B. Cholestérol et athérosclérose. Paris: Masson, 246 p. (1991).
- 28.** Mahley RW. Atherogenic lipoproteins and coronary artery disease: concept derived from recent advances in cellular and molecular biology. *Circulation* 72: 943-948 (1985).
- 29.** Vance JE et Vance DE. Lipoprotein assembly and secretion by hepatocytes. *Annu Rev Nutr* 10: 337-356 (1990).
- 30.** Eisenberg S. High density lipoprotein metabolism. *J Lipid Res* 25: 1017-1058 (1984).
- 31.** Blisgaier CL et Glickman RM. Intestinal synthesis, secretion, and transport of lipoproteins. *Annu Rev Physiol* 45: 625-636 (1983).
- 32.** Shepherd J. Lipoprotein metabolism. An overview. *Drugs* 47: 1-10 (1994).
- 33.** Goldberg IJ, Scheraldi CA, Yakoub LK, Saxena U, Blisgaier CL. Lipoprotein apoC-II activation of lipoprotein lipase. Modulation by apolipoprotein A-IV. *J Biol Chem* 265: 4266-4272 (1990).
- 34.** Wang C-S, Hartsuck J, McConathy WJ. Structure and functional properties of lipoprotein lipase. *Biochim Biophys Acta* 1123: 1-17 (1992).

- 35.** Olivecrona T, Bengtsson-Olivecrona G, Peterson J, Villarò S, Deckelbaum RJ, Carpentier YA, Patsch J. What factors regulate the action of lipoprotein lipase?. *Adv Exp Med Biol* 285: 335-338 (1991).
- 36.** Mahley RW, Hui DY, Innerarity TL, Beisiegel U. Chylomicron remnant metabolism. Role of hepatic lipoprotein receptors in mediating uptake. *Arteriosclerosis Suppl* 19: I-14 - I-18 (1989).
- 37.** Newsholme EA et Leech AR. Biochemistry for the medical sciences. John Wiley & Sons (éd. 2). p. 330, 348, 358, 569-572, 611 et 714 (1983).
- 38.** Tall A, Sammet D, Granot E. Mechanisms of enhanced cholesteryl ester transfer from high density lipoproteins to apolipoprotein B-containing lipoproteins during alimentary lipemia. *J Clin Invest* 77: 1163-1172 (1986).
- 39.** Havel RJ. The formation of LDL: mechanisms and regulation. *J Lipid Res* 25: 1570-1576 (1984).
- 40.** Steinberg D, Parthasarathy S, Carew TE, Khoo JC, Witztun JL. Beyond cholesterol. Modifications of low density lipoprotein that increase its atherogenicity. *N Engl J Med* 320: 911-924 (1989).
- 41.** Pittman RC et Steinberg D. Sites and mechanisms of uptake and degradation of high density lipoproteins and low density lipoproteins. *J Lipid Res* 25: 1577-1585 (1984).
- 42.** Kurihara Y, Matsumoto A, Itakura H, Kodama T. Macrophage scavenger receptors. *Curr Opin Lipidol* 2: 295-300 (1991).
- 43.** Coetzee GA et Westhuyzen DR. Lipoprotein receptors in perspective. *Current Opin Lipidol* 1: 60-66 (1992).
- 44.** Tall AR. Plasma high density lipoproteins: metabolism and relationship to atherogenesis. *J Clin Invest* 86: 379-384 (1990).
- 45.** Tall AR et Small DM. Body cholesterol removal: role of plasma high-density lipoproteins. *Acc Lipid Res* 17: 1-51.
- 46.** Connelly PW. Lipoprotein lipase. *Can Med Assoc J* 143: 295 (1990).

- 47.** Eckel RH. Lipoprotein lipase. A multifunctional enzyme relevant to common metabolic diseases. *N Eng J Med* 320: 1060-1068 (1989).
- 48.** Eckel RH. Adipose tissue lipoprotein lipase. *In: Lipoprotein lipase*. Borenstajn J (éd). Elsevier, Chicago: 79-132 (1987).
- 49.** Coniglio JG. Free fatty acids in plasma may exert feed-back control of lipoprotein lipase activity. *Nutr Rev* 51: 18-19 (1993).
- 50.** Gibbons GF. Assembly and secretion of hepatic very-low-density lipoprotein. *Biochem J* 266: 1-13 (1990).
- 51.** Camps L, Reina M, Llobera M, Vilaro S, Olivecrona T. Lipoprotein lipase: cellular origin and functional distribution. *Am J Physiol* 258:C673-C681 (1990).
- 52.** Olivecrona T et Bengtsson-Olivecrona G. Lipoprotein lipase and hepatic lipase. *Current Opin Lipidol* 4: 187-196 (1993).
- 53.** Tall AR, Sammett D, Vita G, Deckelbaum RJ, Olivecrona I. Lipoprotein lipase enhances the cholesteryl ester transfer protein-mediated transfer of cholesteryl esters from high density lipoproteins to very low density lipoproteins. *J Biol Chem* 259: 9587-9594 (1984).
- 54.** Sammett D et Tall AR. Mechanisms of enhancement of cholesteryl ester transfer protein activity by lipolysis. *J Biol Chem* 260: 6687-6697 (1985).
- 55.** Kekki M. Lipoprotein-lipase action determining plasma high density lipoprotein cholesterol level in adult normolipemics. *Atherosclerosis* 37: 143-150 (1980).
- 56.** Kuusi T, Ehnolm C, Viikari J. Postheparin plasma lipoprotein and hepatic lipase are determinants of hypo- and hyperalphalipoproteinemia. *J Lipid Res* 30: 1117-1126 (1989).
- 57.** St-Amand J, Després J-P, Lemieux S, Lamarche B, Moorjani S, Prud'homme D, Bouchard C, Lupien PJ. Does lipoprotein or hepatic lipase activity explain the protective lipoprotein profile of premenopausal women? *Metabolism* 44: 491-498 (1995).

58. Patten RL. The reciprocal regulation of lipoprotein lipase activity and hormone-sensitive lipase activity in rat adipocytes. *J Biol Chem* 245: 5577-5584 (1970).
59. Vydellingum N, Kissebah AH, Wynn V. The role of calcium in insulin action. *Horm Metab Res* 10: 38-46 (1978).
60. Ashby P, Bennett DP, Spencer IM, Robinson DS. Post-translational regulation of lipoprotein lipase activity in adipose tissue. *Biochem J* 176: 865-872 (1978).
61. Tikkanen MJ et Nikkilä EA. Regulation of hepatic lipase and serum lipoproteins by sex steroids. *Am Heart J* 113: 562-567 (1987).
62. Taskinen MR et Kuusi T. Enzymes involved in triglyceride hydrolysis. *Baillière's Clin Endo Metab* 1: 639-666 (1987).
63. Sorva R, Kuusi T, Dunkel L, Taskinen MR. Effect of endogenous sex steroids on serum lipoproteins and postheparin plasma lipolytic enzymes. *J Clin Endo Metab* 66: 408-413 (1988).
64. Thomas JH et Gilham B. *Will's Biochemical Basis of Medicine*. Butterworth & Co Ltd. (Publishers), 2e édition, p. 195-198 et 212-216 (1989).
65. Coppack SW, Evans RD, Fisher RM, Frayn KM, Gibbons GF, Humphreys SM, Kirk ML, Potts JL, Hockaday TDR. Adipose tissue metabolism in obesity: lipase action in vivo before and after a mixed meal. *Metabolism* 41: 264-272 (1992).
66. Unger RH. Insulin-glucagon relationship's in the defense against hypoglycemia. *Diabetes* 32: 575-583 (1983).
67. Unger RH. Glucagon and the insulin:glucagon ratio in diabetes and other catabolic illnesses. *Diabetes* 20: 834-8838 (1971).
68. Unger RH. Alpha- and beta-cell interrelationships in health and disease. *Metabolism* 23: 581-593 (1974).
69. Després JP et Marette A. Relation of components of insulin resistance syndrome to coronary disease risk. *Current Opin Lipidol* 5: 271-289 (1994).

- 70.** Frayn KN et Coppack SW. Insuline resistance, adipose tissue and coronary heart disease. *Clin Science* 82: 1-8 (1992).
- 71.** Rothman DL, Shulman RG, Schulman GI. ^{31}P nuclear magnetic resonance measurements of muscle glucose-6-phosphate. Evidence for reduced insulin-dependent muscle glucose transport or phosphorylation activity in non-insulin-dependent diabetes mellitus. *J Clin Invest* 89: 1069-1075 (1992).
- 72.** Reaven GM. Role of insulin resistance in human disease. *Diabetes* 37: 1595-1607 (1988).
- 73.** Kissebah AH et Schectman G. Hormones and lipoprotein metabolism. *Baillière's Clin Endocrinol Metab* 1: 699-725 (1987).
- 74.** Lewis GF, Zinman B, Uffelman KD, Szeto L, Weller B, Steiner G. VLDL production is decreased to a similar extent by acute portal vs peripheral venous insulin. *Am J Physiol* 267: E566-E572 (1994).
- 75.** Patsch W, Franz S, Schonfeld G. Role of insulin in lipoprotein secretion by cultured rat hepatocytes. *J Clin Invest* 71: 1161-1174 (1983).
- 76.** Laws A, King AC, Haskell WL, Reaven GM. Relation of fasting plasma insulin concentration to high density lipoprotein cholesterol and triglyceride concentrations in men. *Arterioscler Thromb* 11: 1636-1642 (1991).
- 77.** Brunzell JD, Schwartz RS, Eckel RH, Goldberg AP. Insulin and adipose tissue lipoprotein lipase activity in humans. *Intern J Obesity* 5: 685-694 (1981).
- 78.** Kiens B, Lithell H, Mikines KJ, Richter EA. Effects of insulin and exercise on muscle lipoprotein lipase activity in man and its relation to insulin action. *J Clin Invest* 84: 1124-1129 (1989).
- 79.** Farese RV, Yost TJ, Eckel RH. Tissue-specific regulation of lipoprotein lipase activity by insulin/glucose in normal-weight humans. *Metabolism* 40: 214-216 (1991).
- 80.** Ferrannini E, Haffner SM, Mitchell BD, Stern MP. Hyperinsulinemia: the key feature of a cardiovascular and metabolic syndrome. *Diabetologia* 34: 416-422 (1991).
- 81.** Reaven GM. Syndrome X: 6 years later. *J Intern Med* 236 (Suppl. 736): 13-22 (1994).

82. Frayn KN. Insulin resistance and lipid metabolism. *Current Opin Lipidology* 4: 197-204 (1993).
83. Haug A et Hostmark AT. Lipoprotein lipases, lipoproteins and tissue lipids in rats fed fish oil or coconut oil. *J Nutr* 117: 1011-1017 (1987).
84. Herzberg GR et Rogerson M. The effect of dietary fish oil on muscle and adipose tissue lipoprotein lipase. *Lipids* 24: 351-353 (1989).
85. Dolphin PJ, Amy RM, Koeslag DG, Limoges BF, Russell JC. Reduction of hyperlipidemia in LA/N-Corpulent rat by dietary fish oil containing n-3 fatty acids. *Biochim Biophys Acta* 962: 317-322 (1988).
86. Lovati MR, Manzoni C, Mosconi C, Colli S, Sirtori CR, Furnagalli C, Clementi F. Reduced platelet aggregability and increased vascular prostacyclin formation in a variant rat strain (IVA-SIV) with endogenous hypertriglyceridemia. *Atherosclerosis* 74: 169-177 (1988).
87. Storlien LH, Jenkins AB, Chisholm DJ, Pascoe WS, Khouri S, Kregen EW. Influence of dietary fat composition on development of insulin resistance in rats. Relationship to muscle triglyceride and w-3 fatty acids in muscle phospholipid. *Diabetes* 40: 280-289 (1991).
88. Maron DJ, Fair JM, Haskell WL, Stanford Coronary Intervention Project Investigators and Staff. Saturated fat intake and insulin resistance in men with coronary artery disease. *Circulation* 84: 2020-2027 (1991).
89. Trevisan M, Krogh V, Freudenheim J, Blake A, Muti P, Panico S, Farinero E, Mancini M, Menotti A, Ricci G. Consumption of olive oil, butter and vegetable oils and coronary heart disease risk factors. *JAMA* 263: 688-692 (1990).
90. Storlien LH, Burleigh KM, Chisholm DJ. Fat feeding causes widespread in vivo insulin resistance, decreased energy expenditure, and obesity in rats. *Am J Physiol* 251: E576-E583 (1986).
91. Sugano M, Ishiwaki N, Nakashima K. Dietary protein-dependent modification of serum cholesterol level in rats. Significance of the arginine/lysine ratio. *Ann Nutr Metab* 28: 192-199 (1984).

- 92.** Sugano M, Ishiwaki N, Nagata Y, Imaizumi K. Effects of arginine and lysine addition to casein and soya-bean protein on serum lipids, apolipoproteins, insulin and glucagon in rats. *Br J Nutr* 4: 211-221 (1982).
- 93.** Hubbard RW, Kosch CL, Sanchez A, Sabate J, Berk L, Shavlik G. The effect of dietary protein on serum insulin and glucagon levels in hyper- and normocholesterolemic men. *Atherosclerosis* 76: 55 (1989).
- 94.** Hubbard RW et Sanchez A. Dietary protein control of serum cholesterol by insulin and glucagon. In: Dietary proteins, cholesterol metabolism and atherosclerosis. *Monogr Atherosclerosis* Sugano M et Beynen AC (eds), Karger, Basel 16: 139-147 (1990).
- 95.** Day CE, Phillips WA, Schurr PE. Animal models for an integrated approach to the pharmacological control of atherosclerosis. *Artery* 5: 90-96 (1979).
- 96.** Myant NB. The plasma cholesterol: composition and metabolism. In: The biology of cholesterol and related steroids. Heinemann Medical Books, London: 507-510 (1981).
- 97.** Mc Namara DJ. Dietary cholesterol: effects on lipid metabolism. *Current Opin Lipidol* 1: 18-22 (1990).
- 98.** Katan MB et Beynen AC. Characteristics of human hypo- and hyperresponders to dietary cholesterol. *Am J Epidemiol* 125: 387-399 (1987).
- 99.** Beynen AC et Katan MB. Impact of dietary cholesterol and fatty acids on serum lipids and lipoproteins in man. In: Crawford M, Vergroesen AJ, The role of fats in human nutrition, 2e éd. London Academic: 237-286 (1989).
- 100.** Dubois C, Armand M, Mekki N, Portugal H, Pauli AM, Bernard PM, Lafont H, Lairon D. Effects of increasing amounts of dietary cholesterol on postprandial lipemia and lipoproteins in human subjects. *J Lipid Res* 35: 1993-2007 (1994).
- 101.** Packard CJ, Mc Kinney L, Carr K, Shepherd J. Cholesterol feeding increases low density lipoprotein synthesis. *J Clin Invest* 72: 45-41 (1983).

- 102.** Lichtenshtein AH, Ausman LM, Carrasco W, Jenner JL, Ordovas JM, Schaefer E. Hypercholesterolemic effect of dietary cholesterol in diets enriched in polyunsaturates and saturated fat. dietary cholesterol, fat saturation and plasma lipids. *Arterioscler Thromb* 14: 168-175 (1994).
- 103.** Fungwe TV, Cagen L, Wilcox HG, Heimberg M. Regulation of hepatic secretion of very low density lipoprotein by dietary cholesterol. *J Lipid Res* 33: 179-191 (1992).
- 104.** Smit MJ, Kuipers F, Vonk RJ, Temmerman AM, Jaekle S, Windler EET. *Hepatology* 17: 445-450 (1993).
- 105.** Holmgren PR et Brown AC. Serum cholesterol levels on nondiabetic and streptozotocin diabetic rats fed a high cholesterol diet. *Artery* 20: 337-345 (1993).
- 106.** Adamopoulos PN, Papamichael CM, Zampelas A, Mouloupoulos SD. Cholesterol and unsaturated fat diets influence lipid and glucose concentrations in rats. *Comp Biochem Physiol* 113: 659-663 (1996).
- 107.** Lu YF et Wu HL. Effect of monounsaturated fatty acids on fixed P/S and n-6/n-3 ratios on lipid metabolism in rats. *J Nutr Sci Vitaminol* 40: 189-200 (1994).
- 108.** Lee JH, Ikeda I, Sugano M. Dietary cholesterol influences on various lipid indices and eicosanoid production in rats fed dietary fat desirable for the protection of ischemic heart disease. *J Nutr Sci Vitaminol* 37: 389-400 (1991).
- 109.** Fungwe TV, Cagen LM, Cook GA, Wilcox HG, Heimberg M. Dietary cholesterol stimulates hepatic biosynthesis of triglyceride and reduces oxydation of fatty acids in the rat. *J Lipid Res* 34: 933-941 (1993).
- 110.** Imaizumi K, Nagatomi A, Sato M, Tominaga A, Sugano M. Cholesterol metabolism in ExHC (exogenous hypercholesterolemic) rats. *Biochim Biophys Acta* 1123: 101-109 (1992).
- 111.** Spady DK et Dietschy JM. Interaction of dietary cholesterol and triglycerides in the regulation of hepatic low density lipoprotein transport in the hamster. *J Clin Invest* 81: 300-309 (1988).

112. Spady DK et Dietschy J. Dietary saturated triglycerides suppress hepatic low density lipoprotein receptors in the hamster. *Proc Natl Acad Sci USA* 82: 4526-4230 (1985).
113. Maechler P, Wolleilm CB, Bentzen CL, Nlesor E. Importance of exogenous cholesterol in diabetic rats: effects of treatment with insulin or with an acyl-CoA: cholesterol acyltransferase inhibitor. *Ann Nutr Metab* 37: 199-209 (1993).
114. Hayes KC. Saturated fats and blood lipids: new slant on an old story. *Can J Cardiol* 11 Suppl G: 39G-46G (1995).
115. Schwab US, Niskanen LK, Malliranta HM, Savolainen MJ, Kesaniemi YA, Uusitupa MI. Lauric and palmitic acid-enriched diets have minimal impact on serum lipid and lipoprotein concentrations and glucose metabolism in healthy young women. *J Nutr* 125: 466-473 (1995).
116. Khosla P et Hayes KC. Dietary palmitic acid raises plasma LDL cholesterol relative to oleic acid only at a high intake of cholesterol. *Biochim Biophys Acta* 1210: 13-22 (1993).
117. Sessions VA et Salter AM. The effects of different dietary fats and cholesterol on serum lipoprotein concentrations in hamsters. *Biochim Biophys Acta* 1211: 207-214 (1994).
118. Bonanome A et Grundy SM. Effect of dietary stearic acid on plasma cholesterol levels and lipoprotein levels. *N Engl J Med* 318: 1244-1248 (1988).
119. Mensink RP, Temme EH, Hornstra G. Dietary saturated and trans fatty acids and lipoprotein metabolism. *Ann Med* 26: 461-464 (1994).
120. Yu S, Derr J, Etherton TD, Kris-Etherton PM. Plasma cholesterol-predictive equations demonstrate that stearic acid is neutral and monounsaturated fatty acids are hypocholesterolemic. *Am J Clin Nutr* 61: 1129-1139 (1995).
121. Abe K, Imaizumi K, Sugano M. Effects of different triglyceride saturated fatty acids on tissue lipid level, fatty acid composition, fecal steroid excretion, prostacyclin production, and platelet aggregation in rats. *Bioscience Biotechnol Biochem* 57: 247-252 (1993).

93

122. Jeffery NM, Yakoob P, Wiggins D, Gibbons GF, Newsholme EA, Calder PC. Characterization of lipoprotein composition in rats fed different dietary lipids and of the effects of lipoproteins upon lymphocyte proliferation. *J Nutr Biochem* 7: 282-292 (1996).

123. Woollett LA, Spady DK, Dietschy JM. Regulatory effects of the saturated fatty acids 6:0 through 18:0 on hepatic low density lipoprotein receptor activity in the hamster. *J Clin Invest* 89: 1133-1141 (1992).

124. Grundy SM. Dietary therapy of hyperlipidemia. *Baillière's Clin Endo Metab* 1: 667-698 (1987).

125. Hennessy LK, Osada J, Ordovas JM, Nicolosi RJ, Stucchi AF, Brousseau ME, Schaefer EJ. Effects of dietary fats and cholesterol on liver lipid content and hepatic apolipoprotein A-I, B and E and LDL receptor mRNA levels in cebus monkeys. *J Lipid Res* 33: 351-360 (1992).

126. Horton JD, Cuthbert JA, Spady DK. Dietary fatty acids regulate hepatic low density lipoprotein (LDL) transport by altering LDL receptor protein and mRNA levels. *J Clin Invest* 92: 743-749 (1993).

127. Woollett LA et Dietschy JM. Effect of long-chain fatty acids on low-density-lipoprotein-cholesterol metabolism. *Am J Clin Nutr* 60 (Suppl 6): 991S-996S (1994).

128. Wang S et Koo SI. Evidence for distinct metabolic utilization of stearic acid in comparison with palmitic and oleic acids in rats. *J Nutr Biochem* 4: 594-601 (1993).

129. Kurushima H, Hayashi K, Shingu T, Kuga Y, Ohtani H, Okura Y, Tanaka K, Yasunobu Y, Nomura K, Kajiyama G. Opposite effects on cholesterol metabolism and their mechanisms induced by dietary oleic acid and palmitic acid in hamsters. *Biochim Biophys Acta* 1258: 251-256 (1995).

130. Thomson AB, Keelan M, Rajotte RV, Cheng T, Fedorak RN, Cheeseman C, Clandinin MT. Long-term effects of manipulations of dietary omega-3 fatty acids on clinical control and in vitro uptake of glucose and lipids in diabetic rats. *Diabetes Res* 15: 85-93 (1990).

131. Keys A, Anderson JT, Grande F. Serum cholesterol response to changes in the diet. IV. Particular saturated fatty acids in the diet. *Metabolism* 14: 776-787 (1965).

132. Hegsted DM, McGundy RB, Myers ML, Stare FJ. Quantitative effects of dietary fat on serum cholesterol in man. *Am J Clin Nutr* 17: 281-295 (1965).

133. Vaista LM, Jauhianen M, Aro A, Katan MB, Mutanen M. Effects of monounsaturated rapeseed oil and polyunsaturated sunflower oil diet on lipoprotein levels in humans. *Arteriosclerosis Thromb* 12: 50-57 (1992).

134. Nydahl MC, Gustafsson IB, Vessby B. Lipid-lowering diets enriched with monounsaturated or polyunsaturated fatty acids but low in saturated fatty acids have similar effects on serum lipid concentrations in hyperlipidemic patients. *Am J Clin Nutr* 59: 115-122 (1994).

135. Gustafsson IB, Vessby B, Ohrvall M, Nydahl M. A diet rich in monounsaturated rapeseed oil reduces the lipoprotein cholesterol concentration and increases the relative content of n-3 fatty acids in serum in hyperlipidemic subjects. *Am J Clin Nutr* 59: 667-674 (1994).

136. Mata P, Alvares-Sala LA, Rubio MJ, Nuno J, De Oya M. Effects of long-term monounsaturated- vs polyunsaturated-enriched diets on lipoproteins in healthy men and women. *Am J Clin Nutr* 55: 846-850 (1992).

137. de Bruin TWA, Brouwer CB, van Linde-Sibenius Trip M, Jansen H, Erkelens DW. Different postprandial metabolism of olive oil and soybean oil: a possible mechanism of the high-density lipoprotein conserving effect of olive oil. *Am J Clin Nutr* 58: 477-483 (1993).

138. Groener JE, van Ramshorst EM, Katan MB, Mensink RP, van Tol A. Diet-induced alteration in the activity of plasma lipid transfer protein in normolipidemic human subjects. *Atherosclerosis* 87: 221-226 (1991).

139. Brousseau ME, Stucchi AF, Vespa DB, Schaefer EJ, Nicolosi RJ. A diet enriched in monounsaturated fats decreases low density lipoprotein concentrations in cynomolgus monkeys by a different mechanism than does a diet enriched in polyunsaturated fats. *J Nutr* 123: 2049-2058 (1993).

140. Shekelle et al. Diet, serum cholesterol, and death from coronary heart disease. *N Engl J Med* 304: 65-70 (1981).

141. Hodgson JM, Wahlqvist ML, Boxall JA, Balazs ND. Can linoleic acid contribute to coronary artery disease? *Am J Clin Nutr* 58: 228-234 (1993).

142. Fumeron F, Brigant L, Parra HJ, Bard JM, Fruchart JC, Apfelbaum M. Lowering of HDL2-cholesterol and lipoprotein A-I particle levels by increasing the ratio of polyunsaturated to saturated fatty acids. *Am J Clin Nutr* 53: 655-659 (1991).
143. Mikkelsen L, Hansen HS, Grunnet N, Dich J. Inhibition of fatty acid synthesis in rat hepatocytes by exogenous polyunsaturated fatty acids is caused by lipid peroxidation. *Biochim Biophys Acta* 1166: 99-104 (1993).
144. Sanders TAB. Dietary fatty acids: effects on lipid metabolism. *Current Opin Lipidol* 1: 12-17 (1990).
145. Turner JD, Le N-A, Brown WV. Effect of changing dietary fat saturation on low-density lipoprotein metabolism in man. *Am J Physiol* 241: E57-E63 (1981).
146. Grundy SM et Denke MA. Dietary influences on serum lipids and lipoproteins. *J Lipid Res* 31: 1149-1172 (1990).
147. Phillipson BE, Rothrock DW, Connor WE, Harris WE, Illingworth DR. Reduction of plasma lipids, lipoproteins and apoproteins by fish oils in patients with hypertriglyceridemia. *N Engl J Med* 312: 1210-1216 (1985).
148. Annuzzi G, Rivellese A, Capaldo B, Di Marino L, Iovine C, Marotta G, Riccardi G. A controlled study on the effects of n-3 fatty acids on lipid and glucose metabolism in non-insulin-dependent diabetic patients. *Atherosclerosis* 87: 65-73 (1991).
149. Boberg M, Pollare T, Siegbahn A, Vessby B. Supplementation with n-3 fatty acids reduces triglycerides but increases PAI-1 in non-insulin-dependent diabetes mellitus. *Eur J Clin Invest* 22: 645-650 (1992).
150. Zampelas A, Murphy M, Morgan LM, Williams CM. Postprandial lipoprotein lipase, insulin and gastric inhibitory polypeptide responses to test meals of different fatty acid composition: comparison of saturated, n-6 and n-3 polyunsaturated fatty acids. *Eur J Clin Nutr* 48: 849-858 (1994).
151. Lovejoy J et DiGirolamo M. Habitual dietary intake and insulin sensitivity in lean and obese adults. *Am J Clin Nutr* 55: 1174-1179 (1992).

- 152.** Parker DR, Welis ST, Troisi R, Cassano PA, Vokonas PS, Landsberg L. Relationship of dietary saturated fatty acids and body habitus to serum insulin concentrations: the Normative Aging Study. *Am J Clin Nutr* 58: 129-136 (1993).
- 153.** Maron DJ, Fair JM, Haskell WL, Stanford Coronary Intervention Project Investigators and Staff. Saturated fat intake and insulin resistance in men with coronary artery disease. *Circulation* 84: 2020-2027 (1991).
- 154.** Beynen AC. The level of plasma cholesterol, a determinant of glucose tolerance? *Am J Clin Nutr* 37: 155 (1983).
- 155.** Després JP et Marette A. Relation of components of insulin resistance syndrome to coronary disease risk. *Current Opin Lipidol* 5: 271-289 (1994).
- 156.** Feskens JM, Loeber JG, Kromhout D. Diet and physical activity as determinants of hyperinsulinemia: the Zutphen Elderly Study. *Am J Epidemiol* 140: 350-360 (1994).
- 157.** West KM et Kalbfleisch JM. Influence of nutritional factors on prevalence of diabetes. *Diabetes* 20: 99-108 (1971).
- 158.** Vessby B, Aro A, Skarfors E, Berglund L, Salminen I, Lithell H. The risk to develop NIDDM is related to the fatty acid composition of the serum cholesterol esters. *Diabetes* 43: 1353-1357 (1994).
- 159.** Budohoski L, Panczenko-Kresowska B, Langfort J, Zernicka E, Dubaniewicz A, Ziemiński S, Chaliss RA, Newsholme EA. Effects of saturated and polyunsaturated fat enriched diet on the skeletal muscle insulin sensitivity in young rats. *J Physiol Pharmacol* 44: 391-398 (1993).
- 160.** Hunnicut JW, Hardy RW, Williford J, McDonald JM. Saturated fatty acid-induced insulin resistance in rat adipocytes. *Diabetes* 43: 540-545 (1994).
- 161.** Olefsky JM et Saekow M. The effects of dietary carbohydrate content on insulin binding and glucose metabolism by isolated rat adipocytes. *Endocrinology* 103: 2252-2263 (1978).
- 162.** van Amelsvoort JMM, van der Beek A, Stam JJ. Effects of the type of dietary fatty acid on the insulin receptor function in rat epididymal fat cell. *Ann Nutr Metab* 30: 273-280 (1986).

- 163.** Lavau M, Fried SK, Susini C, Freychet P. Mechanism of insulin resistance in adipocytes of rats fed a high-fat diet. *J Lipid Res* 20: 8-16 (1979).
- 164.** Bonanome A, Visonà A, Lusiani L, Beltramello G, Confortin L, Biffanti S, Sorgato F, Costa Pagnan A. Carbohydrate and lipid metabolism in patients with non-insulin-dependent diabetes mellitus: effects of a low-fat, high-carbohydrate diet vs a diet high in monounsaturated fatty acids. *Am J Clin Nutr* 54:586-590 (1991).
- 165.** Lerman-Garber I, Ichazo-Cerro S, Zamora-Gonzales J, Cardoso-Saldana G, Posada Romero C. Effect of a high-monounsaturated fat diet enriched with avocado in NIDDM patients. *Diabetes care* 17: 311-315 (1994).
- 166.** Garg A, Bonanome A, Grundy SM, Zhang ZJ, Unger RH. Comparison of a high carbohydrate diet with a high monounsaturated fat diet in patients with non-insulin-dependent diabetes mellitus. *N Engl J Med* 319:829-834 (1988).
- 167.** Rasmussen OW, Thomsen C, Hansen KW, Vesterlund M, Winther E, Hermansen K. Effects on blood pressure, glucose, and lipid levels of a high-monounsaturated fat diet compared with a high-carbohydrate diet in NIDDM subjects. *Diabetes care* 16: 1565-1571 (1993).
- 168.** Campbell LV, Marmot PE, Dyer JA, Borkman M, Storlien LH. The high-monounsaturated fat diet as a practical alternative for NIDDM. *Diabetes care* 17: 177-182 (1994).
- 169.** Kromann N et Green A. Epidemiological studies in the Upenavik District, Greenland: Incidence of some chronic diseases 1950-1974. *Acta Med Scand* 208: 401-406 (1980).
- 170.** Sagild U, Littauer J, Sand Jespersen C, Andersen S. Epidemiological studies in Greenland 1962-1964: I. Diabetes mellitus in Eskimos. *Acta Med Scand* 179: 29-39 (1966).
- 171.** Snowdon DA et Phillips RL. Does a vegetarian diet reduce the occurrence of diabetes? *Am J Public Hlth* 75: 507-512 (1985).
- 172.** Field CJ, Toyomizer M, Clandinin MT. Relationship between dietary fat, adipocyte membrane composition and insulin binding in the rat. *J Nutr* 119: 1483-1489 (1989).

- 173.** Field CJ, Ryan EA, Thomson AB, Clandinin MT. Diet fat composition alters membrane phospholipid composition, insulin binding, and glucose metabolism in adipocytes from control and diabetic animals. *J Biol Chem* 265: 11143-11145 (1990).
- 174.** Awad AB. Effect of dietary lipids on composition and glucose utilization by rat adipose tissue. *J Nutr* 111: 34-39 (1981).
- 175.** Lardinols CK et Starich GH. Polyunsaturated fats enhance peripheral glucose utilization in rats. *J Am Coll Nutr* 10: 340-345 (1991).
- 176.** Pan J-S et Berdanier CD. Dietary fat saturation affects glucose metabolism without affecting insulin receptor number and affinity in adipocytes from BHE rats. *J Nutr* 121: 1811-1819 (1991).
- 177.** Heine RJ, Mulder C, Popp-Snijders C, van der Meer J, Van der Venn EA. Linoleic acid enriched diet: long-term effects on serum lipoprotein and apoprotein concentrations and insulin sensitivity in non-insulin-dependent diabetic patients. *Am J Clin Nutr* 49: 448-456 (1989).
- 178.** Borkman M, Storlien LH, Pan DA, Jenkins AB, Chisholm DJ, Cambell LV. The relation between insulin sensitivity and the fatty-acid composition of skeletal-muscle phospholipids. *N Engl J Med* 328: 238-244 (1993).
- 179.** Liu S, Baracos VE, Quinney HA, Clandinin T. Dietary w-3 and polyunsaturated fatty acids modify acyl composition and insulin binding in skeletal-muscle sarcolemma. *Biochem J* 299: 831-837 (1994).
- 180.** Behme MT, Dupre J, Holub BJ, Philbrick D-J. Dietary fish oil does not alter glucose tolerance in conscious rats. *J Nutr* 123: 2085-2089 (1993).
- 181.** Islin H, Capito K, Hansen SE, Hedekov CJ, Thams P. Ability of omega-3 fatty acids to restore the impaired glucose tolerance in a mouse model for type-2 diabetes. Different effects in male and female mice. *Acta Physiol Scand* 143: 153-60 (1991).
- 182.** Yudkin J. Diet and coronary thrombosis. Hypothesis and fact. *Lancet* 2: 155-162 (1957).
- 183.** Carroll KK. Hypercholesterolemia and atherosclerosis: effect of dietary protein. *Fed Proc* 41: 2792-2796 (1982).

- 184.** Forsythe WA, Green MS, Anderson JJB. Dietary protein effects on cholesterol and lipoprotein concentrations: A review. *J Am Coll Nutr* 5: 533-549 (1986).
- 185.** Huff MW et Carroll KK. Effects of dietary protein turnover, oxidation and absorption of cholesterol, and on steroid excretion in rabbits. *J Lipid Res* 21: 546-558 (1980).
- 186.** Carroll KK et Kurowska EM. Soy consumption and cholesterol reduction: review of animal and human studies. *J Nutr* 125 (Suppl 3): 594S-597S (1995).
- 187.** Scholz KE, Beynen AC, West CE. Comparison between the hypercholesterolemia in rabbits induced by semipurified diets containing either cholesterol or casein. *Atherosclerosis* 44: 85-90 (1982).
- 188.** Terpstra AHM, Sanchez-Muniz FJ. Time course of the development of hypercholesterolemia in rabbits fed semipurified diets containing casein or soybean protein. *Atherosclerosis* 39: 217-222 (1981).
- 189.** Carroll KK, Giovannetti PM, Huff MW, Moase O, Roberts DCK, Wolfe BM. Hypocholesterolemic effect of substituting soybean protein for animal protein in the diet of healthy young men. *Am J Clin Nutr* 31: 1312-1321 (1978).
- 190.** Meinertz H, Faergeman O, Nilausen K, Chapman MJ, Goldstein S, Laplaud PM. Effects of soy protein and casein in low cholesterol diets on plasma lipoproteins in normolipidemic subjects. *Atherosclerosis* 72: 63-70 (1988).
- 191.** Sirtori CR, Agradi E, Conti F, Mantero O, Gatti E. Soybean-protein diet in the treatment of type II hyperlipoproteinaemia. *Lancet* (february) 275-277 (1977).
- 192.** Wolfe BM, Giovannetti PM, Cheng DCH, Roberts DCK, Carroll KK. Hypolipidemic effect of substituting soybean protein isolate for all meat and dairy protein in the diets of hypercholesterolemic men. *Nutrition Reports International* 24: 1187-1198 (1981).
- 193.** Carroll KK. Review of clinical studies on cholesterol-lowering response to soy protein. *J Am Diet Assoc* 91: 820-827 (1991).

194. Bauer JE. Serum lipoproteins of rabbits fed semi-purified diets varying in protein and carbohydrate source. *J Am Oil Chem Soc* 64: 1183-1192 (1987).
195. Kurowska EM, Hrabek-Smith JM, Carroll KK. Compositional changes in serum lipoproteins during developing hypercholesterolemia induced in rabbits by cholesterol-free, semipurified diets. *Atherosclerosis* 78: 159-165 (1989).
196. Beynen AC, den Engelsman G, Scholz KE, West CE. Casein-induced hypercholesterolemia in rabbits: Distribution of cholesterol, triglycerides, and phospholipids between serum and liver. *Ann Nutr Metab* 27: 117-124 (1983).
197. Terpstra AH, Holmes JC, Nicolosi RJ. The hypocholesterolemic effect of dietary soybean protein vs casein in hamsters fed cholesterol-free or cholesterol-enriched semipurified diets. *Nutr* 121: 944-947 (1991).
198. Anderson JW, Johnstone BM, Cook-Newell ME. Meta-analysis of the effects of soy protein intake on serum lipids. *N Eng J Med* 333: 276-282 (1995).
199. Jacques H, Laurin D, Moorjani S, Steinke FH, Gagné C, Brun D, Lupien PJ. Influence of diet containing cow's milk or soy protein beverage on plasma lipids in children with familial hypercholesterolemia. *J Am Coll Nutr* 11(Suppl): 69S-73S (1992).
200. Carroll KK et Hamilton RMG. Effects of dietary protein and carbohydrate on plasma cholesterol levels in relation to atherosclerosis. *J Food Sci* 40: 18-23 (1975).
201. Kritchevsky D, Tepper SA, Czarnecki SK, Klurfeld DM. Atherogenicity of animal and vegetable protein. Influence of the lysine to arginine ratio. *Atherosclerosis* 41: 429-431 (1982).
202. Bergeron N et Jacques H. Influence of fish protein as compared to casein and soy protein on serum and liver lipids, and on serum lipoprotein cholesterol levels in the rabbit. *Atherosclerosis* 78: 113-121 (1989).
203. Zhang X et Beynen AC. Influence of dietary fish proteins on plasma liver cholesterol concentrations in rats. *Br J Nutr* 69: 767-777 (1993).

- 204.** Jacques H, Noreau L, Moorjani S. Effects on plasma lipoproteins and endogenous sex hormones of substituting lean white fish for other animal-protein sources in diets of postmenopausal women. *Am J Clin Nutr* 55: 896-901 (1992).
- 205.** Gascon A, Jacques H, Moorjani S, Deshaies Y, Brun L-D, Julien P. Plasma lipoprotein profile and lipolytic activities in response to the substitution of lean white fish for other animal protein sources in premenopausal women. *Am J Clin Nutr* 63: 315-321 (1996).
- 206.** Jacques H, Gascon A, Bergeron N, Lavigne C, Hurley C, Deshaies Y, Moorjani S, Julien P. Role of dietary fish protein in the regulation of plasma lipids. *Can J Cardiol* 11 Suppl G: 63G-71G (1995).
- 207.** Terpstra AHM, Van Tintelen G, West CE. The effect of semipurified diets containing different proportions of either casein or soybean protein on the concentration of cholesterol in whole serum, serum lipoproteins and liver in male and female rats. *Atherosclerosis* 42: 85-95 (1982).
- 208.** Iritani N, Nagashima K, Fukuda H, Katsurada A, Tanaka T. Effects of dietary proteins on lipogenic enzymes in rat liver. *J Nutr* 116: 190-197 (1986).
- 209.** Lovati MR, West CE, Sirtori CR, Beynen AC. Dietary animal proteins and cholesterol metabolism in rabbits. *Br J Nutr* 64: 473-485 (1990).
- 210.** Pfeuffer M. Differences in the underlying mechanisms of cholesterol- and casein-induced hypercholesterolemia in rabbit and rat. *Atherosclerosis* 76: 89-91 (1989).
- 211.** Nagata Y, Ishiwaki N, Sugano M. Studies on the mechanism of antihypercholesterolemic action of soy protein and soy protein-type amino acid mixtures in relation to the casein counterparts in rats. *J Nutr* 112: 1614-1625 (1982).
- 212.** Beynen AC. Mode of cholesterolemic action of dietary proteins. In: Dietary proteins, cholesterol metabolism and atherosclerosis. Sugano M, Beynen AC (eds). *Monogr Atheroscler*. Basel, Karger, vol 16: 153-159 (1990).
- 213.** Kuyvenhoven MW, West CE, Van der Meer R, Beynen AC. Fecal steroid excretion in relation to the development of casein-induced hypercholesterolemia in rabbits. *J Nutr* 116: 1395-1404 (1986).

- 214.** Van der Meer R. Is the hypercholesterolemic effect of dietary casein related to its phosphorylation state? *Atherosclerosis* 49: 339-341 (1983).
- 215.** Sugano M, Yamada Y, Yashida K, Hashimoto Y, Matsuo T, Kimoto M. The hypercholesterolemic action of the undigested fraction of soybean protein in rats *Atherosclerosis* 72: 115-122 (1988).
- 216.** Sirtori CR, Galli GR, Lovati M, Carrara P, Bosisio E, Galli Kienle M. Effects of dietary proteins on the regulation of liver lipoprotein receptors in rats. *J Nutr* 114: 1493-1500 (1984).
- 217.** Khosla P, Samman S, Carroll KK. Decreased receptor-mediated LDL catabolism in casein fed rabbits precedes the increase in plasma cholesterol levels. *J Nutr Biochem* 2: 203-209 (1991).
- 218.** Kurowska EM et Carroll KK. Effect of high levels of selected dietary essential amino acids on hypercholesterolemia and down-regulation of hepatic LDL receptors in rabbits. *Biochim Biophys Acta* 1126: 185-191 (1992).
- 219.** Khosla P, Samman S, Carroll KK, Huff MW. Turnover of ¹²⁵I-VLDL and ¹³¹I-LDL apolipoprotein B in rabbits fed diets containing casein or soy protein. *Biochim Biophys Acta* 1002: 157-163 (1989).
- 220.** Barth CA, Scholz-Ahrens KE, Pfeuffer M, Hotze A. Response of hormones and lipid metabolism to different dietary proteins. In: Dietary proteins and lipid metabolism and atherosclerosis. Sugano M, Beynen AC (eds). Basel, Karger: Monogr Atheroscler 16: 110-125 (1990).
- 221.** Katan MB, Vroomen LHM, Hermus RJJ. Reduction of casein-induced hypercholesterolemic and atherosclerosis in rabbits and rats by dietary glycine, arginine and alanine. *Atherosclerosis* 43: 381-391 (1982).
- 222.** Kritchevsky D. Vegetable protein and atherosclerosis. *J Am Oil Chem Soc* 56: 135-140 (1979).
- 223.** Sanchez A et Hubbard RW. Plasma amino acids and the insulin/glucagon ratio as an explanation for the dietary protein modulation of atherosclerosis. *Med Hypotheses* 35: 324-325 (1991).

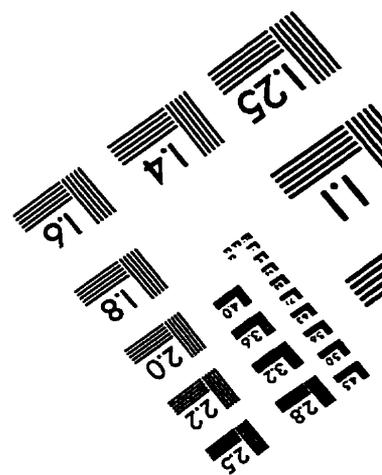
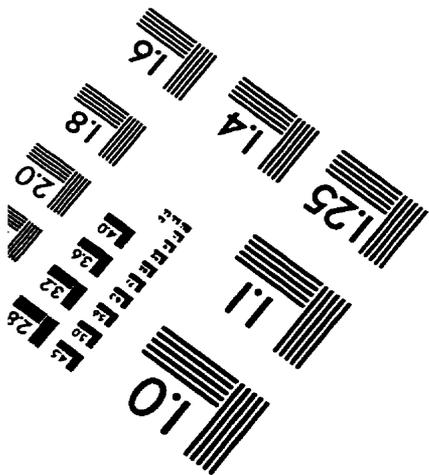
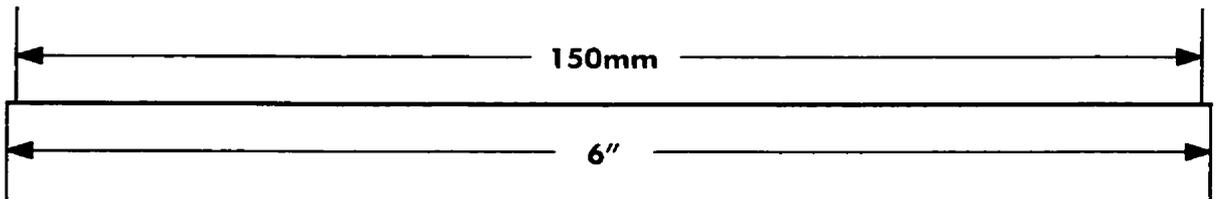
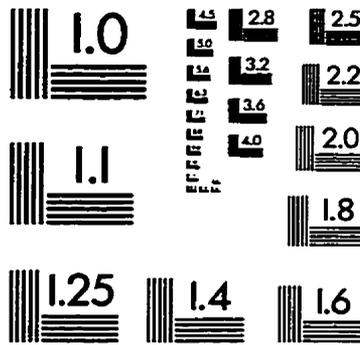
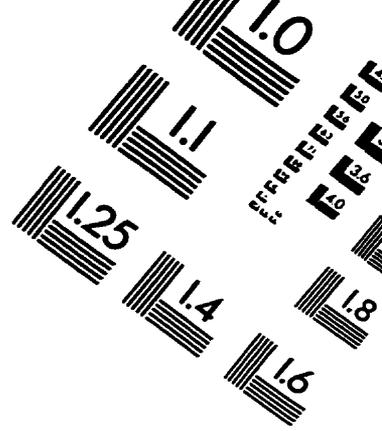
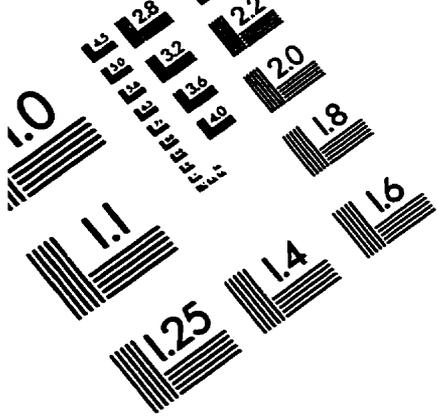
- 224.** Horigome T et Chao YS. Dietary casein and soybean protein affect the concentrations of serum cholesterol, triglyceride and free amino acids in rat. *J Nutr* 122: 2273-2282 (1992).
- 225.** Kurowska EM et Carroll KK. Essential amino acids in relation to hypercholesterolemia induced in rabbits by dietary casein. *J Nutr* 120: 831-836 (1990).
- 226.** Vahouny GV, Adamson I, Chalcarz W, Satchithanandam S, Muesing R, Klurfeld DM, Tepper SA, Sanghvi A, Kritchevsky D. Effects of casein and soy protein on hepatic and serum lipids and lipoprotein lipid distributions in the rat. *Atherosclerosis* 56: 127-137 (1985).
- 227.** Sanchez A, Hubbard RW, Hilton GF. Hypercholesterolemic amino acids and the insulin glucagon ratio. In: Dietary proteins and lipid metabolism and atherosclerosis. Sugano M et Beynen AC (eds). Basel, Karger. *Monogr Atheroscler* 16: 126-138 (1990).
- 228.** Forsythe WA. Dietary proteins, cholesterol and thyroxine: A proposed mechanism. *J Nutr Sci Vitaminol* 36 (Suppl): S101-S104 (1990).
- 229.** Anthony MS, Clarkson TB, Wekkle DL, Wolfe MS. Effects of soy protein phytoestrogens on cardiovascular risk factors in rhesus monkeys. *J Nutr* 125 (Suppl. 3S): 803S-804S (1995).
- 230.** Forsythe WA. Comparison of dietary casein or soy protein effects on plasma lipids and hormone concentrations in the gerbil. *J Nutr* 116: 1165-1171 (1986).
- 231.** Simonet WS, Ness G-C. Post-transcriptional regulation of 3-hydroxy-3-methylglutaryl-CoA reductase mRNA in rat liver. *J Biol Chem* 264: 569-573 (1989).
- 232.** Dwyer JT, Goldin BR, Saul N, Gualtieri L, Barakat S, Adlercreutz H. Tofu and soy drinks contain phytoestrogens. *J Am Diet Assoc* 94: 739-743 (1994).
- 233.** Iritani N, Narita R, Fujita T, Tanaka T. Effects of dietary fish protein, soybean protein and casein on cholesterol turnover in rats. *J Nutr Sci Vitaminol* 31: 385-392 (1985).
- 234.** Lapré JA, West CE, Lovati MR, Sirtori CR, Beynen AC. Dietary animal proteins and cholesterol metabolism in rats. *Int J Vitam Nutr Res* 59: 93-100 (1988).

- 100
- 235.** Jacques H, Deshaies Y, Savoie L. Relationship between dietary proteins, their in vitro digestion products, and serum cholesterol in rats. *Atherosclerosis* 61: 89-98 (1986).
- 236.** Kurowska EM et Carroll KK. Hypercholesterolemic responses in rabbits to selected groups of dietary essential amino acids. *J Nutr* 124: 364-370 (1994).
- 237.** Nosedá G et Fragiácomo C. Effects of soybean protein diet on serum lipids, plasma glucagon, and insulin. In: Nosedá G, Levis B, Paoletti R (eds): *Diet and drugs in atherosclerosis*. New York, Raven Press: 61-65 (1980).
- 238.** Sugano M. Hypocholesterolemic effect of plant protein in relation to animal protein mechanism of action. In: *Animal and vegetable proteins in lipid metabolism and atherosclerosis*. Alan R Liss, New York: 51-84 (1983).
- 239.** Gallbois I, Jacques H, Montminy C, Bergeron N, Lavigne C. Independent effects of protein and fiber sources on glucose and cholesterol metabolism in the rat. *Nutr Res* 12: 643-655 (1992).
- 240.** Sugano M, Tanaka K, Ide T. Secretion of cholesterol, triglyceride and apolipoprotein A-I by isolated perfused liver from rats fed soybean protein and casein or their amino acid mixtures. *J Nutr* 112: 855-862 (1982).
- 241.** Montminy C et Gallbois I. Role of protein and fiber-source nature on glucose metabolism in rats. *Nutrition* 10: 144-150 (1994).
- 242.** Uhe AM, Collier GR, O'Dea K. A comparison of the effects of beef, chicken and fish protein on satiety and amino acid profiles in lean male subjects. *J Nutr* 122: 467-472 (1992).
- 243.** Sanchez A, Hornong MC, Shavilk GW, Wingeleth DC, Hubbard RW. Changes in levels of cholesterol associated with plasma amino acids in humans fed plant proteins. *Nutr Rep Int* 32: 1047-1056 (1985).
- 244.** Fajans SS, Floyd JC, Knopf RF, Conn JW. Effect of amino acids and protein on insulin secretion in man. *Recent Progr Hormone Res* 23: 617- 662 (1968).
- 245.** Assan R, Attali JR, Ballerio G, Boillot J, Girard AJ. Glucagon secretion induced by natural and artificial amino acids in the perfused rat pancreas. *Diabetes* 26: 300-307 (1977)

- 246.** Sanchez A, Filler KM, Hubbard RW, Shavlik GW. Plasma amino acids after single soy, casein or protein-free meals in normocholesterolemic and hypercholesterolemic men. *Nutr Rep Int* 3: 117 (1988).
- 247.** Eisenstein AB, Strack I, Gallo-Torress H, Georgiadis A, Miller ON. Increased glucagon secretion in protein-fed rats: lack of relationship to plasma amino acids. *Am J Physiol* 236: E20-E24 (1979).
- 248.** Reaven G et Grecebey RE. Experimental leucine-induced hypoglycemia in mice. *Metabolism* 14: 625-631 (1965).
- 249.** Kritchevsky D, Tepper SA, Davidson LM, Fisher EA, Klurfeld DM. Experimental atherosclerosis in rabbits fed cholesterol-free diets. 12. Interaction of proteins and fat. *Atherosclerosis* 75: 123-129 (1989).
- 250.** Sanchez A, Rubano DA, Shavlik GW, Fagenstrom P, Register UD, Hubbard RW. Separate effects of dietary protein and fat on serum cholesterol levels: Another view of amino acid content of proteins. *Archivos Latinoamericanos de Nutricion* 38: 239-250 (1988).
- 251.** Benhizia F, Hainault I, Serougne C, Lagrange D, Hajduch E, Guichard C, Malewiak M, Quignardboulangé A, Lavau M, Griglio S. Effects of a fish-oil lard diet on rat plasma lipoproteins, FAS and lipolytic enzymes. *Am J Physiol Endo Metab* 30: 975E-982E (1994).
- 252.** Spady DK. Regulatory effects of individual n-6 and n-3 polyunsaturated fatty acids on LDL transport in the rat. *J Lipid Res* 34: 1337-1346 (1993).
- 253.** Weintraub MS, Zechner R, Brown A, Eisenberg S, Breslow JL. Dietary polyunsaturated fats of the w-6 and w-3 series reduce postprandial lipoprotein levels. Chronic and acute effects of fatty acid saturation on postprandial lipoprotein metabolism. *J Clin Invest* 82: 1884-1893 (1988).
- 254.** Sanders TAB. Influence of w3 fatty acids on blood lipids. In: Health effects of w3 polyunsaturated fatty acids in seafoods. *World Rev Nutr Diet.* 66: 358-366 (1991).
- 255.** Ikeda A, Imaizumi K, Sugano M. Interaction of dietary protein and fat on plasma cholesterol and amino acid levels, fatty acid desaturation, and prostacyclin production in hypercholesterolemic rats. *Bioscience Biotechnol Biochem* 57: 1867-1872 (1993).

- 256.** Kinsella JE, Lokesh B, Stone RA. Dietary n-3 polyunsaturated fatty acids and amelioration of cardiovascular disease: possible mechanisms. *Am J Clin Nutr* 52: 1-28 (1990).
- 257.** Fritsche KL and Johnston PV. Rapid autoxidation of fish oil in diets without added antioxidants. *J Nutr* 118: 425-426 (1988).
- 258.** Burnstein M, Scholnick HR, Morfin RV. Rapid method for the isolation of lipoproteins from human serum by precipitation with polyanions. *J Lipid Res* 11: 583 (1970).
- 259.** Folch J, Lees M, Stanley S. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *J Biol Chem* 226: 497-508 (1957).
- 260.** Taskinen MR, Nikkilä EA, Huttunen JK, Hilden H. A micromethod for assay of lipoprotein lipase activity in needle biopsy samples of human adipose tissue and skeletal muscle. *Clin Chim Acta* 104:107-117 (1980).
- 261.** Krauss RM, Windmueller HG, Levy RI, Fredrickson DS. Selective measurement of two different triglyceride lipase activities in rat postheparine plasma. *J Lipid Res* 14:286-295 (1973).
- 262.** Deshaies Y, Arnold J, Lalonde J, Richard D. Lipoprotein lipase in white and brown adipose tissues of exercised rats fed a high fat diet. *Am J Physiol* 255:R226-R231 (1988).
- 263.** Desbuquois B and Aurbach GD. Use of polyethylene glycol to separate free antibody bound peptide hormones in radioimmunoassays. *J Clin Endocrinol Metab* 33:372-378 (1971).
- 264.** Saeki S et Kiriama S. Some evidence excluding the possibility that rat plasma cholesterol is regulated by the modification of enterohepatic circulation of steroids. *Monogr Atheroscler* 16: 71-84 (1990).
- 265.** Potter SM. Overview of proposed mechanisms for the hypocholesterolemic effect of soy. *Nutr* 125: 606S-611S (1995).
- 266.** Otto DA, Tsai CE, Baltzell JK, Wooten JT. Apparent inhibition of hepatic triacylglycerol secretion, independent of synthesis, in high fat fish oil-fed rats: role of insulin. *Biochim Biophys Acta* 1082: 37-48 (1991).

267. Wong SH, Fisher EA, Marsh JB. Effects of elcosapentaenoic and docosahexaenoic acids on apoprotein B mRNA and secretion of very low density lipoprotein in HepG2 cells. *Arteriosclerosis* 9: 836-841 (1989).



APPLIED IMAGE . Inc
1653 East Main Street
Rochester, NY 14609 USA
Phone: 716/482-0300
Fax: 716/288-5989

© 1993, Applied Image, Inc., All Rights Reserved