

Patrick Duriez
Jean-Charles Fruchart

RÉFÉRENCES

1. Friedewald WT, Levy RI, Fredrickson DS. Estimation of the concentration of low density lipoprotein cholesterol in plasma without use of ultracentrifuge. *Clin Chem* 1972 ; 18 : 449-502.
2. McLean JW, Tomlinson JE, Kuang WJ. CDNA sequence of human apolipoprotein (a) is homologous to plasminogen. *Nature* 1987 ; 330 : 132-7.
3. Purcell-Huynh DA, Farese RV, Johnson DF, Flynn LM, Pierotti V, Newland DL, Linton MRF, Sanan DA, Young SG. Transgenic mice expressing high levels of human apolipoprotein B develop severe atherosclerotic lesions in response to a high-fat diet. *J Clin Invest* 1995 ; 95 : 2246-57.
4. Ishibashi S, Goldstein JL, Brown MS, Herz J, Burns DK. Massive xanthomatosis and atherosclerosis in cholesterol-fed low density lipoprotein receptor-negative mice. *J Clin Invest* 1994 ; 93 : 1885-93.
5. Callow MJ, Verstuyft J, Tangirala R, Palinski W, Rubin EM. Atherogenesis in transgenic mice with human apolipoprotein B and lipoprotein (a). *J Clin Invest* 1995 ; 96 : 1639-46.
6. Rubin EM, Krauss RM, Speingler EA, Verstuyft JG, Clift SM. Inhibition of early atherogenesis in transgenic mice by human apolipoprotein A-I. *Nature* 1991 ; 353 : 265-7.
7. Duverger N, Kruth M, Emmanuel F, Caillaud JM, Viglietta C, Castro G, Tailleux A, Fievet C, Fruchart JC, Houdebine LM, Denèfle P. Inhibition of atherosclerosis development in cholesterol fed human apolipoprotein A-I transgenic rabbits. *Circulation* 1996 ; 94 : 713-7.
8. Alaupovic P. The role of apolipoproteins in lipid transport processes. *Ric Clin Lab* 1982 ; 12 : 3-21.
9. Parra HJ, Arvelier D, Evan AE, Cambou JP, Amouyel P, Bingham A, McMaster D, Shaffer P, Douste-Blazy P, Luc G, Richart JL, Ducimetière P, Fruchart JC, Cambien F. A case-control study of lipoprotein particles in two populations at contrasting risk for coronary heart disease : the ECTIM study. *Arterioscler Thromb* 1992 ; 12 : 701-7.
10. Luc G, Bard JM, Lussier-Cacan S, Fruchart JC, Davignon J. High-density lipoprotein particles in octogenarians. *Metabolism* 1991 ; 40 : 1238-45.
11. Puchois P, Kandoussi A, Fiévet P, Fourrier JL, Bertrand M, Koren E, Fruchart JC. Apolipoprotein A-I containing lipoproteins in coronary artery disease. *Atherosclerosis* 1987 ; 68 : 35-43.
12. Schultz JR, Verstuyft JG, Gong EL, Nichols AV, Rubin EM. Protein composition determines the anti-atherogenic properties of HDL in transgenic mice. *Nature* 1993 ; 365 : 762-4.

ADRESSES ET TIRÉS À PART

P. Duriez : professeur des universités, université de Lille II, chef de laboratoire. J.C. Fruchart : professeur des universités, université de Lille II, directeur du département d'athérosclérose et de l'Unité Inserm 325. Inserm U. 325, Institut Pasteur, 1, rue du Professeur-Calmette, 59019 Lille, France.

LES DYSLIPOPROTÉINÉMIES ET LE BIOLOGISTE

Il y a moins de 15 ans, les médecins cliniciens ne disposaient pas encore d'informations biologiques validées d'un point de vue clinique et épidémiologique, leur permettant d'évaluer avec précision chez un patient le risque de développer une athérosclérose sévère, conduisant inéluctablement à l'accident vasculaire aigu (infarctus du myocarde, infarctus cérébral...).

De plus, en présence d'une dyslipoprotéïnémie franche, reconnue comme athérogène (type IIa), le praticien ne pouvait avoir recours qu'à un arsenal thérapeutique réduit, peu efficace, mal supporté par beaucoup de malades.

Aujourd'hui, le clinicien dispose de nouvelles méthodes d'investigations biologiques lui permettant de caractériser avec précision les différentes dyslipoprotéïnémies. Différents dosages biochimiques du plasma ont été définis comme marqueurs de risque d'athérosclérose et peuvent pour la plupart être réalisés par chaque laboratoire d'analyse médicale, ou pourront l'être dans un proche avenir. Lorsque le médecin a parfaitement caractérisé l'anomalie lipidique de son patient, il dispose maintenant, après avoir entrepris la mise en place d'une diététique adéquate, de médicaments performants (statines, fibrates...) permettant d'amener la cholestérolémie et la triglycéridémie dans les limites compatibles avec un risque vasculaire raisonnable et même faible.

Tous ces progrès n'ont été possibles que grâce aux avancées de la biochimie, de la biologie cellulaire et moléculaire ainsi que de la pharmacologie moléculaire.

Cholestérol et athérosclérose

S'il est admis, depuis les publications des résultats des grandes études épidémiologiques, que le risque cardiovasculaire augmente de façon exponentielle avec la cholestérolémie totale, le recouvrement des courbes de répartition de la cholestérolémie d'une population non athéromateuse et d'une population athéromateuse est tel qu'il est impossible pour un sujet, dont la cholestérolémie est dans les limites de ce

qui est considéré comme normal, d'apprécier s'il court ou non un risque augmenté de présenter un accident vasculaire aigu. Le dosage du LDL-cholestérol permet de mieux séparer les deux populations mais le recouvrement est encore relativement important. Les LDL sont en effet les lipoprotéines athérogènes dont l'augmentation des concentrations plasmatiques accroît le risque d'athérosclérose de façon exponentielle. Enfin, le dosage du HDL-cholestérol a permis de montrer que sa concentration est inversement corrélée au risque cardiovasculaire. Plus sa concentration est élevée, plus le risque d'athérosclérose est réduit et inversement.

Il est donc indispensable dans un bilan biologique à visée prédictive d'un risque d'athérosclérose de doser le cholestérol total, le HDL-cholestérol et les triglycérides et de calculer, à partir de ces trois paramètres, le cholestérol-LDL à l'aide de la formule de Friedewald [1] :

cholestérol-LDL = cholestérol total – cholestérol HDL – (triglycérides/5)
(cette formule n'est valable que lorsque les triglycérides sont inférieures à 4 g/l).

Une troisième lipoprotéine a été définie comme constituant un facteur de risque cardiovasculaire. Il s'agit de la Lp(a). Cette lipoprotéine correspond à une LDL dont l'apolipoprotéine B est liée à une molécule d'apolipoprotéine (a) (apo a). L'apo (a) présente une forte homologie de séquence avec le plasminogène [2] lui permettant d'entrer en compétition avec cette dernière molécule dans le processus de fibrinolyse et favorisant ainsi le déclenchement de thromboses. Les études cliniques et épidémiologiques ont montré qu'une concentration plasmatique de Lp(a) supérieure à 0,3 g/l constitue un facteur de risque cardiovasculaire.

La concentration plasmatique en Lp(a) est en grande partie déterminée génétiquement et, malheureusement, alors que des traitements pharmacologiques réduisent efficacement la concentration du LDL-cholestérol, ils sont pratiquement sans effet sur celle de Lp(a).

Les progrès de la biologie moléculaire ont permis de disposer d'animaux génétiquement modifiés et de modèles qui ont conforté les notions que l'on avait sur le rôle pro-athérogène ou anti-athérogène de chaque lipoprotéine. C'est ainsi que l'hyperexpression par transgénèse de l'apolipoprotéine B humaine chez la souris entraîne chez cet animal une augmentation des concentrations circulantes de LDL et le développement d'une athérosclérose accélérée [3]. De même, l'invalidation par recombinaison homologue du gène du récepteur des LDL chez la souris provoque une accumulation de LDL dans le plasma et conduit également à la progression rapide des plaques d'athérome aortique [4]. Ce dernier modèle constitue un modèle expérimental d'hypercholestérolémie familiale. La synthèse simultanée chez des souris transgéniques de l'apolipoprotéine B humaine et de l'apolipoprotéine (a) humaine [5] conduit à l'apparition de Lp(a) dans le plasma et à une accélération de l'envahissement de l'aorte de ces animaux par des plaques d'athérome. Cette expérience démontre le caractère athérogène de la Lp(a).

En ce qui concerne les lipoprotéines considérées comme anti-athérogènes par les études cliniques et épidémiologiques, c'est-à-dire les HDL, la création de souris [6] et de lapins [7] transgéniques synthétisant l'apolipoprotéine A-I humaine a montré que l'expression de cette apolipoprotéine chez ces animaux entraîne une augmentation des quantités de HDL circulantes et une diminution de l'apparition des plaques d'athérome aortiques. Ces études prouvent donc de façon incontestable le caractère protecteur d'une concentration élevée de HDL-cholestérol circulant.

Toutes ces études cliniques, épidémiologiques et chez l'animal, démontrent donc que des concentrations plasmatiques élevées de LDL-cholestérol et de Lp(a) sont associées à un risque d'athérosclérose augmenté alors qu'une concentration élevée de HDL-cholestérol entraîne une athéroprotection. Toutefois, comme nous l'avons déjà signalé, le grand recouvrement des courbes de répartition des concentrations plasmatiques de ces lipoprotéines entre une population non athéromateuse et une population athéromateuse

confère à ces marqueurs un caractère prédictif relativement faible lorsque leurs concentrations plasmatiques se situent dans les valeurs moyennes de la population générale.

Aussi avons-nous, depuis 1985, tenté d'affiner la caractérisation de ces marqueurs biologiques par une analyse moléculaire détaillée de la constitution de chaque lipoprotéine.

Les lipoparticules

Il y a maintenant plus de 20 ans, Pierre Alaupovic (Oklahoma City, USA) a défini le concept de lipoparticule [8]. Ce concept s'appuie sur le fait que la partie « intelligente » d'une lipoprotéine correspond en réalité aux apolipoprotéines qu'elle contient et non à sa partie lipidique. P. Alaupovic définit ainsi les lipoparticules simples qui ne contiennent qu'une seule apolipoprotéine, par exemple l'apolipoprotéine B ou l'apolipoprotéine A-I, correspondant respectivement à la lipoparticule B (LpB) et à la lipoparticule A-I (LpA-I) et les lipoparticules complexes qui contiennent plusieurs apolipoprotéines telles que les LpB:E, LpB:C-III, LpA-I:A-II... Cette nomenclature permet de définir une classification fonctionnelle des lipoprotéines. C'est ainsi que les lipoparticules contenant de l'apolipoprotéine B sont chargées de délivrer les lipides, dont le cholestérol, aux tissus périphériques et correspondent aux VLDL, IDL, LDL et que celles contenant de l'apo A-I sont responsables du retour du cholestérol des tissus périphériques vers le foie, par la voie métabolique du transport inverse du cholestérol et correspondent aux HDL.

Depuis 10 ans, nous nous sommes attachés à caractériser, d'un point de vue biochimique, biologique et clinique, les principales lipoparticules.

En ce qui concerne les lipoparticules du spectre des lipoprotéines athérogènes, nous avons particulièrement étudié la LpB:C-III et la LpB:E. L'étude ECTIM (Étude Cas-Témoin Infarctus du Myocarde), bâtie à partir de l'étude MONICA et organisée dans un centre d'Irlande du Nord (Belfast) et dans 3 centres français (Toulouse, Lille, Strasbourg) a montré que dans les 2 pays, les survivants d'infarctus du myocarde avaient une augmentation des concentrations de LpB:E par rapport aux sujets témoins, alors que la concentra-

tion des LpB:C-III était plus élevée chez les coronariens irlandais mais non chez les coronariens français. La concentration des LpB:E était également plus élevée chez les sujets témoins irlandais que chez les sujets témoins français [9]. Étant donné que la fréquence de la maladie coronarienne est trois fois plus élevée en Irlande qu'en France, il apparaît que les LpB:E constituent un facteur de risque cardiovasculaire. L'utilisation d'une méthodologie différente de dosage (immunoprécipitation et non plus ELISA) a confirmé que les LpB:E et les LpB:C-III correspondent à des facteurs de risque très discriminants de la maladie coronarienne.

Dans le spectre des HDL, correspondant aux lipoprotéines reconnues comme anti-athérogènes, nous avons particulièrement étudié la LpA-I (lipoparticule contenant de l'apolipoprotéine A-I sans apolipoprotéine A-II) et la LpA-I:A-II (lipoparticule contenant l'apolipoprotéine A-I et l'apolipoprotéine A-II). Nous avons démontré que la LpA-I est un marqueur de longévité ; en effet, sa concentration est significativement plus élevée dans une population d'octogénaires que de quadragénaires [10] et est diminuée dans une population de sujets présentant une coronaropathie diagnostiquée par angiographie [11]. Le bilan lipidique de ces patients était par ailleurs normal. Enfin, l'étude ECTIM précédemment citée a mis en évidence qu'à la fois en France et en Irlande du Nord, les sujets coronariens présentaient une réduction des concentrations plasmatiques du HDL-cholestérol, de l'apo A-I, de l'apo A-II, des LpA-I et des LpA-I:A-II par rapport aux sujets témoins. Chez les sujets témoins et les malades, la concentration de LpA-I était plus basse en Irlande qu'en France. Il apparaît donc qu'une faible concentration de LpA-I est un facteur de risque cardiovasculaire puisque, comme nous l'avons indiqué plus haut, les maladies cardiovasculaires sont beaucoup plus fréquentes en Irlande qu'en France.

Nous avons précédemment émis l'hypothèse que la LpA-I était une lipoparticule plus athéro-protectrice que la LpA-I:A-II, car nous avons démontré que la LpA-I était plus efficace que la LpA-I:A-II pour provoquer un flux sortant de cholestérol à partir d'adipocytes en culture. Ce flux sortant de cholestérol cellulaire constitue en effet l'étape initiale du

transport inverse de cholestérol. De fait, un modèle de souris transgénique a permis de confirmer que la LpA-I était plus anti-athérogène que la LpA-II : les souris transgéniques ne synthétisant que l'apo A-I humaine, avec en majorité des LpA-I dans le plasma, sont mieux protégées de l'athérosclérose que les souris doubles transgéniques synthétisant à la fois l'apo A-I et l'apo A-II humaine, dont le plasma contient une forte proportion de LpA-I:A-II [12]. Il faut signaler que la LpA-I peut être dosée dans chaque laboratoire de biologie médicale par une méthode d'électro-immunodiffusion différentielle sur des plaques prêtes à l'emploi.

Le clinicien dispose donc de tests biologiques simples (triglycérides, cholestérol total, LDL-cholestérol, HDL-cholestérol, Lp(a), LpB:C-III, LpB:E, LpA-I) lui permettant d'établir avec précision le profil d'une dyslipoprotéïnémie et de la caractériser.

Après cette première étape, il pourra, si nécessaire, entreprendre, à la suite de la mise en place d'un régime adéquat, un traitement médicamenteux. Dans ce domaine, d'énormes progrès ont été entrepris.

Les médicaments hypolipémiants

La mise sur le marché, il y a 10 ans, de la première statine a révolutionné le traitement de l'hypercholestérolémie. Ces médicaments inhibent l'HMG CoA réductase et diminuent la synthèse de cholestérol. Par un mécanisme de contrôle de l'expression du gène du récepteur des LDL, la diminution de la concentration de cholestérol dans les cellules hépatiques engendre une sur-expression de ce gène et la synthèse de nouveaux récepteurs qui apparaissent à la surface de l'hépatocyte. Ces nombreux récepteurs des LDL captent les LDL circulantes, qui sont alors dégradées par l'hépatocyte, et le cholestérol est éliminé dans la bile. Les statines actuellement disponibles (lovastatine, simvastatine, pravastatine, fluvastatine, atorvastatine) permettent de diminuer de 30 % à 40% le LDL-cholestérol. La mise au point de ces médicaments a été favorisée par les travaux de Goldstein et Brown ayant permis la découverte du récepteur des LDL et couronnés par l'obtention du prix Nobel de médecine en 1985 (*m/s n° 7, vol. 1, p. 388*).

D'autres médicaments étaient disponibles avant l'arrivée des statines, en

particulier les fibrates capables de diminuer, à la fois, les concentrations plasmatiques de LDL-cholestérol et de triglycérides et qui se révèlent très utiles dans les hyperlipidémies mixtes (augmentation simultanée du cholestérol et des triglycérides) et dans les hypertriglycéridémies pures. Bien qu'apparu bien avant les statines, on ignorait, jusqu'à ces dernières années, le mécanisme d'action des fibrates. Les progrès de la biologie moléculaire ont permis de le déterminer et d'expliquer leurs effets multiples sur le métabolisme des lipoprotéines. Les fibrates sont des ligands d'un récepteur nucléaire, le PPAR- α présent dans l'hépatocyte [13-15]. Après avoir été activé par un fibrate, le PPAR- α reconnaît un élément de réponse (PPRE) présent au niveau de nombreux gènes qui régulent le métabolisme des lipoprotéines. J. Auwerx et B. Staels, de notre laboratoire, ont montré que les fibrates activent, par l'intermédiaire du PPAR- α , les gènes de l'apo A-I, de l'apo A-II et de la lipoprotéine lipase et inhibent celui de l'apo C-III [14].

L'augmentation de la synthèse de la lipoprotéine lipase, et la diminution de la synthèse de l'apo C-III (inhibiteur de la lipoprotéine lipase) qui en résulte, entraînent une augmentation de l'activité lipolytique de la lipoprotéine lipase et la diminution des triglycérides, des VLDL ainsi que des particules athérogènes LpB:C-III. L'augmentation de synthèse de l'apo A-I et l'apo A-II provoque une augmentation du HDL-cholestérol dont le caractère athéroprotecteur a été évoqué précédemment. La diminution de la concentration des VLDL et des triglycérides favorise un remaniement de la composition chimique des LDL et la diminution des concentrations de LDL de petite taille, très athérogènes car mal reconnues par le récepteur des LDL et s'oxydant facilement, au profit de LDL de plus grande taille, mieux reconnues par le récepteur des LDL et moins oxydable. Cette meilleure reconnaissance des LDL par le récepteur des LDL facilite leur élimination de l'organisme et entraîne une diminution des concentrations plasmatiques en LDL-cholestérol. Il faut signaler que les huiles de poisson, riches en acides gras polyinsaturés de type Ω -3, capables elles aussi de diminuer les concentrations des triglycérides plasma-

tiques, agiraient par un mécanisme comparable à celui des fibrates.

Conclusion

Les progrès accomplis depuis 20 ans dans l'étude des dyslipoprotéïnémies et dans la caractérisation des lipoprotéines athérogènes et anti-athérogènes ont été considérables. Des lipoprotéines athérogènes telles que la Lp(a), les LpB:C-III, les LpB:E, et anti-athérogène comme la LpA-I ont été mises en évidence et leur dosage plasmatique pourrait être pratiqué en routine par les laboratoires de biologie clinique et aider ainsi au diagnostic et au phénotype des dyslipoprotéïnémies. Volontairement, nous n'avons pas évoqué les études sur les polymorphismes des gènes candidats dans le diagnostic d'un risque accru d'athérosclérose car, à notre connaissance, aucun polymorphisme de gène d'apolipoprotéine, d'enzyme ou de récepteur impliqué dans le métabolisme des lipoprotéines (sauf celui de l'apolipoprotéine E déjà déterminé depuis longtemps au niveau de la protéine) n'est apparu à ce jour comme étant universellement informatif et n'est utilisé en routine de laboratoire pour évaluer un risque d'athérosclérose. Enfin, les progrès de la pharmacologie moléculaire ouvrent des perspectives thérapeutiques nouvelles, insoupçonnées encore il y a quelques années, pour traiter les dyslipoprotéïnémies et réduire le risque de survenue d'une athérosclérose. De plus, la thérapie génique, appliquée dans un premier temps à des déficits monogéniques comme l'hypercholestérolémie familiale (*m/s n° 1, vol. 12, p. 59*), puis à des déficits plus complexes comme les hypoHDLémies, constitue peut-être une méthode pour le futur, même si les progrès à réaliser en ce domaine restent considérables ■

RÉFÉRENCES

13. Staels B, Auwerx J. Role of PPAR in the pharmacological regulation of lipoprotein metabolism by fibrates and thiazolidinediones. *Curr Pharmacol Design* 1997 ; 3 : 1-14.
14. Martin G, Staels B, Guerre-Millo M, Auwerx J. Transcription, différenciation adipocytaire et obésité. *Med Sci* 1996 ; 12 : 885-90.
15. Caira F, Cherkaoui M, Latruffe N. L'enzyme bifonctionnelle hydratase/déshydrogénase et l'oxydation peroxysomiale des acides gras à très longue chaîne. *Med Sci* 1995 ; 11 : 1131-9.