

UNIVERSITÉ DU QUÉBEC

MEMOIRE

PRÉSENTÉ À

L'UNIVERSITÉ DU QUÉBEC À CHICOUTIMI

COMME EXIGENCE PARTIELLE

DE LA MAÎTRISE EN MÉDECINE EXPÉRIMENTALE

VOLET GÉNÉTIQUE HUMAINE

PAR

GAËTANNE CORMIER

INFLUENCE DU POLYMORPHISME DE L'APOLIPOPROTEÏNE E SUR LES RELATIONS EXISTANT

ENTRE LES FACTEURS DE RISQUE

DES MALADIES CARDIO-VASCULAIRES

DECEMBRE 1994



Mise en garde/Advice

Afin de rendre accessible au plus grand nombre le résultat des travaux de recherche menés par ses étudiants gradués et dans l'esprit des règles qui régissent le dépôt et la diffusion des mémoires et thèses produits dans cette Institution, **l'Université du Québec à Chicoutimi (UQAC)** est fière de rendre accessible une version complète et gratuite de cette œuvre.

Motivated by a desire to make the results of its graduate students' research accessible to all, and in accordance with the rules governing the acceptance and diffusion of dissertations and theses in this Institution, the **Université du Québec à Chicoutimi (UQAC)** is proud to make a complete version of this work available at no cost to the reader.

L'auteur conserve néanmoins la propriété du droit d'auteur qui protège ce mémoire ou cette thèse. Ni le mémoire ou la thèse ni des extraits substantiels de ceux-ci ne peuvent être imprimés ou autrement reproduits sans son autorisation.

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

CE MÉMOIRE A ÉTÉ RÉALISÉ
À L'UNIVERSITÉ DU QUÉBEC À CHICOUTIMI
DANS LE CADRE DU PROGRAMME
DE MAÎTRISE EN MÉDECINE EXPÉRIMENTALE
VOLET GÉNÉTIQUE HUMAINE
DE L'UNIVERSITÉ LAVAL
EXTENSIONNÉ À L'UNIVERSITÉ DU QUÉBEC À CHICOUTIMI

RESUME

Dans cette étude, l'approche du génotype mesuré a été utilisée afin de déterminer si le polymorphisme de l'apolipoprotéine (apo) E influençait les relations existant entre le profil lipidique et l'obésité, d'une part, ainsi que la distribution de la graisse corporelle, d'autre part, mesurées respectivement par l'indice de masse corporelle et le rapport des circonférences de la taille et des hanches. De plus, cette approche a permis de déterminer si le polymorphisme de l'apo E influençait la covariation entre les lipides et les lipoprotéines, et s'il y avait interaction génotype-environnement en utilisant le tabagisme comme facteur environnemental. Les analyses ont été faites sur un échantillon de 233 hommes et 202 femmes d'une population Caucasienne du Lac-Saint-Jean, Chibougamau et Chapais.

Les résultats obtenus ont montré que les relations entre le profil lipidique (cholestérol total (CHOL), cholestérol associé aux lipoprotéines de faible densité (LDL-C), cholestérol associé aux lipoprotéines de densité élevée (HDL-C), triglycérides) et l'indice de masse corporelle, ainsi que la distribution de la graisse corporelle, n'étaient pas influencées par le polymorphisme de l'apo E et ce, autant chez l'homme que chez la femme. Cependant, chez les hommes, les corrélations entre le cholestérol et le HDL-C, le cholestérol et les triglycérides, le LDL-C et le HDL-C, et le LDL-C et les triglycérides, étaient influencées par le polymorphisme de l'apo E. Pour toutes ces corrélations, les individus de la classe phénotypique E2 (E2/E2, E3/E2) présentaient les corrélations les plus élevées, comparativement aux individus des classes E3 (E3/E3) et E4 (E4/E4, E4/E3), dont les corrélations étaient faibles et dans certains cas, non significativement différentes de zéro. En ce qui concerne la détermination de l'interaction génotype-environnement, les analyses ont révélé que les effets de la cigarette sur les niveaux lipidiques, autant chez l'homme que chez la femme, n'étaient pas influencées par le polymorphisme de l'apoE.

AVANT-PROPOS

En premier lieu, j'adresse mes remerciements sincères au Dr Louis Pérusse, directeur de la présente thèse, dont le suivi professionnel et la compétence en tant que scientifique, ont contribué au déroulement efficace de cette recherche. Mes remerciements sont aussi adressés à M. Régis Couture du département de santé communautaires (DSC) de Roberval, qui a supervisé la collecte des données auprès des centres locaux des services communautaires, Grand-Bois, Pré-Bleus, Des Chutes, Le Norois; des remerciements sont également adressés à tous les intervenants du DSC qui de près ou de loin ont participé au déroulement de cette enquête. Je voudrais également mentionner l'étroite collaboration des spécialistes du laboratoire du centre lipidique de l'hôpital Saint-Michaëls de Toronto, pour les différentes analyses des niveaux lipidiques, ainsi que du Dr Jean Davignon et ses collègues, au département du métabolisme des lipides et de recherches sur l'athérosclérose de l'Institut de recherches cliniques de Montréal, pour la détermination des phénotypes de l'apolipoprotéine E.

Je tiens à remercier et à souligner la grande disponibilité et les nombreux conseils dans le domaine de l'informatique, de M. Camil Simard du département d'informatique de l'Université du Québec à Chicoutimi (UQAC), ainsi que M. Robin Simard de l'Institut de recherches sur les populations (IREP). Je voudrais aussi citer l'excellent travail de Mme Najet Ben Yoissef pour la saisie des données.

Finalement, je voudrais dédier cette thèse à mes deux filles, Karine et Jessica, qui ont dû partager avec moi toutes les contraintes et difficultés, et qui furent une source de motivation pour l'accomplissement de mes travaux.

La réalisation de cette thèse a pu être possible grâce au Ministère de la Santé et des Services sociaux, au Bureau de la Statistique du Québec, à Santé et Bien-être Canada, à la Fondation des maladies du cœur du Québec, de l'Institut de recherches sur les populations (IREP), à l'Université du Québec à Chicoutimi (UQAC). Également, tous les travaux de cette thèse ont été soutenus financièrement par le Ministère de l'Enseignement supérieur et de la science, par l'Université du Québec à Chicoutimi (UQAC), par le Fonds pour la Formation de Chercheurs et l'Aide à la Recherche (FCAR).

TABLE DES MATIÈRES

RÉSUMÉ.....	iii
AVANT-PROPOS.....	iv
TABLE DES MATIÈRES.....	vi
LISTE DES TABLEAUX.....	viii
CHAPITRE 1 - INTRODUCTION.....	1
CHAPITRE 2 - PROBLÉMATIQUE.....	4
2.1 Rôle de l'hérédité dans les maladies cardio-vasculaires.....	4
2.1.1 Approche du génotype non mesuré.....	5
2.1.2 Approche du génotype mesuré.....	6
2.2 Effets du polymorphisme de l'apo E.....	7
2.2.1 Polymorphisme de l'apolipoprotéine E.....	7
2.2.2 Influence du polymorphisme de l'apo E sur le métabolisme des lipides.....	8

2.3 Relations entre les niveaux de lipides et de lipoprotéines et les autres facteurs de risque de maladies cardio-vasculaires.....	9
2.3.1 Relations entre les niveaux de lipides et de lipoprotéines sanguins et l'obésité.....	9
2.3.2 Relations entre les niveaux de lipides et de lipoprotéines et la distribution de la graisse corporelle.....	10
2.3.3 Relations entre les niveaux de lipides et de lipoprotéines sanguins et le tabagisme.....	11
2.3.4 Influence du polymorphisme de l'apo E sur les relations existant entre les facteurs de risque des maladies cardio-vasculaires.....	12
CHAPITRE 3.....	16
Influence du polymorphisme de l'apolipoprotéine E sur les relations entre les facteurs de risque cardiovasculaires chez une population ca- nadienne française.	
CHAPITRE 4.....	39
Influence du polymorphisme de l'apolipoprotéine E sur les relations entre le tabagisme et les lipides sanguins	
CHAPITRE 5 - CONCLUSION.....	57
RÉFÉRENCES (hors manuscrits).....	59

LISTE DES TABLEAUX

(Chapitre 3)

Tableau 1:	Descriptives statistics of age, body mass index, waist-to-hip ratio and blood lipids in apo E phenotype groups.....	35
Tableau 2:	Correlations between body mass index and blood lipids and lipoproteins by apo E phenotypes in men and women.....	36
Tableau 3:	Correlations between waist-to-hip ratio and blood lipids and lipoproteins by apo E phenotypes in men and women.....	37
Tableau 4:	Correlations between blood lipids and lipoproteins by apo E phenotypes in men and women.....	38

(Chapitre 4)

Tableau 1:	Interaction of smoking with apo E phenotypes on cholesterol, LDL-C, HDL-C, triglyceride levels, in men from Lac-Saint-Jean, Chibougamau, Chapais.....	55
Tableau 2:	Interaction of smoking with apo E phenotypes on cholesterol, LDL-C, HDL-C, triglyceride levels, in women from Lac-Saint-Jean, Chibougamau, Chapais.....	56

CHAPITRE 1

INTRODUCTION

Les maladies cardio-vasculaires (MCV) font l'objet de nombreuses études en épidémiologie génétique puisque, d'une part, elles constituent un fléau au sein des populations industrialisées en raison des taux élevés d'incidence, de mortalité et de morbidité, et, d'autre part, elles présentent une composante familiale importante, suggérant que les facteurs génétiques puissent être impliqués dans son étiologie. Plusieurs études portent sur la mesure de la contribution de l'apport génétique et de l'apport environnemental à la variation observée au sein de certains facteurs de risque des maladies cardio-vasculaires, tels l'obésité, la distribution de la graisse, des niveaux élevés de cholestérol total, et de cholestérol associé aux lipoprotéines de basse densité (LDL-C), des niveaux faibles de cholestérol associé aux lipoprotéines de très haute densité (HDL-C), le tabagisme, l'hypertension et l'inactivité physique.

Parmi les différentes approches utilisées afin de déterminer la contribution des facteurs génétiques au sein de la variation observée dans certains facteurs de risque, l'approche du génotype mesuré est une méthode de plus en plus utilisée, puisqu'elle permet d'identifier les principaux gènes potentiellement impliqués, et d'estimer l'effet du polymorphisme de ces gènes sur la variabilité interindividuelle pour un trait donné. Cette approche du génotype mesuré a beaucoup été utilisée dans l'étude des bases génétiques des MCV, en utilisant comme marqueurs génétiques les gènes codant pour les

apolipoprotéines, en raison de leur rôle important au niveau du métabolisme du cholestérol, et par conséquent sur le risque de MCV. Par exemple, le polymorphisme de l'apolipoprotéine (apo) E expliquerait à lui seul, 7% de la variabilité du cholestérol total (Davignon et al. 1988).

Un grand nombre d'études, effectuées sur plusieurs populations à travers le monde, ont démontré que le polymorphisme de l'apo E influençait les concentrations plasmatiques de lipides et de lipoprotéines (Gerdes et al. 1992; Halmann et al. 1991), faisant du gène de l'apo E, un gène candidat important dans l'étude des causes génétiques des MCV.

Cependant, comparativement aux études portant sur les effets de l'apo E sur les niveaux de lipides et de lipoprotéines, relativement peu d'études se sont attardées à l'influence du polymorphisme de l'apo E sur la covariation entre les facteurs de risque ou sur les effets de certaines variables environnementales (diète, exercice, tabagisme) sur les concentrations plasmatiques de lipides et de lipoprotéines (interaction génotype-environnement).

L'objectif général de cette recherche est de déterminer si le polymorphisme de l'apo E influence la covariation entre certains facteurs de risque de MCV. Plus spécifiquement, cette recherche a pour objectifs d'étudier l'impact du polymorphisme de l'apo E sur: 1) les corrélations entre le profil lipidique et l'obésité mesurées par l'indice de masse corporelle, 2) les corrélations entre le profil lipidique et la distribution du tissu adipeux mesurées par le rapport des circonférences de la taille et des hanches, 3) les corrélations entre les lipides et les lipoprotéines et, 4) les effets du tabagisme sur le profil lipidique, i.e. vérifier la présence d'interaction génotype-environnement. Les

objectifs spécifiques 1 à 3 et l'objectif 4 seront respectivement traités au sein de deux articles qui seront ultérieurement soumis pour publication. Ces deux articles sont présentés de façon intégrale aux chapitres 3 et 4, respectivement, du présent mémoire.

environnement. Les objectifs spécifiques 1 à 3 et l'objectif 4 seront respectivement traités au sein de deux articles qui seront ultérieurement soumis pour publication. Ces deux articles sont présentés de façon intégrale aux chapitres 3 et 4, respectivement, du présent mémoire.

CHAPITRE 2

PROBLÉMATIQUE

Les maladies cardio-vasculaires (MCV), représentent l'une des principales causes de mortalité et de morbidité dans les pays industrialisés. Plusieurs facteurs de risque contribuent au développement des maladies cardio-vasculaires. L'hyperlipidémie, l'hypertension artérielle, le tabagisme, l'obésité et plus spécifiquement l'obésité abdominale, l'inactivité physique et l'hérédité, sont parmi les facteurs les plus souvent cités comme étant associés à un risque accru de MCV. Parmi ces différents facteurs, l'hérédité est celui qui fera l'objet de ce mémoire.

2.1 RÔLE DE L'HERÉDITÉ DANS LES MALADIES CARDIO-VASCULAIRES

Il est maintenant bien établi que les MCV sont des maladies dont l'étiologie est multifactorielle, c'est-à-dire qu'elles résultent de la combinaison de causes environnementales et génétiques. C'est en estimant la contribution de l'hérédité au sein des principaux facteurs de risque des MCV que les épidémiologistes généticiens ont étudié le rôle de l'hérédité au sein des MCV. Deux stratégies d'analyse différentes ont été utilisées à cette fin: l'approche du génotype non mesuré et l'approche du génotype mesuré (Sing et al. 1988). Ces deux approches sont brièvement décrites dans cette section.

2.1.1 Approche du génotype non mesuré

L'approche du génotype non mesuré permet de faire des estimations de la contribution de l'hérédité, en utilisant des méthodes d'analyse basées sur la covariation génétique entre individus apparentés à divers degrés: parents-enfants, frères-soeurs, parents-enfants adoptés, jumeaux etc. (Cloninger et al. 1979; Falconer 1974; Sing et al. 1988). L'analyse des ressemblances familiales, les études avec jumeaux, l'analyse des composantes de la variance, l'analyse de causalité, et l'analyse de ségrégation, sont les méthodes les plus couramment utilisées à cette fin. Par exemple, Pérusse et al. (1987) ont observé la présence de ressemblances familiales au sein des principaux facteurs de risque des MCV, en comparant les corrélations entre les membres de familles nucléaires. Par ailleurs, Bouchard et al. (1988) ont montré à partir de l'analyse de causalité, que les facteurs génétiques expliquaient environ 5% de la variabilité de l'indice de masse corporelle (BMI ou body mass index), et 20 à 30% de la variation au sein de différents indicateurs de la distribution de la graisse. Toujours à partir de l'analyse de causalité, Pérusse et al. (1989), ont montré qu'entre 50 et 60% de la variabilité au sein des concentrations de lipides et de lipoprotéines était attribuable à des facteurs génétiques. Ces résultats appuient d'autres études comme celle de Rao et al. (1982) qui suggèrent qu'environ 40 à 60% de la variabilité au sein des lipides et des lipoprotéines serait attribuable à l'hérédité.

Comme en font foi les estimés d'héritabilité présentés plus haut, l'approche du génotype non mesuré, une approche essentiellement statistique, ne permet que de quantifier la contribution des facteurs génétiques à la variance phénotypique. Ces résultats, quoiqu'utiles pour évaluer l'importance de l'hérédité ou pour tester la présence d'un gène majeur, ne donnent aucune indication sur la nature de gènes

impliqués ainsi que sur leur mode d'action. De telles informations peuvent être obtenues par le biais de l'approche du génotype mesuré.

2.1.2 Approche du génotype mesuré

Comme son nom l'indique, cette approche est basée sur la mesure directe des gènes et permet d'étudier "l'architecture génétique" (Sing et al. 1988; Lusi 1988; Boerwinkle et Sing 1987), i.e. de déterminer le nombre et le type de loci impliqués dans la détermination d'un trait, ainsi que les fréquences alléliques au sein d'une population. L'approche du génotype mesuré procède donc en sens inverse de l'approche du génotype non mesuré, i.e. que le point de départ n'est plus le phénotype, mais plutôt le génotype. C'est pour cette raison que les approches du génotype mesuré et du génotype non mesuré sont également appelées approches "bottom-up" et "top-down", respectivement (Sing et al. 1988). L'avènement de la biologie moléculaire a donné un essor considérable à l'approche du génotype mesuré qui est maintenant de plus en plus utilisée dans l'étude des bases génétiques des maladies, autant mendéliennes que multifactorielles. Les gènes potentiellement impliqués dans l'étiologie des maladies, qu'ils aient pour effet de provoquer la maladie ou encore d'augmenter le risque de développer celle-ci, deviennent donc des "gènes candidats" dans l'étude des bases génétiques des maladies les plus communes. Dans le cas des MCV, et plus particulièrement de la maladie coronarienne résultant de l'athérosclérose, ces gènes candidats sont nombreux, qu'ils s'agissent de gènes impliqués dans le transport et le métabolisme des lipides, la synthèse des protéines de la paroi des artères, la prolifération des cellules musculaires lisses ou la production des facteurs de coagulation (Galton et Ferns 1989; Fisher 1989).

Parmi ces gènes candidats, les gènes codant pour les apolipoprotéines ont été les plus étudiés en raison de leur rôle déterminant dans le métabolisme des lipides (Humphries 1988; Mehrabian et Lusi 1992). Parmi ces apolipoprotéines, l'apolipoprotéine E (apo E) a fait l'objet de nombreuses études en raison de son polymorphisme, et de son rôle important dans le métabolisme des lipoprotéines et, par conséquent, dans le risque d'athérosclérose et de MCV (Davignon et al. 1988).

2.2 EFFETS DU POLYMORPHISME DE L'APO E

2.2.1 Polymorphisme de l'apolipoprotéine E

Le gène de l'apo E est localisé sur le chromosome 19 (Olaisen et al. 1982). Il est polymorphique puisqu'on retrouve dans la plupart des populations trois allèles (ϵ_2 , ϵ_3 , ϵ_4) codant pour trois isoformes (E2, E3, E4) de la protéine. Ces trois isoformes donnent une possibilité à six phénotypes (E2/E2, E3/E2, E3/E3, E4/E3, E4/E2, E4/E4) de s'exprimer au sein de la population (Zannis et al. (1982)). L'allèle ϵ_2 diffère de l'allèle ϵ_3 par la substitution d'un acide aminé à la position 158, l'arginine étant remplacée par la cystéine. L'allèle ϵ_4 diffère de l'allèle ϵ_3 par substitution de la cystéine par l'arginine à la position 112 (Weisgraber et al. 1981; Rall et al. 1982). Ces substitutions ont pour effet de modifier la charge électrique de la protéine, ce qui rend possible la détection des différents isoformes par électrophorèse.

Les études de Hallman et al. (1991), et de Gerdes et al. (1992), ont démontré l'hétérogénéité des fréquences alléliques entre les populations. Dans toutes les populations étudiées jusqu'à maintenant, il a été établi que la fréquence de l'allèle ϵ_3 était la plus élevée.

2.2.2 Influence du polymorphisme de l'apo E sur le métabolisme des lipides

L'apolipoprotéine E est incorporée au niveau de la structure des chylomicrons, des lipoprotéines de très faible densité (VLDL), et des lipoprotéines de haute densité (HDL). Elle sert de ligand aux récepteurs B/E situés au niveau des cellules, assurant ainsi le catabolisme de ces lipoprotéines (Mahley et Innerarity 1983). Le polymorphisme de l'apo E interfère sur le métabolisme lipidique, et, par conséquent, atténue ou augmente le risque de MCV (Davignon et al. 1988). Chez les individus porteurs de l'allèle ϵ_2 (E2/E2, E2/E3), les chylomicrons, les VLDL et les HDL sont caractérisés par une moins grande affinité aux récepteurs apo B/E, ainsi qu'une déficience dans l'habilité à réagir avec l'enzyme lipoprotéine lipase (Weisgraber et al. 1982). La conversion des résidus de VLDL en LDL est également réduite chez les individus porteurs de l'allèle ϵ_2 . Ces déficiences se traduisent par une augmentation des chylomicrons et des résidus de VLDL dans le plasma, ce qui a pour effet d'induire une augmentation du nombre de récepteurs, d'où une diminution du cholestérol, ainsi que des lipoprotéines de basse densité (LDL), et une augmentation des triglycérides par rapport aux individus portant l'allèle ϵ_3 (E3/E3). Si les individus sont porteurs de l'allèle ϵ_4 (E4/E4, E4/E3), les caractéristiques sont alors à l'inverse des individus porteurs de l'allèle ϵ_2 . Le nombre de récepteurs B/E se trouve ainsi diminué, d'où des niveaux plus élevés de cholestérol et LDL par rapport à ceux portant l'allèle ϵ_3 (E3/E3). (Hanis et al. 1991; Xhignesse et al. 1991; Gueguen et al. 1989; Davignon et al. 1988; Havekes et al. 1988; Boerwinkle et al. 1987; Sing et Davignon 1985).

2.3 RELATIONS ENTRE LES NIVEAUX DE LIPIDES ET DE LIPOPROTEINES ET LES AUTRES FACTEURS DE RISQUE DES MALADIES CARDIO-VASCULAIRES.

2.3.1 Relations entre les niveaux de lipides et de lipoprotéines sanguins et l'obésité

L'obésité est reconnu comme un facteur de risque des MCV (Hubert et al. 1983). Ce sont les complications liées à l'obésité qui sont responsables d'initier cette prédisposition aux maladies cardio-vasculaires. Entre autres, Seidell et al. (1986), ont démontré que les patients qui présentaient un excès de graisse avaient plus de chances de développer l'artériosclérose, le diabète, l'arthrose, et la goutte. Le risque relatif est de 4,2 et 5,1 respectivement pour l'homme et la femme concernant l'artériosclérose, de 5,2 et 5,6 pour le diabète, de 1,9 et 1,3 pour l'arthrose, et ce risque est de 9,0 pour la goutte chez l'homme. Hubert (1986), Stern et Haffner (1986) ont aussi rapporté que le métabolisme des hydrates de carbone et des lipides était perturbé chez les personnes obèses, et que ces effets étaient associés à l'étiologie des MCV.

Différentes méthodes de mesure ont été élaborées pour pouvoir classifier le degré de corpulence d'un individu, et établir ainsi les relations entre l'obésité et les niveaux lipidiques. Entre autres, l'indice de masse corporelle (BMI) est un indicateur du degré de corpulence fréquemment utilisé; il est obtenu par le rapport du poids (en kg) sur la taille (en mètres) au carré (Keys et al. 1972). Ainsi, plusieurs études ont utilisé cet indice de corpulence pour établir les relations entre l'obésité et les lipides.

Dans l'étude de Anderson et al. (1988), il a été démontré que le BMI était positivement corrélé aux niveaux de cholestérol total, des triglycérides, et inversement

Freedman et al. (1990), ainsi que Anderson et al. (1988), ont observé une relation positive entre le WHR et les triglycérides, ainsi que le cholestérol total, et une relation négative avec les HDL-C, autant chez les hommes que chez les femmes. Terry et al. (1989) ont reproduit les mêmes relations chez une population d'hommes, mais ils ont aussi rapporté une corrélation positive avec les LDL-C et les VLDL-C.

2.3.3 Relations entre les niveaux de lipides et de lipoprotéines sanguins et le tabagisme

En plus de l'obésité et de la distribution de la graisse corporelle, le tabagisme contribue également à augmenter le risque de MCV en altérant le profil lipidique. Les études ont surtout portées sur les HDL-C. L'intérêt pour les HDL-C s'explique par l'importance des HDL en tant qu'indicateur des MCV, d'une part, et par les résultats de nombreuses études ayant montré une diminution des HDL-C chez les fumeurs comparativement aux non-fumeurs (Garrison et al. 1978; Criqui et al. 1980; Williams et al. 1978; Lupien et al. 1988; Berg et al. 1979). En effet, Golbourn et Medalie, (1979) ont montré qu'une diminution des HDL-C était associée à une incidence accrue de l'infarctus du myocarde et, parallèlement, Gordon et al. (1977) ont suggéré qu'une diminution des HDL-C empêchait une élimination efficace du cholestérol au niveau des parois artérielles, ce qui augmentait les chances d'athérosclérose. Quelques études ont aussi rapporté des niveaux plus élevés de cholestérol, des LDL-C et des triglycérides chez les fumeurs (Haarbo et al. 1990; Handa et al. 1990; Willet et al. 1983; Phillips et al. 1981).

2.3.4 Influence du polymorphisme de l'apo E sur les relations existant entre les facteurs de risque de maladies cardio-vasculaires

L'influence du polymorphisme de l'apo E sur les lipides et les lipoprotéines a été étudiée au sein d'un nombre important de populations (Gerdes et al. 1992; Halmann et al. 1991). Comparativement au grand nombre d'études portant sur l'influence du polymorphisme de l'apo E sur les concentrations de lipides et de lipoprotéines, peu d'études ont tenté de déterminer si ce polymorphisme influençait la relation entre les lipides et d'autres facteurs de risque des MCV, ou encore la covariation entre les lipides et lipoprotéines plasmatiques.

Grâce à la méthode du génotype mesuré, l'effet du polymorphisme de l'apo E sur l'interaction entre différents facteurs de risque (Reilly et al. 1992; Pouliot et al. 1990) ainsi que sur l'interaction existant entre les facteurs génétiques et environnementaux (Reilly et al. 1992; Miettinen 1991; Tikkanen et al. 1990; Manttari et al. 1991), a pu être investigué avec plus de précision.

Par exemple, chez une population de 507 individus Caucasiens de Rochester, Minnesota, Reilly et al. (1992) ont démontré que le polymorphisme de l'apo E influençait les relations entre le poids, le WHR et les niveaux de lipides et de lipoprotéines. Ils ont observé que le génotype E3/E2 était le principal responsable de l'hétérogénéité entre les classes génotypiques. De plus, ils ont noté une différence entre les deux sexes. Chez la femme, le polymorphisme de l'apo E influençait les relations entre le poids et le cholestérol total, les triglycérides ainsi que les HDL-C. Chez le sexe masculin, le polymorphisme de l'apo E n'exerçait aucune influence entre le poids et les niveaux de

lipides et de lipoprotéines, tandis que l'interaction était toujours présente entre le WHR et les triglycérides, ainsi que les HDL-C.

Pouliot et al. (1990) ont aussi démontré que le polymorphisme de l'apo E avait une influence sur les relations existant entre le WHR et les triglycérides et le cholestérol associées au VLDL, LDL, HDL, chez une population de femmes préménopausées (n=63). Chez les femmes porteuses du génotype E3/E3, les corrélations étaient positives entre la masse grasseuse, le WHR et les niveaux lipidiques (VLDL-TG, VLDL-C, LDL-C, LDL-TG), et ces corrélations étaient négatives avec les HDL-C. Ces associations étaient modifiées chez les femmes porteuses des allèles ϵ_2 et ϵ_4 . Chez celles portant l'allèle ϵ_2 , les corrélations étaient plus importantes entre la masse grasse, le WHR et les VLDL-TG ainsi que les VLDL-C, comparativement à celles de génotype E3/E3. Les associations devenaient non significatives avec les LDL-C, et seul le WHR conservait une relation négative avec les HDL-C. Chez celles portant l'allèle ϵ_4 , les associations devenaient non significatives entre la masse grasseuse, le WHR et les variables lipidiques. Par contre, il a été observé que les corrélations avec les LDL-C étaient plus importantes qu'avec ϵ_2 .

Dans une autre étude effectuée au sein d'une population de 223 individus de Nancy, France, Boerwinkle et al. (1987), ont montré que le polymorphisme de l'apo E influençait la covariation entre les triglycérides et le cholestérol. Ils ont observé que les corrélations entre les triglycérides et de cholestérol étaient plus élevées chez les individus de génotype E2/E3 et moins élevées chez ceux de génotype E3/E4 comparativement aux autres génotypes.

L'interaction génotype-environnement a beaucoup été étudiée à l'aide de l'approche du génotype mesuré en utilisant la diète comme facteur de l'environnement.

Tikkanen et al. (1990), ainsi que Miettinen (1991), ont montré que la réponse du cholestérol plasmatique à un changement diététique, était modulée par le polymorphisme de l'apo E. En réponse à une diminution du cholestérol à la consommation alimentaire, les individus porteurs de l'allèle ϵ_4 présentaient une réduction plus élevée de cholestérol total que les individus porteurs des autres génotypes.

Dans une autre étude, Kaprio et al. (1989), ont montré que les effets de la cigarette sur les concentrations plasmatiques d'apo AII, une composante des HDL, étaient influencés par le polymorphisme de l'apo H, une apolipoprotéine associée aux chylomicrons, aux VLDL, aux LDL et aux HDL.

Ces études suggèrent que des facteurs génétiques peuvent influencer les relations entre les principaux facteurs de risque de MCV, de même que la réponse de ces facteurs de risque à l'environnement (interaction génotype-environnement). Dans cette recherche, il sera également question de déterminer si le polymorphisme de l'apo E influence les corrélations entre les facteurs de risque de MCV et s'il y a interaction génotype-environnement, en utilisant le tabagisme comme facteur environnemental.

La recherche sera effectuée sur la population du Lac-Saint-Jean, Québec, population dont les caractéristiques lui confèrent une certaine homogénéité génétique. En effet, la fréquence de certaines allèles peuvent devenir importante au sein de cette population, en partie expliquée par un effet fondateur et une fécondité élevée. Cette homogénéité génétique expliquerait la prévalence et l'incidence élevée de certaines maladies telles que la dystrophie myotonique, la tyrosinémie, le rachitisme vitamino-dépendant, par rapport à d'autres populations (Bouchard et de Braekeleer, 1991). Dans

une étude de Robitaille et al. 1993, il a été observé que la fréquence allélique ξ_2 (0,137) est plus importante dans cette population comparativement à d'autres populations.

CHAPITRE 3

INFLUENCE DU POLYMORPHISME DE L'APOLIPOPROTEINE E SUR LES RELATIONS ENTRE LES FACTEURS DE RISQUE CARDIOVASCULAIRES CHEZ UNE POPULATION CANADIENNE FRANÇAISE

Les effets du polymorphisme de l'apoE sur les relations entre les niveaux plasmatiques de lipides et de lipoprotéines sanguins (cholestérol, LDL-C, HDL-C, triglycérides) et l'indice de masse corporelle (BMI), et la distribution de la graisse corporelle, mesuré par le ratio circonférence de la taille sur celle des hanches, ainsi que la covariation existant entre les variables lipidiques, ont été étudiés chez une population de 435 individus (233 hommes et 202 femmes) de la région du nord-est de la province de Québec. Les variables lipidiques ont été ajustées pour l'âge, le tabagisme, et le niveau d'activité physique, séparément chez l'homme et la femme, par des procédures de régression. Chez la femme, les valeurs ont aussi été ajustées pour la médication hormonale. Un test de X^2 était utilisé pour vérifier l'hypothèse nulle d'homogénéité des corrélations entre les phénotypes de l'apo E. Les résultats ont démontré que les relations entre les variables lipidiques (cholestérol, LDL-C, HDL-C, triglycérides) et le (BMI), ainsi que le (WHR), n'étaient pas influencés par le polymorphisme de l'apo E, chez les deux sexes. Cependant, les corrélations entre le cholestérol et le HDL-C, le cholestérol et les triglycérides, le LDL-C et le HDL-C, le LDL-C et les triglycérides, chez les hommes, étaient hétérogènes entre les phénotypes de l'apo E. En effet, chez les individus porteurs de l'allèle ϵ_2 , ces corrélations étaient plus élevées que chez les porteurs des allèles ϵ_3 , et ϵ_4 . Ces résultats suggèrent que le polymorphisme de l'apo E influence non seulement les concentrations de lipides et de lipoprotéines, mais aussi la covariation entre ceux-ci.

INFLUENCE OF APOLIPOPROTEINE E POLYMORPHISM ON THE RELATIONSHIPS BETWEEN
CARDIOVASCULAR RISK FACTORS IN FRENCH CANADIANS

Gaétanne Cormier

Nicole Robitaille

Régis Couture

Jean Davignon

Louis Pérusse

Acknowledgements: This study was supported by 'Fonds pour la formation de Chercheurs et l'aide à la recherche' (FCAR), Quebec's department of Health and Social Services, Health and Welfare Canada, Quebec's Hearth and Stroke Foundation, and the Community Health department of Roberval; G. Cormier is a recipient of doctoral studentship from FCAR. L. Pérusse is a research scholar from "Fonds de la recherche en Santé du Québec". Thanks are expressed to Camil Simard, Robin Simard, and Najet Ben Yoissef, for their technical assistance.

ABSTRACT

The effects of apo E polymorphism on the relationships between blood lipids and lipoproteins (cholesterol, LDL-C, HDL-C, triglycerides) and body mass index (BMI), regional fat distribution assessed by the waist to hip ratio (WHR), as well as the covariation between lipid variables, were studied in 435 individuals (233 men and 202 women) from the northeastern region of the province of Quebec. Blood lipid variables were adjusted for the effects of age, smoking, and physical activity level, separately in females and males, by regression procedures. In females, data were also adjusted for hormonal medication. A chi-square test was used to test the null hypothesis of homogeneity of correlation among apo E phenotypes. The results showed that relationships between lipid variables (cholesterol, LDL-C, HDL-C, triglycerides) and BMI, as well as WHR, were not influenced by apo E polymorphism in both genders. However, the correlations between cholesterol and HDL-C, cholesterol and triglycerides, LDL-C and HDL-C, LDL-C and triglycerides, in males were found to be heterogeneous among apo E phenotypes. These correlations were higher in carriers of the ϵ_2 allele compared to carriers of the ϵ_3 or ϵ_4 alleles. These results suggest that apo E polymorphism can not only influence blood lipid levels, but also the covariation between blood lipids and lipoproteins.

INTRODUCTION

Apolipoprotein E (apo E) is a constituent of chylomicrons remnants, VLDL and HDL and serves as ligand for these lipoproteins to cellular receptors. It also plays a role in the conversion of VLDL remnants to LDL as well as in the reverse cholesterol transport via its association with HDL (1). The apo E gene, located on the long arm of chromosome 19, is polymorphic: three alleles (ϵ_2 , ϵ_3 , ϵ_4) coding for three isoforms give six phenotypes (E2/E2, E3/E2, E3/E3, E4/E3, E4/E4, E4/E2) in the population (2, 3). Several populations have shown that interindividual differences in plasma lipid levels were influenced by the apo E polymorphism. These studies (4-11) revealed that ϵ_2 and ϵ_4 alleles were associated with lower and higher cholesterol levels respectively.

Despite the well known associations between apo E polymorphism and plasma lipid levels, few attempts have been made to test whether this polymorphism influences the relationship between cardiovascular disease risk factors. In a population of 557 Caucasian individuals from Rochester, Minnesota, Reilly et al. (12) have shown that apo E polymorphism influences the relationships between WHR, weight, and lipid variables, in both men and women. In another study, Pouliot and al. (13) have also demonstrated that in premenopausal women population (n=63), the associations existing between lipid levels and body mass index as well as fat distribution index were influenced by apo E polymorphism. In addition, based on data from 223 individuals, Boerwinkle et al. (14) showed that the correlation between triglycerides and cholesterol was altered by genetic variation at the apo E locus.

The purpose of this paper is to establish whether apoE polymorphism influences the relationships between blood lipid and obesity, as well as between blood lipids and regional fat distribution. It will also attempt to establish whether apoE polymorphism affects the covariation between blood lipid and lipoproteins. This study will be carried out in 435 individuals of French Canadian descent from the northeastern part of the province of Quebec, Canada.

METHODS

Study sample

The data used in the present study were obtained from a survey on cardiovascular health undertaken in the Lac-Saint-Jean, Chibougamau and Chapais areas, in the northeastern part of the province of Quebec, as a part of a similar province-wide survey undertaken at the same time, the Quebec Heart Health Survey (QHHS). A detailed description of this survey along with sampling procedures is given elsewhere (15). Briefly, 800 individuals aged from 18 to 74 years were randomly sampled from the health insurance registry lists. Of those sampled, 94% (n=750) were either reached by telephone or letter or were contacted in person, and 87% of them (n=656) agreed to participate in the study. However, because of failure to attend the clinic, to give fasting blood samples or losses due to laboratory manipulations, apo E phenotyping was performed on a sample of 525 individuals. After exclusion of individuals that were not of French Canadian descent, pregnant women, individuals with diabetes or thyroid dysfunction, individuals on medication for thyroid problems or hyperlipidemia, a final sample of 435 unrelated (randomly sampled) individuals, 233 men and 202 women, were retained for the analyses.

Data collection

Subjects were first visited by nurses who conducted home interviews to obtain information on lifestyle, health status, attitudes and knowledge about risk factors. Subjects were then scheduled (usually within 2 weeks of home visit) to attend a clinic for blood samples drawing and anthropometric measurements. Each nurse received a

similar formation prior the beginning of the survey to ensure standardization of all measurements.

ANTHROPOMETRIC MEASURES

Anthropometric measures included height and weight measurements as well as the measure of waist and hip circumferences. Height and weight were measured in a standardized way with subjects wearing light clothes without shoes. Waist and hip circumferences were measured to the nearest centimeter. Based on these measurements, the body mass index (weight in kg divided by height in squared meters) and the waist to hip ratio (WHR) were calculated and used as indicators of obesity and fat distribution, respectively.

BLOOD LIPIDS AND APO E PHENOTYPE DETERMINATIONS

Each individual had to be in fasting state twelve hours and refrain from drinking alcohol 48 hours before attending the clinic for blood samples collection. Blood samples were drawn from antecubital vein into vacutainer tubes containing anticoagulant and centrifuged within 3 hours of collection. Plasma was transferred to tubes and frozen at -40°C until determination. At the end of the survey, all samples were sent to the Lipid Research Laboratory of the St-Michaels Hospital, University of Toronto, for determination of blood lipids and lipoproteins. This laboratory is the Lipid Research Clinic (LRC) center certified by the NHLBI-Centers for Disease Control Lipid Standardization Program. Total cholesterol and triglycerides levels were determined by enzymatic methods using the Technicon RA1000 analyser as described elsewhere (16). High density lipoprotein cholesterol (HDL-C) was measured as the cholesterol content of the supernatant after precipitation of lipoproteins of lower densities (17). Low-density-

lipoprotein-cholesterol (LDL-C) was calculated according to the Friedewald formula (18).

Apolipoprotein (apo) E phenotypes were determined according to the method described by Mailly et al (19) on total plasma samples. After delipidation of plasma samples, isoelectric focusing of apo E was performed in immobilized pH gradients followed by immunodetection of the separated isoforms with mouse anti-apo E monoclonal antibodies (19). Apo E phenotype determinations were made by two independent observers.

CONCOMITANT VARIABLES

Data on smoking, physical activity and hormonal medication were derived from the questionnaires completed at home by each subject. Subjects were classified into the following three categories of physical activity based on the intensity, the frequency and duration of activity: 1) high level of activity included individuals involved in high intensity exercise (hockey, football, soccer, etc.) at least twice a week for a minimum of 20 minutes on each occasion; 2) moderate level of activity included individuals involved in activities of moderate intensity (rapid walking, volley-ball, baseball, etc.) at least twice a week for 20 min on each occasion and 3) low level of activity included individuals involved in activities of low intensity (yoga, bowling, etc.). Based on their smoking habits, individuals were classified into three categories: ex-smokers, non-smokers (never smoked) and smokers (current smokers). Finally, women were categorized as users or non-users of hormones depending on whether or not they were taking contraceptives or were on hormone replacement therapy.

STATISTICAL ANALYSIS

All lipid and lipoprotein values were regressed, separately in males and females, on age, smoking, physical activity and hormonal medication (for women). The residual from these regressions were used for subsequent analyses. The adjusted triglyceride and HDL-C values were transformed to reduce skewness and ensure normality of the distribution.

Correlation between lipids and lipoprotein variables and BMI as well as WHR were computed separately in men and women. A chi-square test was used to test the null hypothesis of homogeneity of correlations among apo E phenotypes (20). All the analyses were performed using the SPSS-X statistical package (21).

RESULTS

The distribution of apo E phenotypes as well as frequencies of apo E alleles in this sample were presented elsewhere (15). Relative frequencies of the ϵ_2 , ϵ_3 and ϵ_4 apo E alleles in this sample were 0.137, 0.749, and 0.114, respectively and no significant differences between men and women will be observed in these frequencies (15). Subjects were classified according to their apo E phenotypes. However, because of the small number of E2/E2 (n=8), E4/E4 (n=5) and E4/E2 (n=3) individuals, subjects were divided into three groups. The E2 group (n=106) included the E2/E2 and E3/E2 individuals, the E3 group (n=233) included the E3/E3 individuals and E4 group (n=91) included the E4/E3 and E4/E4 individuals. The three heterozygous E4/E2 individuals were excluded from the sample.

Analyses were performed separately in men and women. After adjustment of lipid values for age, smoking, physical activity and hormonal medication in women, no significant differences were observed between pre- and post-menopausal women in blood lipids and lipoproteins (results not shown). Therefore, analyses on women were done independently of their menopausal status.

Table 1 presents the descriptive statistics of variables in men and women for each group. No significant difference between apoE groups were observed for age, body mass index, and waist to hip ratio in both men and women. However, blood lipids and lipoproteins were found to be significantly by different among apo E groups in men, while in women it was significantly different only for cholesterol and LDL-C. In both genders, individuals carrying the ϵ_2 allele, have lower, while individuals carrying ϵ_4

allele have higher levels of cholesterol and LDL-C, compared to individuals of the E3 group. Despite the absence of significant differences among apo E groups, the HDL-C levels were lower in E2 and E4 groups, both in male and female that compared to E3 group. The effects of apoE polymorphism on blood lipids and lipoproteins in this population are described in details elsewhere (15).

Insert table 1 about here

Correlations between BMI and blood lipids and lipoproteins by apo E groups are presented in table 2. No significant associations between BMI and total cholesterol as well as LDL-C were found in both men and women. In men, significant correlations were found between BMI and HDL-C for E3 ($r = -0,34$) and E4 ($r = -0,41$) groups, while in women these correlations were found to be significant in E2 ($r = -0,38$) and E3 ($r = -0,25$) groups. The same pattern was observed for triglycerides, with correlations of 0,37 and 0,34 for men of the E3 and E4 groups, respectively, and with correlations of 0,35 and 0,31 for women of the E2 and E3 groups, respectively. The results of the chi-square tests indicate that these correlations are not significantly different among apo E groups for both men and women, suggesting that the relationships between BMI and blood lipids and lipoproteins are not influenced by apo E polymorphism.

Insert table 2 about here.

Table 3 presents the results of the correlations between WHR and blood lipids and lipoproteins. As indicated by the chi-square values, no significant differences between apoE groups were observed in the correlations between lipid levels and WHR, suggesting that the association between blood lipids and fat distribution is not influenced by the apoE polymorphism. However, as observed for BMI, significant

correlations between fat distribution and blood lipids were found in some apo E groups but not in others. For example, significant associations between WHR and HDL-C were found in apo E4 men (-0,29), and women (-0,39), but not in other groups.

Insert table 3 about here

Correlations between blood lipids and lipoproteins among apo E groups are given in table 4. The results indicate that the relationships between blood lipids and lipoproteins are influenced by apo E polymorphism in men but not in women. In men, correlations between CHOL and HDL, CHOL and triglycerides, LDL and HDL levels, and LDL and triglycerides, were found to be significantly different among apo E groups. The correlations between blood lipids and lipoproteins tended to be higher in apo E2 group compared to apo E3 and apo E4 groups.

In women, although correlations were found to be homogeneous among apo E groups, some trends were observed for the correlations between CHOL and HDL ($\chi^2 = 4.45$, $p = 0.11$) and between LDL and HDL ($\chi^2 = 3.98$, $p = 0.14$). In the apo E2 group, HDL-CHOL levels were found to be negatively correlated with CHOL and LDL-CHOL levels while in the apo E4 group these correlations were positive, although not significant.

Insert table 4 about here

DISCUSSION

The correlations presented in tables 2 and 3 confirm the results of previous studies (22-25) showing that obesity and upper body fat distribution are associated with a lipid profile that increases the risk of coronary heart disease, i.e. higher levels of cholesterol and triglycerides and lower levels of HDL-C. However, in contrast with studies of Reilly et al. (12) and Pouliot et al. (13), our results indicate that the relationships between BMI, WHR, and lipid variables are not altered by the apo E polymorphism. However, despite the absence of heterogeneity in correlations among apo E groups, significant associations were observed in some apo E groups. The results also revealed that pattern of correlations tended to be different in men than in women.

The results indicate that the associations between WHR and cholesterol levels as well as between BMI and HDL-C and triglyceride levels, tend to be stronger in apo E2 compared to apo E4 women. The same trend was observed in the study of Pouliot et al. (13) where in a group of 63 premenopausal women, the correlations between fat mass or WHR and cholesterol and triglycerides associated to very low density lipoproteins were found to be higher in apo E2 compared to apo E4 groups. In contrast to the results found in women, the findings in men reveal that the relationships between BMI and HDL-C levels, and between WHR and HDL-C or triglycerides levels tend to be stronger in individuals of the apo E4 group compared to that of the apo E2 group (22-25).

These results suggest that the detrimental effects of increased body mass and upper body fat distribution on the lipid profile tend to be more important in men and women carrying the ϵ_4 and ϵ_2 alleles, respectively. Reilly et al. (12) also found that the

effects of apo E polymorphism were not the same in men and women. They found that the correlations between body weight and blood lipids were not altered by apo E polymorphism in men, while in women, the relationships between body weight and cholesterol, or triglycerides or HDL-C were different among apo E genotypes.

As observed for the relationships between body mass or fat distribution and blood lipids, the effects of apo E polymorphism on the relationships between blood lipids and lipoproteins were found to be different in men and women. The relationships between cholesterol and HDL-C, cholesterol and triglyceride, LDL-C and HDL-C, and LDL-C and triglyceride levels were significantly altered by the apo E polymorphism in men but not in women. In all cases, these correlations whether positive or negative, were stronger in apo E2 compared to apo E3 and apo E4 individuals. These results are in agreement with those of Boerwinkle et al. (14) that have shown, based on a sample of 223 individuals from France, that the correlations between cholesterol and triglycerides levels were higher in carriers of the ϵ_2 allele, compared to others.

In females, the relationships were not influenced by apo E polymorphism. In spite of the absence of significant difference between apo E groups, we observed that E2 and E3 women have tendency to present similar correlations between blood lipid variables, while E4 women tend to present slightly different correlations.

In summary, in this French Canadian population from Northeastern Quebec, the relationships between blood lipids and body mass or body fat distribution, in both men and women, were not found to be altered by apo E polymorphism. However, these associations appear to be very different in men and women, suggesting that the relationship between blood lipids and lipoproteins and obesity and fat distribution are sex specific. This study also revealed that the relationships between lipids and

lipoproteins in males were influenced by apo E polymorphism. This findings suggest that allelic variation at the apo E locus may not only influence lipid levels, but also the interrelationships among lipid variables.

ACKNOWLEDGEMENTS

G. Cormier is recipient of a student fellowship from the "Fonds pour la formation de Chercheurs et l'aide à la recherche" (FCAR). L. Pérusse is a research scholar from the "Fonds de la Recherche en Santé du Québec" (FRSQ). This study was supported by FCAR. Thanks are expressed to Camil Simard, to Robin Simard and Najet Ben Yoissef from "Université du Québec à Chicoutimi" for their technical assistance.

REFERENCES

1. Malhey RW, Innerarity TL. Lipoprotein receptors and cholesterol homeostasis. *Biochem Biophys* 1983; 737: 197-222.
2. Olaisen B, Teisberg P, Geddi-Dahl T. The locus for apolipoprotein E is linked to the complement C111 locus on chromosome 19 in man. *Hum Genet* 1982; 62: 233-236.
3. Zannis VI, Breslow JL, Utermann G, Malhey RW, Weisgraber KH, Havel RJ, Golstein JL, Brown MS, Schonfeld G, Hazzard WR, Blum CB. Proposed nomenclature of apo E isoprotein genotypes and phenotypes. *J Lipid Res* 1982; 23: 911-914.
4. Hallman DH, Boerwinkle E, Saha N, Sansholzer C, Menzel HJ, Csazar A, Utermann G. The apolipoprotein E polymorphism : a comparison of allele frequencies and effects in nine populations. *Am J Hum Genet* 1991; 49: 338-349.
5. Xhignesse M, Lussier-Cacan S, Sing CF, Kessling AM, Davignon J. Influences of common variants of apolipoprotein E on measures of lipid metabolism in a sample selected for health. *Arteriosclerosis and Thrombosis* 1991; 11: 1100-1110.
6. Gueguen R, Visvikis S, Steinmetz J, Siest G, Boerwinkle E. An analysis of genotype effects and their interactions by using the apolipoprotein E polymorphism and longitudinal data. *Am J Hum Genet* 1989; 45: 793-802.
7. Davignon J, Gregg RE, Sing CF. Apolipoprotein E polymorphism and atherosclerosis. *Arteriosclerosis* 1988; 8: 1-21.
8. Havekes LM, de Knijff P, Smith M, Frants RR. The effect of apolipoprotein E allele substitution on plasma lipid and apolipoprotein levels. *Eicosanoids apolipoprotein* 1988; 87-93.

9. Boerwinkle E, Visvikis S, Welsh D, Steinmetz J, Hanash SM, Sing CF. The use of measured genotype information in the analysis of quantitative phenotypes in man. 11. The role of the apolipoprotein E polymorphism in determining levels, variability, and covariability of cholesterol, betalipoprotein, and triglycerides in a sample of unrelated individuals. *Am J Hum Genet* 1987; 27: 567-582.
10. Boerwinkle E, Sing CF. The use of measured genotype information in the analysis of quantitative phenotypes in man. 111. Simultaneous estimation of the frequencies and effects of the apolipoprotein E polymorphism and residual effects on cholesterol, betalipoprotein and triglyceride levels. *Ann Hum Genet* 1987; 51: 211-226.
11. Sing CF, Davignon J. Role of the apolipoprotein E polymorphism in determining normal plasma lipid and lipoprotein variation. *Am J Hum Genet* 1985; 37: 268-285.
12. Reilly SL, Ferrel RE, Kottke BA, Sing CF. The gender-specific apolipoprotein E genotype influence on the distribution of plasma lipids and apolipoproteins in the population of Rochester, Minnesota. 11. Regression relationships with concomitants. *Am J Human Genet* 1992; 51: 1311-1324.
13. Pouliot MC, Després JP, Moorjani S, Lupien PJ, Tremblay A, Bouchard C. Apolipoprotein E polymorphism alters the association between body fatness and plasma lipoproteins in women. *J Lipid Res* 1990; 31: 1023-1029.
14. Boerwinkle E, Visvikis S, Welsh D, Steinmetz J, Hanash SM, Sing CF. The use of measured genotype information in the analysis of quantitative phenotypes in man. 11. The role of the apolipoprotein E polymorphism in determining levels, variability, and covariability of cholesterol, betalipoprotein, and triglycerides in a sample of unrelated individuals. *Am J Hum Genet* 1987; 27: 567-582.
15. McLean DR, Petrasovits A, Nargundkar M, Connely PW, McLeod E, Edwards A, Hessel P. Canadian heart health surveys: a profile of cardiovascular risk. Survey and data analysis. *Can Med Assoc J (Suppl 1)*, 1992; 3-8.

16. Dept. Health, Education and Welfare. Manual of Laboratory Operation, Lipid Research Clinics Program, Publication No. (NIH) 75-628. Dept. Health, Education and Welfare, Washington, D.C. 1974; 1-81.
17. Bachorik PS, Walker RE, Virgil DG. High-density-lipoprotein cholesterol in heparin-MnCl₂ supernates determined with the Dow enzymatic method after precipitation of Mn²⁺ with HCO₃⁻. Clin Chem 1984; 30: 839-842.
18. Friedewald WT, Levy RI, Fredrickson DS. Estimation of plasma low density lipoprotein cholesterol concentration without use of the preparative ultracentrifuge. Clin Chem 1972; 18: 499-502.
19. Mailly F, Davignon J, Nestruck AC. Analytic isoelectric focusing with immobilized pH gradients of human apolipoprotein E from very low density lipoproteins and total plasma. J Lipid Res 1990; 31: 149-155.
20. Snedecor GW, Cochran WG. Statistical methods. The Iowa State University Press, Iowa, 1967, pp 186-188.
21. SPSS-X User's guide 3 RD. SPSS inc., 1988, 1072 p.
22. Terry RB, Wood Pd, Haskell WL, Stefanick ML, Krauss RM. Regional adiposity patterns in relation to lipids, lipoprotein cholesterol, and lipoprotein subfraction mass in men. J Clin Endocrinol Metab 1989; 68: 191-199.
23. Seidell JC, Mensink RP, Katan MB. Measures of fat distribution as determinants of serum lipids in healthy volunteers consuming a uniform standardized diet. Eu J Clin Invest 1988; 18: 243-249.
24. Anderson AJ, Sobocinski KA., Freedman DS, Barboriak JJ, Rimm AA, Gruchow HW. Body fat distribution, plasma lipids, and lipoproteins. Arteriosclerosis 1988; 8: 88-94.

25. Freedman DS, Jacobsen SJ, Barboriak JJ, Sobocinski KA, Anderson AJ, Kissebah AH, Sasse EA, Gruchow HW. Body fat distribution and male/female differences in lipids and lipoproteins. *Circulation* 1990;81:1498-1506.

Tableau 1
Descriptives statistics of age, body mass index, waist-to-hip ratio, blood lipids,
in apo E phenotype groups.

Variables	Men			Women		
	E2 (n=48)	E3 (n=130)	E4 (n=56)	E2 (n=60)	E3 (n=103)	E4 (n=39)
Age (years)	44,85 ± 18,00	44,87 ± 17,02	44,14 ± 16,93	40,58 ± 17,76	42,86 ± 16,36	41,64 ± 17,79
Body mass index (kg/m ²)	22,77 ± 3,64	25,13 ± 3,24	25,23 ± 4,31	23,93 ± 4,98	25,12 ± 5,25	23,97 ± 5,80
Waist-to-hip ratio (units)	0,90 ± 0,10	0,91 ± 0,07	0,91 ± 0,06	0,79 ± 0,07	0,79 ± 0,06	0,77 ± 0,06
Cholesterol (mmole/l)	4,95 ± 0,88(*)	5,20 ± 0,80(*)	5,51 ± 0,91(*)	4,70 ± 0,80(*)	5,14 ± 0,81(*)	5,20 ± 0,85(*)
LDL-C (mmole/l)	2,90 ± 0,72(*)	3,25 ± 0,74(*)	3,51 ± 0,75(*)	2,60 ± 0,72(*)	3,10 ± 0,76(*)	3,15 ± 0,75(*)
HDL-C (mmole/l)	1,26 ± 0,30(*)	1,30 ± 0,35(*)	1,14 ± 0,27(*)	1,44 ± 0,36	1,48 ± 0,39	0,85 ± 0,62
Triglycerides (mmole/l)	1,45 ± 1,11(*)	1,25 ± 0,72(*)	1,60 ± 0,91(*)	1,19 ± 0,73	1,05 ± 0,61	1,06 ± 0,06

* ≤ 0.05

Tableau 2

Correlations between body mass index and blood lipids and lipoproteins
by apoE phenotypes in men and women

Variables	Men	Women
	(48,130,52) ^a	(60,103,39) ^a
Cholesterol		
E2	0,19	0,05
E3	0,09	0,03
E4	0,03	0,05
X ² (b)	0,65	0,03
LDL-C		
E2	0,14	0,04
E3	0,09	0,04
E4	-0,03	0,12
X ²	0,76	0,18
HDL-C		
E2	-0,20	-0,38*
E3	-0,34*	-0,25*
E4	-0,41*	-0,27
X ²	1,28	0,89
Triglycerides		
E2	0,26	0,35*
E3	0,37*	0,31*
E4	0,34*	0,25
X ²	0,48	0,23

a) Number of subjects in E2, E3, E4 groups, respectively

b) $\chi^2_{95} (df=2)=5.99$

* $p \leq 0,05$

Tableau 3

Correlations between waist-to-hip ratio and blood lipids and lipoproteins
by apoE phenotypes in men and women

Variables	Men (48,130,52) ^a	Women (60,103,39) ^a
Cholesterol		
E2	0,11	0,27*
E3	0,15	0,06
E4	-0,02	0,06
X ² (b)	0,97	1,87
LDL-C		
E2	0,05	0,21
E3	0,14	0,11
E4	-0,11	0,17
X ²	2,13	0,43
HDL-C		
E2	-0,19	-0,04
E3	-0,08	-0,16
E4	-0,29*	-0,39*
X ²	1,72	3,17
Triglycerides		
E2	0,23	0,23
E3	0,18*	0,11
E4	0,32*	0,26
X ²	0,58	0,94

a) Number of subjects in E2, E3, E4 groups, respectively

b) $X^2_{95} (df=2)=5.99$

* $p \leq 0,05$

Tableau 4

Correlations between blood lipids and lipoproteins
by apoE phenotypes in men and women.

Variables	Men				Women			
	E2	E3	E4	X ² (b)	E2	E3	E4	X ² (b)
	(n=48) ¹	(n=130)	(n=52)		(n=60)	(n=103)	(n=39)	
CHOL-LDL	0,82*	0,86*	0,87*	0,59	0,82*	0,83*	0,81*	0,11
CHOL-HDL	-0,37*	0,10	0,07	8,28*	-0,15	-0,14	0,24	4,45
CHOL-trig	0,72*	0,29*	0,42*	12,3*	0,41*	0,46*	0,49*	0,26
LDL-HDL	-0,46*	-0,04	0,04	8,62*	-0,31*	-0,34*	0,03	3,98
LDL-trig	0,54*	0,11	0,18	8,17*	0,26*	0,37*	0,47*	1,34
HDL-trig	-0,55*	-0,46*	-0,55*	0,83	-0,43*	-0,47*	-0,30	1,13

b) $\chi^2_{95} (df=2)=5.99$

* $p \leq 0.05$

CHAPITRE 4

INFLUENCE DU POLYMORPHISME DE L'APOLIPOPROTÉINE E SUR LES RELATIONS ENTRE LE TABAGISME ET LES LIPIDES SANGUINS

L'objectif de cette étude est de démontrer s'il y a une influence du polymorphisme de l'apo E sur les relations entre le tabagisme et les niveaux de lipides et de lipoprotéines sanguins (cholestérol, LDL-C, HDL-C, triglycéride). Ces analyses ont été exécutées chez une population Caucasienne de 114 hommes et 142 femmes du Lac-Saint-Jean, Chibougamau et Chapais d'une région du nord-est de la province de Québec, Canada. Les variables lipidiques ont été ajustées pour l'âge, le WHR, le BMI, et l'activité physique, chez l'homme et la femme. Elles ont aussi été ajustées chez les femmes qui prennent une médication hormonale. Pour démontrer s'il y a interaction génotype-environnement, nous avons utilisé le test du X^2 . Les résultats ont suggéré qu'il n'y avait pas d'interaction génotype-environnement. Cela signifie que les effets du tabagisme sur les variables lipidiques ne sont pas influencés par le polymorphisme de l'apo E.

INFLUENCE OF APOLIPOPROTEIN E POLYMORPHISM ON THE RELATIONSHIP BETWEEN SMOKING AND BLOOD LIPIDS

Gaétanne Cormier

Nicole Robitaille

Régis Couture

Jean Davignon

Louis Pérusse

Acknowledgements: This study was supported by 'Fonds pour la formation de Chercheurs et l'aide à la recherche' (FCAR), Quebec's department of Health and Social Services, Health and Welfare Canada, Quebec Hearth and Stroke Foundation, and the Community Health department of Roberval; G. Cormier is a recipient of doctoral studentship from FCAR. L. Pérusse is a research scholar from "Fonds de la recherche en Santé du Québec". Thanks are expressed to Camil Simard, Robin Simard, Najet Ben Youssef, for their technical assistance.

ABSTRACT

The objective of this study is to demonstrate if there is an influence of apoE polymorphism on the relationships between smoking and blood lipids and lipoproteins (cholesterol, LDL-C, HDL-C, triglyceride). The analyses were performed on 114 men and 142 women of Lac-Saint-Jean, Chibougamau, and Chapais from the northeastern region of the province of Quebec, Canada. Blood lipid values have been adjusted for age, WHR, BMI and physical activity, in men and women. The data have also been adjusted in women for hormonal medication. To assess if there is genotype-environment interaction, we have used the X^2 test. The results have suggested that there is no genotype-environment interaction. No evidence of genotype-environment interaction was found indicating that the effects of smoking on blood lipids are not altered by genetic variation at the apo E locus.

INTRODUCTION

Several studies have shown that interindividual differences in blood lipids and lipoproteins were partly attributable to genetic factors. A review of these studies by Sing and al. (1) revealed that about 50% to 60% of the variation in total cholesterol could be attributable to polygenes. Among the genes responsible for this polygenic effect, apolipoprotein genes have been extensively studied because of their role in lipid metabolism (2-3). For example, the apolipoprotein E (apo E) gene was found to account for 7% of plasma cholesterol variance, and there is extensive evidence from several population studies, that levels of blood lipids and lipoproteins are influenced by genetic variation at the apo E locus (4).

Besides this polygenic effect, there is growing evidence that genotype-environment interaction could also influence variation in blood lipids and lipoproteins, which means that the response of these phenotypes to environmental factors could be different from an individual to another because of genetic differences. For example, results of overfeeding experiments performed on monozygotic twins have shown that the response of blood lipids and lipoproteins to overfeeding tended to be more similar within pairs than between pairs suggesting that changes in blood lipids in response to diet is genotype dependent (5). The use of the measured genotype approach was found to be useful to identify some of the genes involved in this genotype-diet interaction effect. Genetic variation at some apolipoprotein gene loci, including apo E, has been shown to influence the response of blood lipids and lipoproteins to diet (6-7).

Another example of genotype-environment interaction is provided by the results of Kaprio et al. (8) showing that the effect of smoking on plasma apo AII levels is

influenced by variation in the gene coding for apo H, an apolipoprotein found in the major lipoprotein particles. In that particular study the authors found that genotype-environment interaction is probably an important component of the variation observed in blood lipids and lipoproteins.

Smoking has been identified as one factor of the environment that could influence blood lipids and lipoproteins. In many studies, HDL-C levels were found to be higher in non-smokers than smokers (9-12).

The objective of this study is to test for the presence of genotype-environment interaction by determining whether the effects of cigarette smoking on blood lipids and lipoproteins are mediated by variation at the apo E locus in a French-Canadian population from Lac-Saint-Jean, Chibougamau, and Chapais, an area located in the northeastern region of province of Quebec, Canada.

METHODS

Study sample

A sample of 525 individuals of Lac-Saint-Jean, Chibougamau and Chapais from the northeastern region of the province of Quebec, were randomly selected from the health insurance registry lists, under the supervision of the 'Bureau de la Statistique du Québec', to participate to the Quebec Heart Health Survey, a cardiovascular health survey undertaken between september and december 1990. A detailed description of this survey is given elsewhere (13). Individuals with diabetes, chronic hepatic and thyroid disorders, pregnant women, individuals taking antihyperlipidemic drugs, and individuals who were not of French Canadian descent,, were excluded (n=90). From this sample, a total of 435 unrelated (randomly sampled) individuals, including 233 men and 202 women, were retained for the analyses.

Data collection

Under the supervision of the Community Health department of Roberval, nurses from four local centers of Health Services (Grand-Bois, Prés-Bleus, Des Chutes, Le Norois) conducted home interviews to obtain information on lifestyle data (smoking, exercise, medication, alcohol), and health status. After an overnight fast, blood samples were collected at the clinic.

ANTHROPOMETRIC MEASURES

Each individual was weighted with a weigh-scale and height was measured in standing position. The body mass index (BMI) was calculated from weight and height data as

(weight (kg)/height (m²)). The waist circumference was measured at mid-way between the ribs and the iliac crest, and the hip circumference was taken at level of the taller protuberance of the hip. These circumference (in cm) were used to calculate the waist to hip ratio (WHR), an index of fat distribution.

LIPID LEVELS ANALYSES AND APO E PHENOTYPE DETERMINATION

Blood samples were collected from the antecubital vein into three 7 ml vacutainer tubes, containing anticoagulant. All tubes were kept at 4°C until centrifugation for thirty minutes at 2 000 rpm. Plasma was collected and frozen at -40° C until determination.

Frozen samples were sent to the Lipid Research Laboratory of the St-Michaels Hospital, University of Toronto, for blood lipids and lipoproteins (cholesterol, HDL-C, LDL-C, triglycerides) determination . Total cholesterol and triglycerides levels were determined by enzymatic methods using the Technicon RA1000 analyser (14). Enzymatic methods were also used to determine HDL-C as described elsewhere (15) and LDL-C levels were calculated from the Friedewald formula (16).

ApoE phenotype determinations were done according to the procedures described by Mailly et al. (17). Determination were performed on total plasma by analytical isoelectric focusing with immobilized pH gradients (17), and phenotypes were read by two independent observers.

STATISTICS ANALYSES

Analyses were performed separately in men and women Within each gender, subjects were classified according to their smoking status (smokers or non-smokers), and their apo E phenotype. Because of the rarity of some apo E phenotypes, these groups

were formed: the E2 group (E2/E2 and E3/E2 phenotype), the E3 group (E3/E3 phenotype), and E4 group (E4/E4, E4/E3 and E4/E2 phenotype). The individual with the E4/E2 phenotype were excluded from the analyses.

Ex-smokers are known to have altered lipid levels compared to non-smokers (18-19). Comparison of subjects according to their smoking status (t-test) revealed significant differences between ex-smokers and non-smokers and smokers for cholesterol and LDL-C levels in men, and triglycerides and HDL-C levels in women. No information was available on the amount of time elapsed since the ex-smokers quit smoking. Therefore, 119 ex-smokers in men and 60 ex-smokers in women were excluded from the analyses. The analyses were conducted on a sample of 114 men and 142 women. From each gender, categories were formed according to smoking habits. In men, 69 smoked cigarettes and 45 did not. In women, 84 never smoked cigarettes and 58 were smokers.

Lipid values (cholesterol, HDL-C, LDL-C, triglycerides) were adjusted by regression analyses (20), for the linear and non-linear effects of age, BMI, WHR, physical activity. In women, these variables were further adjusted for hormonal medication and pre or post-menopausal condition. Except for triglycerides values that were transformed with the neperian logarithm to reduce skewness, all these adjustments were performed on untransformed data.

A two-way analysis of variance was used to determine the effects of smoking, apo E, and the interaction between apoE and smoking on adjusted blood lipids and lipoproteins. All these analyses were performed with the SPSS statistical analysis package (21).

RESULTS

Descriptive statistics of blood lipids and lipoproteins in smokers and non-smokers by apo E groups are presented in table 1 and 2 for men and women respectively. Smoking status revealed significant differences between smokers and non-smokers for the HDL-C levels, in both men and women, while there was difference for triglyceride in women only. The HDL-C levels were higher in non-smokers than in smokers in both genders. However, the female non-smokers had lower triglyceride levels than the female smokers. We also observed that the apo E polymorphism interferes on cholesterol and LDL-C levels in both gender. The cholesterol and LDL-C levels were higher in apo E4 group for non-smokers and lower in apo E2 group. In smokers, the apo E3 group demonstrated lower cholesterol and LDL-C levels than apo E2 and E4 groups.

Insert table 1 and 2 about here

Tables 1 and 2 also present the results concerning the genotype-smoking interaction, in men and women respectively. It was suggested that the effects of smoking on the cholesterol, LDL-C, HDL-C and triglyceride levels, are not altered by the polymorphism of apo E, in both genders.

DISCUSSION

As observed in previous studies (9-12), we found, in both genders, higher levels of HDL-C levels in non-smokers than in smokers. However, few studies have explained the process by which smoking alters HDL-C levels. Berg et al. (22) have suggested that smoking has an impact by reducing HDL apolipoproteins and, therefore, reducing HDL-C levels, while Hagarty et al. (23) have demonstrated that smoking alters the phospholipids on the HDL lipoprotein surface. Since epidemiologic investigations have established that reduced HDL-C levels is associated with an increased risk of CHD (24-25), the lower HDL-C levels found in smokers may partly explain the role of smoking as a risk factor of CHD.

The results have indicated that in women, smoking is associated with increased triglyceride levels. Willet et al. (26) and Phillips et al. (27) have also found increased triglyceride levels in women smokers. A proposed mechanism could be explain how the nicotin may elevate the triglyceride concentration. The secretion of catecholamines (epinephrine, norepinephrine) was stimulated by the nicotine absorption (28). This enhanced catecholamines secretion activate the adenylyl cyclase of adipose tissue, allowing an increase of free fatty acids into the plasma by lipolysis of stored triglyceride (29). Kohout et al. have demonstrated that released free fatty acids are transported to the liver, then increases plasma VLDL and triglyceride levels (30).

The results have also indicated that the effects of smoking on cholesterol, LDL-C HDL-C and triglyceride levels, both in men and women, were not altered by the apo E polymorphism. Despite the fact that the results have suggested the absence of gene X

smoking interaction on lipid variables, we have observed that the apoE polymorphism has an influence on cholesterol and LDL-C level in both genders.

Recent studies have indicated that apoE polymorphism has a definite action on cholesterol and LDL-C levels but doesn't have a very important influence on triglyceride and HDL-C levels (31-34). On the other hand, many studies have indicated that smoking has an effect on HDL-C levels (9-12).

Kaprio et al. (8), have demonstrated that the effects of smoking on apo A11 levels were influenced by the gene coding for apolipoprotein H. In doing so, they provided an example of gene X smoking interaction and showed that effects of smoking on apolipoproteins might be genotype dependent. Apolipoprotein A11 has an important role in the reverse transport of cholesterol (8) and is associated with high density lipoprotein(HDL). On the other hand, Reilly et al. (35) provided evidence of apo E genotype X gender interaction on apo A11 and apo C111 levels in men, and on cholesterol in women. However, as found in the present study, they observed (35) that the effects of smoking on cholesterol, HDL-C and triglyceride levels in men, and HDL-C and triglyceride levels in women, were not influenced by the apo E polymorphism.

In summary, the results of the present study have indicated that HDL-C levels were higher in non-smokers than smokers, both in men and women. In females, we have shown that triglyceride levels were lower in non-smokers than in smokers. In both genders, total cholesterol and LDL-C levels were shown to be influenced by the apo E polymorphism. On the other hand, the effects of smoking on total cholesterol, LDL-C, HDL-C and triglycerides were found to be independent of apo E polymorphism, suggesting the absence of apo E genotype X smoking interaction involving these lipid variables.

ACKNOWLEDGEMENTS

Acknowledgements are addressed to the "Fonds pour la formation de Chercheurs et l'aide à la recherche (FCAR)", to the "Ministère de l'enseignement supérieur et de la science", to the "Université du Québec à Chicoutimi (UQAC)", for support, to representatives of the Community Health department of Roberval for data collection, to Camil Simard of the department of computer science of the 'Université du Québec à Chicoutimi', to Robin Simard from SOREP, and to Najet Ben Yoissef, for their technical help.

REFERENCES

1. Sing CF, Boerwinkle E, Moll PP, Templeton AR. Characterization of genes affecting quantitative traits in humans. In B.S. Weir, E.J. Eisen, M.M. Goodman, G. Namkoong (eds): Proceedings of the Second International Conference on Quantitative Genetics. Sunderland, Sinauer Associates Inc., 1988, pp 250-269.
2. Humpries SE. DNA polymorphism of the apolipoprotein genes - their use in the investigation of the genetic component of hyperlipidemia and atherosclerosis. *Atherosclerosis* 1988; 72: 89-108.
3. Fisher EA. Gene polymorphism and variability of human apolipoproteins. *Annu Rev Nutr* 1989; 9: 139-160.
4. Hallman DH, Boerwinkle E, Saha N, Sansholzer C, Menzel HJ, Csazar A, Utermann G. The apolipoprotein E polymorphism: a comparison of allele frequencies and effects in nine populations. *Am J Hum Genet* 1991; 11: 1100-1110.
5. Després JP, Poehlman ET, Tremblay A, Lupien JP, Moorjani S, Nadeau A, Périusse L, Bouchard C. Genotype influenced changed in serum HDL cholesterol after short term overfeeding in man: association with plasma insulin and triglyceride levels. *Metabolism* 1987; 36: 363-368.
6. Abbey, M. (1992) The influence of apolipoprotein polymorphism on the response to dietary fat and cholesterol. *Current opinion in Lipidology* 1992; 3: 12-16.
7. Manttari M, Koskinen P, Ehnholm C, Huttunen JK, Manninen V. Apolipoprotein E polymorphism influences the serum cholesterol response to dietary intervention. *Metabolism* 1991; 40: 217-221.
8. Kaprio J, Ferrel RE, Kottke BM, Sing CF. Smoking and reverse cholesterol transport: evidence for gene environment interaction. *Clinical genetics* 1989; 36: 266-268.

9. Garrison RJ, Kannel WB, Feinleib F, Castelli WP, McNamara PM, Padgett SJ. Cigarette smoking and HDL cholesterol. The Framingham Offspring Study. *Atherosclerosis* 1978; 30: 17-25.
10. Criqui MH, Wallace RB, Heiss G, Niskel M, Schonfeld G, Jones GTL. Cigarette smoking and plasma high density lipoprotein cholesterol: The Lipid Research Clinics Program Prevalence Study. *Circulation* 1980; 62 (IV) 70-76.
11. Williams A, Robinson D, Baily A. High density lipoprotein and coronary risk factors in normal men. *Lancet* 1979; 1: 72-75.
12. Lupien PJ, Moorjani S, Jobin J, Dagenais GR, Fleury LA, Robitaille NM, Rochon J. Smoking, alcohol consumption, lipid and lipoprotein levels. *Can J Cardiol* 1988; 4: 102-107.
13. Mc Lean DR, Petrasovits A, Nargundkar M, Connely PW, McLeod E, Edwards A, Hessel P. Canadian heart health surveys: a profile of cardiovascular risk. Survey and data analysis. *Can Med Assoc J* (Suppl 1), 1992; 3-8.
14. Dept. Health, Education and Welfare. Lipid and lipoprotein analysis: Manual of Laboratory Operation, Lipid Research Clinics Program, Publication No. (NIH) 75-628. Dept. Health, Education and Welfare, Washington, D.C. 1974; 1-81.
15. Bachorik PS, Walker RE, Virgil DG. High-density-lipoprotein cholesterol in heparin-MnCl₂ supernates determined with the Dow enzymatic method after precipitation of Mn²⁺ with HCO₃⁻. *Clin Chem* 1984; 30: 839-842.
16. Friedewald WT, Levy RI, Fredrickson DS. Estimation of plasma low density lipoprotein cholesterol concentration without use of the preparative ultracentrifuge. *Clin Chem* 1972; 18: 499-502.
17. Mailly F, Davignon J, Nestruck AC. Analytic isoelectric focusing with immobilized pH gradients of human apolipoprotein E from very low density lipoproteins and total plasma. *J Lipid Res* 1990; 31: 149-155.

18. Goldbourt U, Medalis JH. Characteristics of smokers, non smokers and ex-smokers among 10 000 adult males in Israel. *Am J of epidemiol* 1977; 105: 75-86.
19. Jenkins CD, Roseman RH, Zyzanski SJ. Cigarette smoking. Its relationship to coronary heart disease and related risk factors in the Western collaborative group study. *Circulation* 1968; 38: 1140-1155.
20. Scherrer B. *Biostatistique*. Gaëtan Morin éditeur ltée, Québec, 1984, 850 p.
21. SPSS-X User's guide 3 RD. SPSS inc., 1988, 1072 p.
22. Berg K, Borrenson A, Dahlen G. Effects of smoking on serum levels of HDL lipoproteins. *Atherosclerosis* 1979; 34: 339-343.
23. Hagarty KM, Turgess LE, Mullegan JJ, Cluette JE, Kew RR, Stack DJ et al. Effect of cigarette smoking on high density lipoprotein phospholipids. *Biochem Res Commun* 1982; 104: 212-219.
24. Golbourt U, Medalie JH. High density lipoprotein cholesterol and incidence of coronary heart disease. The Israeli Ischemic Heart Disease Study. *Am J Epidemiol* 1977; 75: 105.
25. Gordon T, Castelli WP, Hjortland MC, Kannel WB, Dawber TR. High density lipoprotein as a protective factor against coronary heart disease. *Am J Med* 1977; 62: 707-714.
26. Willet W, Hennekens CH, Castelli W, Rosner B, Evans D, Taylor J, Kass EH. Effects of cigarette smoking on fasting triglycerides, total cholesterol, and HDL-cholesterol in women. *Am Heart J* 1983; 105: 417-421.
27. Phillips WR, Havel RJ, Kane JP. Levels and interrelationships of serum and lipoprotein cholesterol and triglycerides. Association with adiposity and the consumption of ethanol, tobacco, and beverages containing caffeine. *Arteriosclerosis* 1981; 1: 13-24.

28. Cryer PE, Haymond MW, Santiago JV, Shag SO. Norepinephrine and epinephrine release and adrenergic mediation of smoking associated hemodynamic and metabolic events. *N Eng J Med* 1976; 295: 573-577.
29. Aceto MD, Martin BR. Central actions of nicotine. *Med Res Rev* 1982; 2: 43-62.
30. Kohout M, Kohoutova B, Heimberg M. The regulation of hepatic triglycerides metabolism by free fatty acids. *J Biol Chem* 1971; 246: 5067-5074.
31. Hanis CL, Hewett-Emmett D, Douglas TC, Bertin TK, Schull WJ. Effects of the apolipoprotein E polymorphism on levels of lipids, lipoproteins, and apolipoproteins among Mexican-Americans in Starr Country, Texas. *Arteriosclerosis and Thrombosis* 1991; 11: 362-370.
32. Xhignesse M, Lussier-Cacan S, Sing CF, Kessling AM, Davignon J. Influences of common variants of apolipoprotein E on measures of lipid metabolism in a sample selected for health. *Arteriosclerosis and Thrombosis* 1991; 11: 1100-1110.
33. Havekes LM, de Knijff P, Smith M, Frants RR. The effect of apolipoprotein E allele substitution on plasma lipid and apolipoprotein levels. *Eicosanoids apolipoprotein* 1988; 87-93.
34. Kondo I, Berg K, Drayna D, Lawn R. DNA polymorphism at the locus for human cholesteryl ester transfer protein (CETP) is associated with high density lipoprotein cholesterol and apolipoprotein levels. *Clin Genet* 1989; 35: 49-56.
35. Reilly SL, Ferrel RE, Kottke BA, Sing CF. The gender specific apolipoprotein genotype influence on the distribution of plasma lipids and apolipoproteins in the population of Rochester, Minnesota. II Regression relationship with concomitants. *AM J Hum Genet* 1992; 51: 1311-1324.

Tableau 1

Interaction of smoking with apoE phenotypes on
cholesterol, LDL-C, HDL-C, triglyceride levels
in men from Lac-Saint-Jean, Chibougamau, Chapais.

Apo E group	Cholesterol	LDL-CHOL	HDL-CHOL	Triglyceride
Apo E2				
Smokers (n=15)	5,41	3,48	1,10	1,60
Non smokers (n=8)	4,79	2,72	1,37	1,42
Apo E3				
Smokers (n=32)	5,09	3,15	1,22	1,37
Non smokers (n=26)	4,93	3,03	1,27	1,20
Apo E4				
Smokers (n=18)	5,41	3,48	1,10	1,60
Non smokers (n=11)	5,48	3,42	1,20	1,67
Smoking effect (F ratio)	0,43	0,92	3,94*	0,61
Apo E effect (F ratio)	3,48*	4,33*	1,62	2,54
Smoking X Apo E interaction (F ratio)	0,22	0,11	0,81	0,40

* $p \leq 0,05$

Tableau 2

Interaction of smoking with apoE phenotypes on cholesterol, LDL-C, HDL-C, triglyceride levels in women from Lac-Saint-Jean, Chibougamau, Chapais.

Apo E group	Cholesterol	LDL-CHOL	HDL-CHOL	Triglyceride
Apo E2				
Smokers (n=11)	4,65	2,59	1,35	1,40
Non smokers (n=32)	4,80	2,69	1,43	1,27
Apo E3				
Smokers (n=37)	5,23	3,27	1,32	1,32
Non smokers (n=36)	5,26	3,25	1,45	1,14
Apo E4				
Smokers (n=10)	5,39	3,18	1,47	1,32
Non smokers (n=16)	5,48	3,38	1,59	1,05
Smoking effect (F ratio)	0,56	0,31	6,07*	4,63*
Apo E effect (F ratio)	8,40*	11,01*	2,88	1,35
Smoking X Apo E interaction (F ratio)	0,07	0,23	0,06	0,16

* $p \leq 0,05$

CHAPITRE 5

CONCLUSION

Dans cette recherche, nous avons étudié l'influence du polymorphisme de l'apoE sur les relations entre certains facteurs de risque des maladies cardio-vasculaires, chez les hommes et les femmes d'une population Caucasienne du Lac-Saint-Jean, Chibougamau et Chapais. Les résultats obtenus ont révélé qu'au sein de cette population :

1-Le polymorphisme de l'apoE n'influençait pas les relations existant entre le profil lipidique (cholestérol, LDL-C, HDL-C, triglycérides) et l'indice de masse corporelle (BMI), chez les deux sexes.

2-Le polymorphisme de l'apoE n'influençait pas les associations entre les niveaux lipidiques (cholestérol, LDL-C, HDL-C, triglycérides) et la distribution de la graisse corporelle, mesurée par le ratio taille/hanches (WHR), chez les deux sexes.

3-Le polymorphisme de l'apoE modulait les corrélations entre le cholestérol et le HDL-C, entre le cholestérol et les triglycérides, entre le LDL-C et le HDL-C, entre le LDL-C et les triglycérides, chez l'homme mais non chez la femme. Les individus de la classe génotypique E2 (E2/E2, E3/E2) présentaient les corrélations les plus élevées comparativement aux individus des classes génotypiques E3 (E3/E3), et E4 (E4/E4, E4/E3).

4. Les effets de la cigarette sur les niveaux de cholestérol, LDL-C, HDL-C et les triglycérides, autant chez l'homme que chez la femme, n'étaient pas influencés par le polymorphisme de l'apoE. Cela suggère qu'il n'y a pas d'interaction génotype-

environnement (génotype-tabagisme), dans le cas du gène codant pour l'apolipoprotéine E.

En conclusion, les relations entre les différents facteurs de risque de maladies cardio-vasculaires semblent peu affectées par le polymorphisme de l'apoE au sein de la population étudiée. Cela suggère que peu importe si les individus portent l'allèle ϵ_2 , ϵ_3 , ϵ_4 , les relations entre les niveaux lipidiques et le BMI, ainsi que le WHR, ne sont pas altérées. Par contre, elles le deviennent chez l'homme en ce qui concerne la covariation entre les lipides et les lipoprotéines; les individus porteurs de l'allèle ϵ_2 , ont des associations plus importantes et significatives, comparativement à ceux porteurs de l'allèle ϵ_3 ou ϵ_4 . Par ailleurs, il a été aussi démontré qu'indépendamment du génotype des individus au locus de l'apo E, les effets de la cigarette sur les niveaux lipidiques demeurent les mêmes.

REFERENCES
(hors manuscrits)

- Anderson AJ, Sobocinski KA., Freedman DS, Barboriak JJ, Rimm AA, Gruchow HW. (1988) Body fat distribution, plasma lipids, and lipoproteins. *Arteriosclerosis* 8: 88-94.
- Berg K, Borrenson A, Dahlen G. (1979) Effects of smoking on serum levels of HDL lipoproteins. *Atherosclerosis* 34: 339-343.
- Boerwinkle E, Visvikis S, Welsh D, Steinmetz J, Hanash SM, Sing CF. (1987) The use of measured genotype information in the analysis of quantitative phenotypes in man. 11. The role of the apolipoprotein E polymorphism in determining levels, variability, and covariability of cholesterol, betalipoprotein, and triglycerides in a sample of unrelated individuals. *Am J Hum Genet* 27: 567-582.
- Boerwinkle E, Sing CF. (1987) The use of measured genotype information in the analysis of quantitative phenotypes in man. 111. Simultaneous estimation of the frequencies and effects of the polymorphism and residual polygenic effects on cholesterol, betalipoprotein and triglycerides levels. *Ann Human Genet* 51: 211-226.
- Bouchard C, Pérusse L, Leblanc C, Tremblay A, Thériault G. (1988) Inheritance of the amount and distribution of human body fat. *Int J Obes* 12: 205-215.
- Bouchard G, De Brakeeler M. 1991. Mouvements migratoires, effets fondateurs et homogénéisation génétique. Dans: *Histoire d'un génome. Population et génétique dans l'est du Québec*. Presses de l'Université du Québec, Québec. 607p.
- Cloninger CR, Rice J, Reich T. (1979) Multifactoriel inheritance with cultural transmission and assortive mating. 11. A general model of combined polygenic and cultural inheritance. *Am J Hum Genet* 110: 335-342.

- Criqui MH, Wallace RB, Heiss G, Niskel M, Schonfeld G, Jones GTL. (1980) Cigarette smoking and plasma high density lipoprotein cholesterol: The Lipid Research Clinics Program Prevalence Study. *Circulation* 62 (IV) 70-76.
- Davignon J, Gregg RE, Sing CF. (1988) Apolipoprotein E polymorphism and atherosclerosis. *Arteriosclerosis* 8: 1-21.
- Després, JP. (1991a) Lipoprotein metabolism in visceral obesity. *Int J Obes* 15: 45-52.
- Després, JP. (1991b) Obesity and lipid metabolism: relevance of body fat distribution. *Current opinion in Lipidology* 2: 5-15.
- Ducimetière P, Richard J, Cambien F. (1986) The pattern of subcutaneous fat distribution in middle aged men and the risk of coronary heart disease: the Paris prospective study. *Int J Obes* 10: 229-240.
- Evans DJ, Hoffman RG, Kalkhoff RK, Kissebah AH. (1984) Relationship of body fat topography to insulin sensitivity and metabolic profiles in premenopausal women. *Metabolism* 33: 68-75.
- Falconer DS. *Introduction à la génétique quantitative*. Paris, Masson et Cie, 1974, 284 pp.
- Fisher EA. (1989) Gene polymorphisms and variability of human apolipoproteins. *Annu Rev Nutr* 9: 139-160.
- Foster CJ, Weinsier RL, Birch R, Norris DJ, Bernstein RS, Wang J, Pierson RN, Vanitallis TB. (1987) Obesity and serum lipids: an evaluation of the relative contribution of body fat and fat distribution to lipid levels. *Int J Obesity* 11: 151-161.
- Freedman DS, Jacobsen SJ, Barboriak JJ, Sobocinski KA, Anderson AJ, Kissebah AH, Sasse EA, Gruchow HW. (1990) Body fat distribution and male/female differences in lipids and lipoproteins. *Circulation* 81:1498-1506.
- Galton DJ, Ferns AA. Candidate genes for atherosclerosis. In A.J. Lusis, S.R. Sparkes (eds): *Genetic factors in atherosclerosis: approaches and model systems*. Monogr Hum Genet. Basel, Karger, 1989, vol 12, pp 95-109.

- Garrison RJ, Kannel WB, Feinleib F, Castelli WP, McNamara PM, Padgett SJ. (1978) Cigarette smoking and HDL cholesterol. The Framingham Offspring Study. *Atherosclerosis* 30: 17-25.
- Gerdes LU, Klausen IC, Sihm I, Faergeman O. (1992) Apolipoprotein E polymorphism in a Danish population compared to findings in 45 other study populations around the world. *Clin Genet* 9: 155-167.
- Gueguen R, Visvikis S, Steinmetz J, Siest G, Boerwinkle E. (1989) An analysis of genotype effects and their interactions by using the apolipoprotein E polymorphism and longitudinal data. *Am J Hum Genet* 45: 793-802.
- Gordon T, Castelli WP, Hjostland MC, Kannel WB, Dawber TR. (1977) High density lipoprotein as a protective factor against coronary heart disease. *Am J Med* 62: 707-714.
- Golbourn U, Medalie JH. (1979) High density lipoprotein cholesterol and incidence of coronary heart disease. The Israeli Ischemic Heart Disease Study. *Am J Epidemiol* 109: 296-308.
- Haarbo J, Hassager C, Schlemmer A, Christiansen C. (1990) Influence of smoking, body fat distribution, and alcohol consumption on serum lipids, lipoproteins, and apolipoproteins in early postmenopausal women. *Atherosclerosis* 84: 239-244.
- Hallman DH, Boerwinkle E, Saha N, Sansholzer C, Menzel HJ, Csazar A, Utermann G. (1991) The apolipoprotein E polymorphism: a comparison of allele frequencies and effects in nine populations. *Am J Hum Genet* 49: 338-349.
- Handa K, Tanaka H, Shindo M, Kono S, Sasaki J, Arakawa K. (1990) Relationship of cigarette smoking to blood pressure and serum lipids. *Atherosclerosis* 84: 189-193.
- Hanis CL, Hewett-Emmett D, Douglas TC, Bertin TK, Schull WJ. (1991) Effects of the apolipoprotein E polymorphism on levels of lipids, lipoproteins, and apolipoproteins among Mexican-Americans in Starr County, Texas. *Arteriosclerosis and Thrombosis* 11: 362-370.

- Havekes LM, de Knijff P, Smith M, Frants RR. (1988) The effect of apolipoprotein E allele substitution on plasma lipid and apolipoprotein levels. *Eicosanoids apolipoprotein* 1988; 87-93.
- Hubert HB. (1986) The importance of obesity in the development of coronary risk factors and disease: the epidemiologic evidence. *Ann Rev Pub Health* 7: 493-502.
- Hubert HB., Feinleb M, McNamara PM, Castelli WP. (1983) Obesity as an independent risk factor for cardiovascular disease: a 26-year follow-up of participants in Framingham heart study. *Circulation* 67: 968-977.
- Humphries SE. (1988) DNA polymorphism of the apolipoprotein genes-their use in the investigation of the genetic component of hyperlipidemia and atherosclerosis. *Atherosclerosis* 72: 89-108.
- Kaprio J, Ferrel RE, Kottke BM, Sing CF. (1989) Smoking and reverse cholesterol transport: evidence for gene environment interaction. *Clinical genetics* 36: 266-268.
- Keys A, Fidanza F, Karvonen MJ, Kimura N, Taylor HL. (1972) Indices of relative weight and obesity. *J Chronic Dis* 25: 329-343.
- Lapidus L, Bengtsson D, Larsson B, Pennert K, Rybo E, Sjöström L. (1984) Distribution of adipose tissue and risk of cardio-vascular disease and death: A 12 year follow up of participants in the study of women in Gothenburg, Sweden. *Br Med J* 289: 1257-1261.
- Larsson B, Svärdsudd K, Welin L, Wilhelmsen L, Björntorp P, Tibblin G. (1984) Abdominal adipose tissue distribution, obesity, and risk of cardiovascular disease and death: 13 year follow up of participants in the study of men born in 1913. *Br Med J* 288: 1401-1404.
- Lupien Pj, Moorjani S, Jobin J, Dagenais GR, Fleury LA, Robitaille NM, Rochon J. (1988) Smoking, alcohol consumption, lipid and lipoprotein levels. *Can J Cardiol* 4: 102-107.

- Lusis AJ. (1988) Genetics factors affecting blood lipoproteins: the candidate gene approach. *J Lipid Research* 29: 397-429.
- Mahley RW, Innerarity TL. (1983) Lipoprotein receptors and cholesterol homeostasis. *Biochim Biophys Acta* 737: 197-222.
- Manttari M, Koskinen P, Ehnholm C, Huttunen JK, Manninen V. (1991) Apolipoprotein E polymorphism influences the serum cholesterol response to dietary intervention. *Metabolism* 40: 217-221.
- Mehrabian M, Lusis AJ. Genetics markers for studies of atherosclerosis and related risk factors. In A.J. Lusis, J.I. Rotter, R.S. Sparkes (eds): *Molecular genetics of coronary artery disease. Candidate genes and processes in atherosclerosis. Monogr Hum genetic*. Basel, Karger, 1992, vol 14, pp 363-418.
- Miettinen TA. (1991) Impact of ApoE phenotype on the regulation of cholesterol metabolism. *Annals of medicine* 23: 181-186.
- Olaisen B, Teisberg P, Gedde-Dahl T. (1982) The locus for apolipoprotein E is linked to the complement C111 locus on chromosome 19 in man. *Hum Genet* 62: 233-236.
- Pérusse L, Després JP, Tremblay A, Leblanc C, Talbot J, Allard C, Bouchard C. (1989) Genetic et environnemental determinants of serum lipids and lipoproteins in French Canadian families. *Arteriosclerosis* 9: 308-318.
- Pérusse L, Leblanc C, Tremblay A, Allard C, Thériault G, Landry F, Talbot J, Bouchard C. (1987) Familial aggregation in physical fitness, coronary heart disease risk factors, and pulmonary function measurements. *Prev med* 16: 607-615.
- Phillips WR, Havel RJ, Kane JP. (1981) Levels and interrelationships of serum and lipoprotein cholesterol and triglycerides. Association with adiposity and the consumption of ethanol, tobacco, and beverages containing caffeine. *Arteriosclerosis* 1: 13-24.

- Pouliot MC, Després JP, Moorjani S, Lupien PJ, Tremblay A, Bouchard C. (1990) Apolipoprotein E polymorphism alters the association between body fatness and plasma lipoproteins in women. *J Lipid Res* 31: 1023- 1029.
- Rall SC, Weisgraber KH, Mahley RW. (1982) Human apolipoprotein E: The complete amino acid sequence. *J Biol Chem* 257: 4171-4178.
- Rao DC, Morton NE, Gulbrandsen CL, Rhoads GC, Kagan A, Yee S. (1979) Cultural and biological determinants of lipoprotein concentrations. *Ann Hum Genet* 42: 467-477.
- Robitaille N, Cormier G, Couture R, Davignon J, Périusse L. (1993) Apolipoprotein E in a French-Canadian population of north-eastern Quebec. Pour publication ultérieure.
- Seidell JC, Bakx KC, Deurenberg P, van den Hoogen HJM, Hautvast JGA, Stijnen T. (1986) Overweight and chronic illness-a retrospective cohort study, with a follow-up of 6-17 years in men and women of initially 20-25 years of age. *J Chron Dis* 8: 585-593.
- Sing CF, Boerwinkle E, Moll PP, Templeton AR. Characterization of genes affecting quantitative traits in humans. In B.S. Weir, E. J. Eisen, M.M. Goodman, G. Namkoong (eds): *Proceedings of the Second International Conference on Quantitative Genetics*. Sunderland, Sinauer Associates Inc., 1988, pp 250-269.
- Sing CF, Davignon J. (1985) Role of the apolipoprotein E polymorphism in determining normal plasma lipid and lipoprotein variation. *Am J Hum Genet* 37: 268-285.
- Stern MP, Haffner SM. (1986) Body fat distribution and hyperinsulinemia as risk factors for diabetes and cardiovascular disease. *Arteriosclerosis* 6: 123-130.
- Terry RB, Wood Pd, Haskell WL, Stefanick ML, Krauss RM. (1989) Regional adiposity patterns in relation to lipids, lipoprotein cholesterol, and lipoprotein subfraction mass in men. *J Clin Endocrinol Metab* 68: 191-199.
- Tikkanen JM, Huttunen JK, Ehnholm C, Pietinen P. (1990) Apolipoprotein E4 homozygosity predisposes to serum cholesterol elevation during high fat diet. *Arteriosclerosis* 10: 285-288.

- Weisgraber KH, Rall SC Jr, Mahley RW. (1981) Human E apoprotein heterogeneity. Cysteine-arginine interchanges in the amino acid sequence of the apo-E isoforms. *J Biol Chem* 256: 9077-9083.
- Weisgraber KH, Innerarity TL, Mahley RW. (1982) Abnormal lipoprotein receptor-binding activity of the human E apolipoprotein due to cystein-arginine interchange at a single site. *J Biol Chem* 257: 2518-2521.
- Willet W, Hennekens CH, Castelli W, Rosner B, Evans D, Taylor J, Kass EH. (1983) Effects of cigarette smoking on fasting triglycerides, total cholesterol, and HDL-cholesterol in women. *Am Heart J* 105: 417-421.
- Williams A, Robinson D, Baily A. (1978) High density lipoprotein and coronary risk factors in normal men. *Lancet* 1: 72-75.
- Xhignesse M, Lussier-Cacan S, Sing CF, Kessling AM, Davignon J. (1991) Influences of common variants of apolipoprotein E on measures of lipid metabolism in a sample selected for health. *Arteriosclerosis and Thrombosis* 11: 1100-1110.
- Zannis V1, Breslow JL , Utermann G , Mahley RW, Weisgraber KH, Havel RJ, Golstein JL, Brown MS, Schonfeld G, Hazzard WR, Blum CB. (1982) Proposed nomenclature of apo E esoproteins, apo E genotypes and phenotypes. *J Lipid Res* 23: 911-914.