

ARTICLE ORIGINAL

Etude du polymorphisme insertion délétion (I/D) de l'enzyme de conversion de l'angiotensine chez les sujets à travail posté et risque de complications vasculaires

Study of Insertion Deletion (I /D) Polymorphism of the Angiotensin-Converting Enzyme in Patients with Shift Work, and Risk of Vascular Complications.

Houda Kalboussi¹, Kamilia Saidane²,
Touhami Mahjoub², Maher Maoua¹,
Faten Debbabi¹.

1-Service de médecine du travail et
pathologie professionnelle CHU Farhat
HACHED de SOUSSE- TUNISIE.
2- Service d'hématologie biologique
CHU Farhat HACHED de SOUSSE-
TUNISIE.

Résumé

Introduction : A notre époque le travail posté demeure toujours nécessaire pour le bon fonctionnement de la société. Certains travailleurs tolèrent le travail posté pendant de longues périodes, d'autres montrent des signes d'intolérance après quelques mois seulement de ce régime. Ces horaires irréguliers soumettent l'organisme à des changements importants au niveau des rythmes chronobiologiques. Parfois ils sont responsables des perturbations et de modifications du rythme de sécrétion de certaines hormones, tel qu'en particulier la régulation du système rénine angiotensine (SRA). Ce système fait intervenir plusieurs enzymes en particulier l'enzyme de conversion de l'angiotensine (ECA), qui a un rôle majeur dans la motricité et le remodelage tissulaire du système cardiovasculaire.

On s'intéresse alors dans ce travail à l'étude du polymorphisme du gène de l'ECA et son association aux complications cardiovasculaires chez une population à travail posté comparativement à une population ayant un travail non posté.

Matériels et Méthodes : Notre étude a été portée sur 149 travailleurs postés tunisiens et 250 non postés, l'étude du polymorphisme insertion/délétion a été faite sur l'ADN extraite sur un prélèvement sanguin des patients après leur consentement.

L'étude génétique du polymorphisme était faite après extraction de l'ADN par méthode Salting Out, l'amplification de l'ADN par PCR RFLP et l'analyse génotypique des produits PCR était faite par électrophorèse sur gel d'agarose à 3%.

Résultats : Nos résultats ont montré que l'allèle D est corrélé à la présence de complications vasculaires ($p=0,038$, $OR=2,07$) sans toutefois que cet allèle soit responsable d'augmentation de risque chez les sujets à travail posté. Notre travail a montré ainsi qu'à côté de la prévention classique des facteurs de risques de maladies cardiovasculaires, il est nécessaire de prendre en compte d'autres facteurs surtout environnementaux et génétiques, pour une meilleure adaptation au travail posté.

Mots-clés : travail posté, complications vasculaires, enzyme de conversion

Abstract

Shift work is still necessary for the proper functioning of society. Some workers tolerate shift work for long periods; others show signs of intolerance after a few months. These irregular schedules submit the organism to significant changes of chronobiological rhythms. Sometimes they are responsible for disturbances and changes in the rate of secretion of certain hormones, such as the regulation of the renin angiotensin system (RAS). This system involves several enzymes such as converting enzyme (ACE), which has a major role in motor functions and tissue remodeling of the cardiovascular system. In this work we studied the polymorphism of the ACE gene and its association with cardiovascular complications in a population exercising a shift work compared to a population performing a fixed schedule work. Our study was carried on 149 Tunisian shift workers and 250 non-shift workers, the study of insertion / deletion polymorphism was performed on DNA extracted from blood samples of patients after their consent. The study of Genetic polymorphism was carried out after Salting Out DNA extraction method, the amplification of DNA by PCR RFLP and PCR genotypic products analysis were made on 3% agarose gel. Our results showed that the D allele is correlated with the presence of vascular complications ($p = 0.038$, $OR = 2.07$). This allele wasn't responsible for increased risk in patients with shift work.

Our work shows that besides the prevention of classic risk factors for cardiovascular disease, it is necessary to consider other factors, especially environmental and genetic factors for better adaptation to shift work.

Keywords: Shift work, vascular complications, converting enzyme

INTRODUCTION

Le travail posté est une organisation du travail qui assure la permanence de la production, il se définit par des critères de continuité, de type de rotation, d'alternance des équipes et de rythme. Ces horaires irréguliers soumettent l'organisme à des changements importants au niveau des rythmes chronobiologiques [1,2]. Parfois ils sont responsables de perturbations et de modifications du rythme de sécrétion de certaines hormones, tel qu'en particulier la régulation du système rénine angiotensine (SRA).

Les enzymes du système rénine angiotensine ont un cycle nyctéméral, son pic de sécrétion se fait à huit heures du matin. Ce système est le principal régulateur du métabolisme hydro-électrolytique. Il est donc l'un des principaux complexes de régulation de la pression artérielle. Il joue un rôle majeur dans la vasomotricité et le remodelage tissulaire dans le système cardiovasculaire [3]. Le SRA apparaît comme un système circulant avec trois composantes : la rénine sécrétée par le rein, l'angiotensinogène par le foie et l'enzyme de conversion de l'angiotensine (ECA) par le poumon, permettant la synthèse d'angiotensine II, élément actif du système dont les effets sont médiés principalement par les récepteurs AT₁.

La sécrétion de l'ECA dépend de plusieurs facteurs environnementaux et génétiques. Le gène de l'ECA est polymorphe. Le polymorphisme insertion délétion (Ins / Del) du gène de l'ECA est le plus étudié et il semble être corrélé avec le taux de sécrétion de l'ECA [4].

Dans le présent travail, on s'est intéressé à l'étude du polymorphisme (Ins / Del) du gène de l'ECA et à la détermination des fréquences alléliques et génotypiques de ce polymorphisme chez un groupe représentatif de travailleurs postés Tunisiens pour évaluer le risque de complications vasculaires chez cette population.

POPULATION ET METHODES

Population

Il s'agit d'une étude analytique qui a intéressé l'ensemble des agents de la société nationale des chemins de fer tunisienne (SNCF) de la « Zone Est ». Cette population était composée de deux groupes selon l'organisation de leur travail, un groupe dit « posté » comprenant 149 agents (9 de sexe féminin et 140 de sexe masculin avec une moyenne d'âge de 42,95 ± 8,29 ans) et l'autre groupe dit « non posté » comprenant 250 agents (65 de sexe féminin et 185 de sexe masculin et un âge moyen de 47,33 ± 6,16 ans). Tous les patients inclus dans l'étude étaient informés et consentants.

Méthodes

Pour chaque sujet, un questionnaire a été réalisé à la recherche d'antécédents personnels et familiaux de pathologie cardiovasculaires, une étude biologique a été faite comprenant le dosage plasmatique de l'urée, la créatinine, la glycémie, le cholestérol et les triglycérides. Ces dosages sont faits sur Automate CDX600 Beckman Coulter

Analyse génotypique du marqueur étudié (polymorphisme Ins/Del du gène de l'ECA):

L'étude génétique du polymorphisme du gène ACE a été faite après extraction de l'ADN par la méthode Salting Out: Méthode de Muller, l'amplification de l'ADN d'un mélange de 20 µl de MgCl₂ 1,5mM, dNTP 0,2 mM, Amorce sens 0,4 mM, Amorce antisens 0,4 mM, Taq 1U, Tampon 1X, eau qsp pour 20µl par PCR RFLP en présence des amorces [5]:

1. Amorce (sens) : 5' CTGGAGACCACTCCCATCCTTCT 3'
2. Amorce (anti-sens): 5' GATGTGGCCATCACATTCGTCAGAT 3'

Sur un thermocycleur de type TECHNE, l'identification du polymorphisme s'est faite par électrophorèse du produit PCR sur gel d'agarose à 3%.

Le nombre et la taille des bandes obtenues sur le gel électrophorétique nous permettront de déterminer trois différents génotypes :

3. Les homozygotes Ins/ Ins sont présentés par une seule bande de taille 490 pb ;
4. Les homozygotes Del/Del sont présentés par une seule bande de taille 190 pb ;
5. Les hétérozygotes Del/Ins sont présentés par deux bandes de taille 490 pb et 190 pb. (Figure 1)

L'étude statistique a été faite par le logiciel SPSS v 17.0 (SPSS, Chicago, IL, USA). Les fréquences alléliques ont été calculées par NCSS-2000 (<http://www.sph.umich.edu/csg/abecasis/CaTS>)

Pour comparer les deux populations d'étude, nous avons utilisé le test de chi deux pour les paramètres qualitatifs et le test t student pour les paramètres quantitatifs avec un seuil de significativité de 5%

RESULTATS

Les caractéristiques cliniques et biochimiques de la population étudiée sont résumées au tableau I ; les deux populations sont comparables sauf pour le genre et les complications vasculaires. Les fréquences génotypiques de la mutation Ins/Del sont en équilibre panmixtique selon Hardy Weinberg chez les deux populations à travail posté et non postées Chi deux (X²) respectif de 2,99 et 2,96 et X² théorique = 3,84.

Les deux populations étudiées sont divisées chacune en deux sous-groupes : un groupe sans complications vasculaires et un groupe avec complications vasculaires.

L'étude et la comparaison des fréquences alléliques et génotypiques de ces quatre sous-groupes selon les modèles dominant, additif et récessif a montré que dans la population postée la différence est non significative dans la distribution génotypique alors que la différence est significative lors de la distribution alléliques avec une prédominance de l'allèle muté « Del » (p=0,038 ; OR =2,07, [IC 95%]= [1.03-4.15]) (Tableau II). Alors que pour la population à travail non postée la différence est significative que ce soit alléliques ou génotypique selon

le modèle additif (OR =5.31 ; p=0.025, [IC 95%] = [1.06-26.55]) et récessif (OR 2.93; p=0.038, [IC 95%]=[1.02-8.47]) (Tableau III).

Tableau I: Caractéristiques cliniques et biochimiques des sujets étudiés

	Postés	Non postés	P
	(N = 149)	(N = 250)	
Genre (Femme: homme (%))	9 (6,4) : 140 (93,96)	65 (26) : 185 (74)	<0,0001
Age (années)	42,95 ± 8,29	47,33 ± 6,16	0,518
IMC moyen (Kg/m ²)	26,9 ± 3,84	24,98 ± 3,74	0,676
Glycémie (mmol/l)	6,32 ± 3,99	5,42 ± 1,4	0,093
Urée (mmol/l)	4,77 ± 1,14	5,20 ± 3,19	0,844
Créatinine (µmol/l)	85,87 ± 10,23	72,25 ± 24,55	0,583
Triglycéride (mmol/l)	1,76 ± 1,18	1,31 ± 0,83	0,978
Cholestérol (mmol/l)	4,85 ± 1,01	4,69 ± 0,96	0,573
Présence de complications vasculaires (%)	16,77	6	0,0005

Tableau II: Distribution des fréquences alléliques et génotypiques du polymorphisme insertion délétion de l'ECA (I/D) chez les sujets postés, sans et avec complications, suivant les trois modèles de transmission génétique

Génotypes/ Allèles	Génotypes (%)			Allèles	
	II (1/1)	ID (1/2)	DD (2/2)	I	D
Populations					
posté (sans complications)	25 (20,17%)	48 (38,70%)	51 (41,13%)	0,40	0,60
posté (avec complications)	1 (4%)	10 (40%)	14 (56%)	0,24	0,76
P ¹	-	0,092	0,040	P = 0,038 OR [IC 95%] = 2,07 [1,03-4,15]	
OR ¹ [IC 95%]	1,00	5,21 [0,63-43,03]	6,86 [0,85-55,17]		
P ²	-	0,052			
OR ² [IC 95%]	1,00	6,06 [0,78-46,98]			
P ³	-		0,171		
OR ³ [IC 95%]	1,00		1,82 [0,77-4,33]		

1 modèle génétique additif : génotype 1/1 vs 1/2 ou 2/2

2 modèle génétique dominant : génotype 1/1 vs 1/2+2/2

3 modèle génétique récessif : génotype 1/1 + 1/2 vs 2/2

Tableau III : Distribution des fréquences alléliques et génotypiques du polymorphisme insertion délétion de l'ECA (I/D) chez les sujets non postés, sans et avec complications, suivant les trois modèles de transmission génétique

Génotypes/ Allèles	Génotypes (%)			Allèles	
	II (1/1)	ID (1/2)	DD (2/2)	I	D
Populations					
Non posté (sans complications)	82 (34,90%)	99 (42,12%)	54 (22,98%)	0,56	0,44
Non posté (avec complications)	2 (13,33%)	6 (40%)	7 (46,67%)	0,33	0,67
P ¹	-	0,258	0,025	P = 0,016 OR [IC 95%] = 2,54 [1,16-5,55]	
OR ¹ [IC 95%]	1,00	2,48 [0,49-12,64]	5,31 [1,06-26,55]		
P ²	-	0,086			
OR ² [IC 95%]	1,00	3,48 [0,77-15,81]			
P ³	-		0,038		
OR ³ [IC 95%]	1,00		2,93 [1,02-8,47]		

1 modèle génétique additif : génotype 1/1 vs 1/2 ou 2/2

2 modèle génétique dominant : génotype 1/1 vs 1/2+2/2

3 modèle génétique récessif : génotype 1/1 + 1/2 vs 2/2

La comparaison des deux sous-groupes avec complications vasculaires chez les postés et les non postés a montré l'absence de différence significative au niveau de la distribution allélique et génotypique du polymorphisme Ins/Del du gène de l'ECA (p=0,365) ; ce qui pourrait suggérer que l'augmentation de la fréquence de complications vasculaires chez les postés est indépendante du polymorphisme Ins/Del (Tableau IV).

DISCUSSION

Depuis la révolution industrielle, le monde a connu une translation épidémiologique des maladies infectieuses aux maladies cardiovasculaires. Cette translation est due essentiellement à une modification du rythme et du mode de vie caractérisé par l'exposition continue aux stress. Le travail posté (ou travail « par postes »), est défini comme une organisation de travail dans laquelle plusieurs équipes se succèdent à un même poste par rotations successives [6]. Ces horaires irréguliers sont responsables de stress et de fatigue chronique. Ce mode de travail soumet l'organisme à des changements importants au niveau des rythmes chronobiologiques qui pourront avoir des conséquences parfois néfastes sur la santé du travailleur.

Tableau IV : Distribution des fréquences alléliques et génotypiques du polymorphisme insertion délétion de l'ECA (I/D) chez les sujets non postés et chez les sujets postés avec complications, suivant les trois modèles de transmission génétique

Génotypes/Allèles Populations	Génotypes (%)			Allèles	
	II (1/1)	ID (1/2)	DD (2/2)	I	D
Non posté (avec complications)	2 (13.33%)	6 (40%)	7 (46.67%)	0.33	0.67
posté (avec complications)	1 (4%)	10 (40%)	14 (56%)	0.24	0.76
P ¹	-	0.348	0.264	P = 0.365 OR [IC 95%] = 1.58 [0.58-4.30]	
OR ¹ [IC 95%]	1.00	3.33 [0.25-45.11]	4.00 [0.31-52.10]		
P ²	-	0.278			
OR ² [IC 95%]	1.00	3.69 [0.30-44.69]			
P ³	-	-	0.567		
OR ³ [IC 95%]	-	1.00	1.45 [0.40-5.26]		

¹modèle génétique additif : génotype 1/1 vs 1/2 ou 2/2

²modèle génétique dominant : génotype 1/1 vs 1/2+2/2

³modèle génétique récessif : génotype 1/1 + 1/2 vs 2/2

En fait, l'obligation de rester éveillé ou de dormir à des heures inhabituelles perturbe les rythmes circadiens de l'organisme et représente l'un des principaux facteurs de stress liés au travail posté.

En effet, il a été rapporté par plusieurs auteurs que le travail posté augmente le risque de pathologie dépressive et modifie le métabolisme des lipides ; favorisant ainsi l'augmentation du taux de cholestérol et des triglycérides, ce qui, à long terme, entraîne un risque accru de troubles cardiovasculaires (hypertension artérielle ...). Léger et al. ont montré que le risque de syndrome coronarien et surtout la cardiopathie ischémique augmente de 20 à 40% chez ces sujets (1). Selon des études Scandinaves, les travailleurs postés et ceux ayant des antécédents de travail posté sont plus prédisposés à la pathologie coronaire que les travailleurs du jour [7]. Notre étude a confirmé cette hypothèse. En effet la fréquence des complications vasculaires est plus élevée dans la population à travail posté que dans la population à travail non posté (16,77% vs 6% ; p = 0,0005).

Par ailleurs durant ces 20 dernières années, plusieurs travaux ont été entrepris pour identifier les facteurs de susceptibilité aux syndromes coronariens. Autre que le changement du rythme de travail, une composante génétique demeure controversée. Ainsi depuis quelques années, un intérêt particulier avait été accordé au polymorphisme du gène de l'ECA [8].

L'enzyme de conversion (ECA) joue un rôle essentiel dans deux systèmes physiologiques, l'un menant à la production d'angiotensine II (un puissant vasoconstricteur) et l'autre à la dégradation de la bradykinine. La grande distribution et les propriétés de ces peptides multifonctionnels suggèrent que l'ECA pourrait être impliquée

dans diverses situations physiopathologiques essentiellement cardiovasculaires [9]. Par ailleurs, l'enzyme de conversion existe sous deux formes tissulaire et plasmatique, dont la concentration est stable chez un même individu mais présente une grande variabilité interindividuelle pouvant être expliquée par l'origine génétique liée à ce polymorphisme [10]. L'étude du polymorphisme génétique de l'enzyme de conversion a donné lieu à des nouveaux travaux ; le polymorphisme (In/Del), dû à la présence ou l'absence d'une séquence répétitive dans l'intron 16, est associé à des variations de la concentration plasmatique de cette enzyme [11,12]. Ainsi, le génotype Del/Del est associé à une forte concentration d'ECA circulante. Alors que dans le cas des génotypes Ins/Ins et Ins/Del, la concentration d'ECA circulante, est respectivement faible et intermédiaire.

L'étude du polymorphisme (In/Del) du gène de l'ECA dans nos deux groupes d'étude a montré que l'allèle Del est corrélé à la présence de complications vasculaires (p=0,038, OR=2,07 ; p=0,016, OR=2,54). Les résultats de notre étude corroborent ceux de Mehri S et Baudin B, qui ont décrit que le génotype Del/Del est associé à plusieurs pathologies cardiaques, incluant l'hypertrophie ventriculaire gauche, l'infarctus de myocarde, la sténose après angioplastie, les cardiomyopathies ischémiques idiopathiques, l'hypertension artérielle, l'athérosclérose ainsi qu'à l'épaississement des vaisseaux sanguins et artérothrombose [4,13]. Néanmoins cet allèle ne modifie pas le risque chez les sujets à travail posté par rapport au travail non posté (p=0,365).

CONCLUSION

Le polymorphisme de l'ACE est un facteur de risque des maladies cardiovasculaires, toutefois le travail posté ne modifie pas ce risque.

Bibliographie

1. Léger D, Bayon V, Metlaine A, Prevot E, Didier-Marsac C, Choudat D. Biological clock, sleep and shift-work medical consequences. Ed Masson Paris, 2009 ; 70 (3): 246-252.
2. Barthe B, Quéinnec Y, Verdier F .L'analyse de l'activité de travail en postes de nuit : bilan de 25 ans de recherches et perspectives. Le travail humain .2004 ; 67 :41 - 61
3. Nguyen G, Delarue F, Burcklé C, Bouzahir L, Giller T, Sraer JD.. Pivotal role of renin/prorenin receptor in angiotensin II production and cellular responses to renin. J Clin Invest. 2002; 109 (11):1417-27.
4. Mehri S, Boussaada R, Mahjoub S, Guemira F, Vuillaumier-Barrot S, Mechmeche R et al. Le polymorphisme du gène de l'enzyme de conversion de l'angiotensine et le risque de l'infarctus du myocarde en Tunisie. Antropo.2005; 10: 75-81.
5. Prasad A, Narayanan S, Waclawiw MA, Epstein N, Quyyumi AA. The insertion/deletion polymorphism of angiotensin converting enzyme gene determines coronary vascular tone and nitric oxide activity.USA. 2000; 36: 1579-1586.
6. Catilina P. Médecine et risque au travail. 2^{ème} éd. Elsevier Masson, 2009.
7. Léger D, Dyèvre P. Médecine de travail: approches de la santé au travail. 3^{ème}éd. Elsevier Masson, 2003.
8. Sourbier F, Alhenc-Gelas F, Hubert C. Two putative active centers in humans angiotensin I-converting enzyme revealed by molecular cloning. Proc. Nath. Acad. Sci. USA 1988; 85: 9386-90.
9. Sayed T, Oostra BA, Isaac A, Van Duijn CM, Witteman JC. ACE polymorphisms.Circ Res.2006; 98(9):1123-33.
10. Cambien, F., Costerousse, O., Tiret, L., Poirier, O., Lecerf, L., Gonzales, M., F., Ecans, A., Arveiler, D., Cambon, J., P., Luc, et al. Plasma level and gene polymorphism of angiotensin-converting enzyme in relation to myocardial infarction. Circulation.1994; 90: 669-76.
11. Rigat B, Hubert C, Alhenc-Gelas F, Cambien F, Corvolet Soubrier F. An Insertion/Deletion polymorphism in the angiotensin I converting gene accounting for half the variance of serum enzyme levels. J Clin Invest. 1990; 86: 1343-6.
12. Toussaint J F, Jacob M P, Lagrost L, Chapman J. L'athérosclérose : physiopathologie, diagnostics, thérapeutiques. Elsevier Masson .2003 : 84-85.
13. Baudin B. l'enzyme de conversion de l'angiotensine I (ECA) dans le diagnostic de la sarcoidose.PatholBiol. 2005; 53: 183-188.