

## Genotype HFE, pollution atmosphérique et variabilité de la fréquence cardiaque - Interaction gène-environnement

### ***HFE genotype, particulate air pollution, and heart rate variability - A gene-environment interaction***

Park SK, O'Neill MS, Wright RO, Hu H, Vokonas PS, Sparrow D, Suh H, Schwartz J.

*Circulation*. 2006;114:2798-805.

Analyse commentée par

Sylvain Richard<sup>1</sup> et Chatrapatty Bhugwant<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Institut national de la santé et de la recherche médicale (Inserm) U637, Montpellier

<sup>2</sup> Observatoire réunionnais de l'air, Sainte-Clotilde, La Réunion

PM<sub>2,5</sub>, en particulier le fer atmosphérique. L'étude a été conduite à Boston (USA), de novembre 2000 à décembre 2004, sur un échantillon de 518 individus représentant une population de personnes âgées, exposées à l'air ambiant de Boston et suspectées de présenter des différences d'origine génétique vis-à-vis de l'absorption du fer atmosphérique. D'autres polluants (ozone, sulfates, carbone suie) ont également été évalués.

### ■ Contexte

De nombreuses études épidémiologiques établissent un lien causal entre pollution atmosphérique, admissions hospitalières et mortalité d'origine cardio-pulmonaire. La pollution atmosphérique, notamment les fines particules en suspension dans l'air (PM<sub>2,5</sub> : particules de taille inférieure ou égale à 2,5 µm), peut en effet altérer la fonction cardio-vasculaire. Elle cible tout particulièrement les populations fragilisées : personnes âgées, diabétiques, cardiaques... Les métaux de transition, comme le fer, semblent impliqués. L'équipe, qui a réalisé l'étude présentée ici, avait déjà établi l'existence d'une association significative entre PM<sub>2,5</sub> et diminution de la variabilité de la fréquence cardiaque (VFC) utilisée comme indicateur d'une fonction cardiaque globale altérée. Dans cet article, l'objectif était d'évaluer, à partir de modèles de régression linéaire adaptés permettant d'exclure des facteurs confondants, la participation d'une susceptibilité d'origine génétique aux effets cardiaques de constituants des

### ■ Résumé de l'étude

#### Objectifs

Les PM<sub>2,5</sub> présentes dans l'air ambiant sont un mélange complexe de constituants, qui comportent généralement des métaux de transition, des sulfates, des nitrates ou encore du carbone suie, dont certains sont connus pour leur toxicité. Parmi les différents métaux de transition, le fer est significativement présent, sous forme de dépôt sur les particules atmosphériques. Dans les conditions physiologiques normales, le fer est lié à une protéine du sang, la transferrine, qui le conserve à l'état soluble, mais compartimenté et non toxique en l'empêchant de participer aux réactions d'oxydoréduction, et le transporte vers les organes. Lorsqu'il est présent en excès, le fer libre peut réagir avec l'oxygène pour produire de l'oxygène fortement réactif, tel que le radical hydroxyle, par la réaction dite de Fenton. Parmi les pathologies liées à un excès de fer dans l'organisme, on trouve une maladie héréditaire fréquente (une personne sur 300 en Europe)

qui se transmet selon le mode autosomique récessif : l'hémochromatose. Cette maladie est caractérisée par une suractivation de l'absorption intestinale du fer alimentaire qui s'accumule ainsi progressivement au niveau de différents tissus comme le foie, le pancréas et le cœur, en y provoquant des lésions quelquefois graves.

La stratégie expérimentale de Park *et al.* s'appuie sur un gène, HFE, à forte probabilité de mutation et impliqué dans l'hémochromatose. Le gène HFE est localisé sur le bras court du chromosome 6 (locus en 6p21,3). Le produit protéique du gène HFE régule le captage du fer, d'origine alimentaire entre autre, au niveau des entérocytes de l'intestin. 5 à 10 % de la population possède une forme mutée du gène HFE. Mais les individus hétérozygotes (ne présentant qu'un seul gène anormal (provenant soit du père, soit de la mère) ne développent pas de surcharge en fer importante. Le gène HFE peut exprimer plusieurs formes mutées de la protéine HFE. L'étude de Park *et al.* s'est intéressée à deux mutations spécifiques, très bien caractérisées, du gène HFE : 1) la mutation C282Y (cystine remplacée par une tyrosine en position 282) ; 2) la mutation H63D (histidine remplacée par un acide aspartique en position 63). Ces mutations peuvent entraîner une inactivation de la fonction de la protéine HFE qui n'est plus exprimée à la surface des cellules. Il en résulte une augmentation du transport du fer dans les cellules et, en conséquence, une hyperabsorption intestinale persistante de métal. La forme la plus sévère concerne la mutation C282Y pour laquelle la présence d'homozygotes est associée à 85 % avec l'hémochromatose. Ce génotype C282Y homozygote est largement majoritaire. Les autres génotypes (C282Y hétérozygote, H63D homozygote ou hétérozygote) peuvent aussi induire l'hémochromatose, mais avec une surcharge en fer plus modérée. Ici, l'hypothèse de travail de Park *et al.* était que les deux polymorphismes de HFE (C282Y et H63D), de par leur effet sur le métabolisme du fer, pourraient influencer l'effet des microparticules PM<sub>2,5</sub>, riches en fer, sur le myocarde. Les auteurs se sont également intéressés à d'autres polluants atmosphériques comme l'ozone, les sulfates, et le carbone suie.

## Matériels et méthodes

### Population étudiée

La recherche d'une relation possible entre PM<sub>2,5</sub> et variabilité de la fréquence cardiaque (VFC) a été effectuée sur un total de 1 073 sujets soumis à prélèvement sanguin permettant un génotypage pour les mutations C282Y et H63D du gène HFE. Entre novembre 2000 et décembre 2004, 671 de ces personnes ont été évaluées sur le plan électrophysiologique pour une étude de leur VFC. Sur ces 671 personnes, 115 ont été exclues de l'étude, pour cause de données inexploitable, et 38 pour génotypage non concluant. Au total, 518 participants, génotypés et analysés sur le plan de la variabilité de leur fréquence cardiaque (VFC), ont été inclus dans l'étude. Les différents

groupes déterminés étaient tout à fait homogènes en termes de sexe (hommes), d'âge (73 ans), de bilan biologique et de traitement médicaux. Les sujets porteurs de mutation ont cependant présenté un taux de HDL-cholestérol inférieur à la population évaluée et une susceptibilité accrue à développer une cardiopathie ischémique.

### Mesures de variabilité de la fréquence cardiaque (VFC)

Pour évaluer leur hypothèse (influence de facteurs génétiques sur les risques cardiaques liés à la pollution), les auteurs ont utilisé un indicateur de l'état physiopathologique du cœur : la VFC. L'analyse de la VFC est une méthode non invasive. Les variations sont calculées et analysées en mesurant une série d'intervalles entre deux battements lors d'enregistrements de l'activité électrique du myocarde (électrocardiogramme) réalisés en continu sur de longues périodes de temps (qui peut atteindre au moins 24 h par la technique du holter, par exemple). Cette mesure peut être utilisée comme indicateur du tonus sympathique et de la capacité du myocarde à répondre aux stimulations du système nerveux autonome. Elle sert d'indicateur de la fonction cardiaque globale. Notamment, une diminution de la VFC est associée à un risque élevé de problèmes cardiaques et à un taux accru de mortalité après un infarctus du myocarde.

Park *et al.* ont mesuré la VFC chez des sujets porteurs des mutations C282Y et H63D du gène HFE et chez des sujets avec un gène HFE normal. Dans leur étude, des électrocardiogrammes (ECG) ont été réalisés sur des sujets assis pendant une période de 7 minutes. L'analyse a porté sur 4 minutes d'enregistrement consécutives. Différents paramètres, tels que les basses fréquences (BF : 0,04 à 0,15 Hz) et les hautes fréquences (HF : 0,15 à 0,4 Hz), ainsi que le rapport de ces deux paramètres (BF/HF), ont aussi été pris en compte. Les hautes fréquences donnent une idée de l'activité du système parasympathique, alors que les basses fréquences évaluent l'activité du système sympathique.

Des tests moléculaires par PCR (multiplex Polymerase Chain Réaction) ont permis d'analyser le génotype de chacun des participants à l'étude.

### Relevés de la pollution de l'air et météorologiques

Les données concernant les concentrations atmosphériques des PM<sub>2,5</sub>, du carbone suie et des sulfates étaient mesurées sur une station de surveillance fixe située à 1 km du site d'étude, respectivement à l'aide d'un analyseur à microbalance (TEOM, modèle 1400A), un aéthalomètre (Magee Scientific) et un système d'échantillonnage (Harvard-EPA). La concentration d'ozone a également été relevée à partir d'un site de surveillance de l'État du Massachusetts, et les données météorologiques (température et humidité de l'air) ont été enregistrées

sur la station météorologique située à proximité de l'aéroport de Boston.

## Résultats

Plusieurs génotypes ont pu être identifiés au sein de la population étudiée. Pour la mutation C282Y : 85,3 % de sujets sans mutation, 14,1 % de sujets hétérozygotes et 0,6 % de sujets homozygotes (dont plus de 80 % sont susceptibles d'être affectés par l'hémochromatose). Pour la mutation H63D : 75,6 % de sujets sans mutation, 22,1 % de sujets hétérozygotes et 2,3 % de sujets homozygotes.

La concentration moyenne des PM<sub>2,5</sub> relevée pendant la période d'étude était 11,7 µg/m<sup>3</sup> (SD ± 7,8), avec une faible corrélation entre la température et le taux de PM<sub>2,5</sub>. Les concentrations des autres polluants (carbone suie, sulfate et ozone) sont relativement faibles, en comparaison avec les zones urbaines dans d'autres pays.

Tout d'abord, Park et collaborateurs confirment leur étude précédente : les concentrations des PM<sub>2,5</sub> présentes dans l'air sont associées à une diminution de la VFC dans la population évaluée. Une analyse plus poussée ici a révélé qu'une élévation de 10 µg/m<sup>3</sup> des PM<sub>2,5</sub> est associée à une réduction de 31,7 % de la composante HF de la VFC dans le groupe au génotype sauvage (homozygotes portant deux gènes non mutés), alors qu'aucune corrélation n'a pu être établie pour les groupes présentant une des deux versions polymorphiques du gène HFE. Chez les sujets porteurs d'un variant HFE, la VFC ne révèle aucun effet des PM<sub>2,5</sub> dans les deux cas (C282Y et H63D). Les personnes possédant une version mutée du gène HFE semblent apparemment mieux protégées d'éventuels risques cardiaques liés à la pollution par les fines particules atmosphériques. En ce qui concerne les autres polluants considérés, le carbone suie et les sulfates ont aussi une tendance à diminuer la VFC chez le groupe génotype sauvage, c'est-à-dire à diminuer la capacité du myocarde à répondre aux stimulations du système nerveux autonome, effets qui ne sont pas retrouvés chez les groupes porteurs de variants. Les auteurs remarquent cependant que ces effets sont peu significatifs. S'agissant de l'ozone, aucun effet de ce polluant n'apparaît sur les sujets porteur d'un gène HFE.

## Discussion et conclusions des auteurs

Park *et al.* suggèrent que le gène HFE influence la relation entre les PM<sub>2,5</sub> et la VFC. Contrairement à ce qui se passe pour le génotype HFE sauvage, les taux élevés de PM<sub>2,5</sub> ne semblent pas diminuer la VFC chez les sujets porteurs d'au moins une copie de l'un des deux variants HFE. A partir de ces corrélations, les auteurs proposent alors que les métaux de transition, en particulier le fer, liés aux PM<sub>2,5</sub> d'origine atmosphérique, jouent un rôle notable dans les dysfonctionnements cardiaques rapportés par les épidémiologistes.

Les mécanismes par lesquels les PM<sub>2,5</sub> diminuent la VFC ne sont pas encore bien établis à ce jour. Les auteurs suggèrent que les variants HFE réduiraient l'absorption immédiate des métaux toxiques, ce qui suppose que les gènes qui régulent l'absorption intestinale des métaux divalents régulent aussi l'absorption pulmonaire. Alternativement, une inflammation pulmonaire pourrait être impliquée. Une augmentation de l'absorption dans les poumons diminuerait la réponse inflammatoire locale liée à l'exposition prolongée. Des études ont montré que le défaut du gène HFE induit effectivement une augmentation d'un transporteur (transporter-1) de métaux divalents qui participerait à une détoxification du fer issu des PM<sub>2,5</sub>, ce qui pourrait diminuer la dysfonction du système nerveux autonome et, par conséquent, la diminution de la VFC.

Les auteurs suggèrent que, quels que soient les mécanismes responsables, l'ensemble des données analysées indique l'existence d'un polymorphisme génétique des voies de détoxification des particules et de production d'espèces réactives de l'oxygène. Paradoxalement, dans l'étude, il apparaît que la relation entre les PM<sub>2,5</sub> et la VFC ne dépend pas du nombre de variants HFE (1 ou 2) impliqués. Cependant, le nombre de sujets homozygotes pour chacune des deux mutations est trop faible pour en tirer une conclusion définitive.

Enfin, les auteurs estiment que leur étude présente plusieurs limites au niveau des interprétations. En particulier, ils mentionnent l'existence possible de facteurs confondants non pris en compte, dépendants du temps ou des interactions avec d'autres polymorphismes génétiques, ou encore des facteurs environnementaux sous-estimés qui pourraient poser problème.

## ■ Commentaires et conclusions des analystes

Les résultats présentés dans l'étude de Park *et al.* constituent une avancée intéressante des connaissances dans les domaines conjoints de la santé et de l'environnement. Ils ouvrent une perspective nouvelle sur le thème génétique-environnement. L'étude est assez convaincante, car bien supportée par les données expérimentales. Cependant, elle ne constitue clairement qu'une première approche qui doit être confortée par d'autres études similaires dans d'autres régions. Les mécanismes impliqués restent énigmatiques, y compris, semble-t-il, pour les auteurs. Les explications sont peu étayées, du fait de la méconnaissance des mécanismes d'absorption et d'accumulation tissulaire du fer et des mécanismes de détoxification. Les enseignements de l'étude restent donc purement observationnels et ne permettent pas d'interpréter correctement les mécanismes mis en jeu et leur implication pour la santé humaine. Sur le plan de la méthodologie, l'approche expérimentale utilisée pour évaluer les effets cardiaques est assez

limitée. Elle se cantonne à l'utilisation d'un ECG, sur une période de temps très courte, pour l'évaluation de la VFC. De plus, si la VFC représente un indice intéressant de la fonction cardiaque globale, ce paramètre est de moins en moins utilisé et il ne reflète que l'activité électrique cardiaque autonome. L'usage d'échocardiographie, bien que plus difficile à réaliser pour des raisons pratiques dans ce type d'étude longitudinale, aurait permis une évaluation morpho-fonctionnelle beaucoup plus précise de la fonction myocardique. Par ailleurs, il aurait été souhaitable d'effectuer des analyses plus fines à différentes saisons,

pour prendre en compte notamment la variabilité de la pollution atmosphérique. En effet, les concentrations des polluants sont fortement liées aux sources d'émission, mais aussi, en partie, à la variation des conditions météorologiques, notamment par des processus dynamiques et de transport.

En conclusion, cette étude dirigée par J. Schwartz, auteur de nombreux articles reliant pollution atmosphérique et problèmes de santé, donne un début de piste intéressante en mettant en évidence une relation possible entre polymorphisme génétique et risques cardiaques liés à la pollution atmosphérique par les PM<sub>2,5</sub> atmosphériques.