

## Les enzymes antioxydantes circulantes comme marqueurs d'effet chez les mineurs de charbon

M. Guenzi, P. Heintz, M. Zitter, P. Cervantes, Jean-Marc Porcher, Rachel Nadif, Guy Auburtin

► **To cite this version:**

M. Guenzi, P. Heintz, M. Zitter, P. Cervantes, Jean-Marc Porcher, et al.. Les enzymes antioxydantes circulantes comme marqueurs d'effet chez les mineurs de charbon. 24. Journées Nationales de Médecine du Travail, Jun 1996, Paris, France. ineris-00971961

**HAL Id: ineris-00971961**

**<https://hal-ineris.archives-ouvertes.fr/ineris-00971961>**

Submitted on 3 Apr 2014

**HAL** is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

Titre Les enzymes antioxydantes circulantes comme marqueurs d'effet chez les mineurs de charbon

Auteurs M. GUENZI<sup>1</sup>, P. HEINTZ<sup>1</sup>, M. ZITTER<sup>1</sup>, P. CERVANTES<sup>2</sup>, J-M. PORCHER<sup>3</sup>, R. NADIF<sup>4</sup>, G. AUBURTIN<sup>3</sup>

### 1 - Introduction

L'inhalation chronique de poussières de charbon entraîne une migration des cellules inflammatoires dans l'espace alvéolaire. La phagocytose des particules inhalées est suivie par une activation des macrophages et des neutrophiles, appelée « explosion oxydante ». Les cellules inflammatoires libèrent alors des protéases, des médiateurs de l'inflammation et des Espèces Activées de l'Oxygène (EAO). Les EAO sont des molécules dérivées de l'oxygène, ayant une durée de vie courte mais une extrême réactivité. Elles s'attaquent aux membranes des cellules, aux protéines, à l'ADN et sont impliquées dans le développement de nombreuses pathologies telles que la cataracte et le cancer. Dans notre organisme, ces espèces sont produites naturellement lors du métabolisme respiratoire et lors de « l'explosion oxydante ». L'anion superoxyde ( $O_2^{\cdot-}$ ) est libéré à la surface cellulaire des cellules phagocytaires par activation d'une oxydase intégrée à la membrane. Une partie de l'anion superoxyde est libérée dans l'espace extracellulaire où il est spontanément transformé en peroxyde d'hydrogène ( $H_2O_2$ ). De plus, les particules inhalées génèrent elles-mêmes des EAO. Cette activation chronique se traduit par un déséquilibre de la balance oxydants/antioxydants (stress oxydatif), ainsi que de la balance protéases/antiprotéases, et de nombreuses cytokines et facteurs de croissance. Ces déséquilibres conduisent à un remodelage et une modification des composants de l'architecture de la matrice extracellulaire pulmonaire.

En réponse aux effets délétères des EAO, l'organisme possède un puissant système de protection. Il comprend des enzymes qui ont des activités antioxydantes et de nombreux antioxydants (acide ascorbique, acide urique,  $\alpha$ -tocophérol,  $\beta$ -carotène, bilirubine, glutathion, groupements thiols des protéines, oligo-éléments, rétinol, ...). Les principales enzymes qui

---

1 : Houillères du Bassin de Lorraine, Services Médicaux du Travail, 11 rue du Casino, 57800 Freyming-Merlebach

2 : Centre d'Etude des Pathologies Professionnelles Respiratoires, Hospitalor, rue Ambroise Paré, 57500 Saint-Avold

3 : INERIS, Parc Technologique ALATA, B.P. 2, 60550 Verneuil-en-Halatte

4 : INSERM Unité 420, Faculté de Médecine, B.P. 184, 54505 Vandoeuvre-lès-Nancy

protègent contre les dommages cellulaires dus aux EAO sont la superoxyde dismutase (SOD), la catalase (CAT) et la glutathion peroxydase (GPx), enzyme séléno-dépendante. La SOD transforme  $O_2^-$  en  $H_2O_2$ , et la CAT et la GPx transforment  $H_2O_2$  en eau et en oxygène. Comme les EAO ont une durée de vie brève, la mesure de ces activités enzymatiques dans le sang est un test peu contraignant qui permet d'étudier les effets d'une exposition chronique aux oxydants chez l'Homme.

La pneumoconiose du mineur de charbon est une maladie professionnelle qui se manifeste généralement après plusieurs décennies d'exposition aux poussières de mine de charbon. Les marqueurs biologiques peuvent représenter un signal dans un continuum d'événements entre une exposition causale et le développement d'une pathologie résultante. Cette étude fait partie d'un projet sur la mesure de la lipoperoxydation chez les mineurs de charbon. Le but de cette étude est de proposer les activités des enzymes antioxydantes et le statut total en antioxydants circulants comme possibles marqueurs de l'activité biologique résultant de l'exposition aux poussières de mine de charbon, ou de la pneumoconiose chez les mineurs de charbon.

## *2 - Matériel et méthodes*

L'étude a porté sur quatre groupes de travailleurs des « Houillères du Bassin de Lorraine » (HBL) (Forbach, Moselle) : un groupe de mineurs actuellement exposés à la poussière de mine, non pneumoconiotiques (« actifs fond »), un groupe de travailleurs non exposés aux poussières ou à d'autres irritants pulmonaires (« actifs jour »), un groupe de retraités mineurs pneumoconiotiques, et un groupe de retraités mineurs non pneumoconiotiques.

Les sujets actifs ont été sélectionnés, par tirage au sort, pour être très différents sur le plan de l'exposition aux poussières. Cette exposition a été estimée, à l'aide de prélèvements individuels avec capteur de poussières CIP 10, pendant 3 à 6 jours consécutifs incluant la date d'examen. Dans les deux groupes, les critères de sélection incluent l'absence de pneumoconiose et d'altération de la fonction respiratoire. Les sujets retraités ont été sélectionnés par échantillonnage systématique parmi les personnes suivies par le Centre d'Étude des Pathologies Professionnelles Respiratoires de Saint-Avold (CEPPR).

Les sujets ont été classés en fumeurs, non fumeurs et ex-fumeurs. Il a été difficile de sélectionner des retraités fumeurs. Ainsi, nous avons décidé de comparer les antioxydants chez les retraités non fumeurs et ex-fumeurs actuels.

L'existence d'une pneumoconiose a été vérifiée par l'interprétation indépendante et anonyme des radiographies pulmonaires par 3 médecins entraînés à la lecture des radiographies de pneumoconiose selon la classification du Bureau International du Travail. Il en a résulté la re-classification de certains sujets retraités.

L'enquête comprenait un questionnaire auto-administré portant sur les caractéristiques sociodémographiques, l'anamnèse médicale, les habitudes alimentaires, et l'exposition aux poussières et aux irritants respiratoires, et le questionnaire de la Communauté Européenne du Charbon et de l'acier (CECA) portant sur les symptômes respiratoires et la consommation tabagique.

L'information des sujets, le recueil de leur consentement écrit, le questionnaire et les différents prélèvements ont été effectués au Centre de Médecine du Travail des HBL pour les sujets actifs et au CEPPR pour les retraités.

Le sang total (5 ml) est centrifugé, dans un délai de 3 heures suivant le prélèvement, à 800 g pendant 7 minutes, le plasma est aliquoté et les érythrocytes sont lavés trois fois avec NaCl 0,9 % puis hémolysés. Le plasma et les hémolysats sont stockés à -35°C jusqu'aux dosages. La mesure des activités  $\text{Cu}^{++}/\text{Zn}^{++}$  SOD, catalase, glutathion peroxydase et du statut total en antioxydants plasmatiques (STA) est réalisé suivant les techniques décrites dans le papier de R. Nadif et al. (1996). Les analyses statistiques ont été réalisées à l'aide du logiciel SAS. Compte tenu de la petite taille des échantillons, des tests non paramétriques (U de Mann-Whitney) ont été utilisés. Des analyses de covariance ont été réalisées pour comparer les antioxydants entre les groupes en tenant compte des éventuels facteurs de confusion (âge, histoire tabagique).

### 3 - Résultats

Le tableau I (page suivante) présente les caractéristiques des sujets dans les différents groupes.

Comme attendu, les empoussiérages des actifs du fond, travaillant tous dans des chantiers d'exploitation sont statistiquement supérieurs à ceux des actifs du jour. Les actifs du fond sont légèrement mais significativement plus âgés que ceux du jour. Il n'existe pas de différence de proportion entre fumeurs, non fumeurs et anciens fumeurs entre les deux groupes d'actifs, d'une part, et entre les deux groupes de retraités, d'autre part.

Tableau I : Âge, exposition aux poussières respirables de mine de charbon ( $\text{mg}/\text{m}^3$ ) et histoire tabagique des sujets dans les différents groupes de mineurs de charbon.

Variables	Mineurs actifs		Valeurs de p	Mineurs retraités		
	« jour » (n = 30)	« fond » (n = 34)		Sans pneumoconiose (n = 33)	Avec pneumoconiose (n = 21)	Valeurs de p
Âge	37,7 (2,43)	40,05 (3,27)	0,0037	59,27 (2,97)	59,80 (4,08)	0,7189
Exposition*	0,17 (0-2,87)	1,61 (0,15-21,1)	0,0001	—	—	—
Histoire tabagique :						
Paquets-années*	3 (0-41)	8 (0-26)	0,8007	8 (0-84)	5 (0-27)	0,7821
Fumeurs <sup>†</sup>	53,3	47,1		0	0	
Non fumeurs <sup>†</sup>	26,7	38,2	0,596	18,2	38,1	0,104
Ex-fumeurs <sup>†</sup>	16,7	11,8		81,8	61,9	

Les résultats sont exprimés en moyenne et écart-type (âge), médiane et (minimum-maximum) (exposition, paquets-années) et en pourcentage (fumeurs, ...).

\* : test de Mann-Whitney; <sup>†</sup> : test du chi2.

Les valeurs moyennes des antioxydants dosés dans l'hémolysat et le plasma des mineurs actifs et retraités sont présentées dans les tableaux II et III.

Tableau II : Comparaison des antioxydants entre les groupes de mineurs actifs.

Variables	« jour » (n = 30)	« fond » (n = 34)	Test de Mann-Whitney Valeurs de p	Analyse de covariance* Valeurs de p
Erythrocytes :				
CAT (k/g Hb)	135,51 (28,15)	142,78 (33,32)	0,4634	0,3995
GPx (U/g Hb)	34,57 (13,77)	34,47 (11,67)	0,9196	0,6341
Cu <sup>++</sup> /Zn <sup>++</sup> SOD (U/g Hb)	156,99 (37,54)	182,22 (31,92)	0,0008	0,0131
Plasma :				
GPx (U/l)	478,31 (89,08)	425,20 (110,67)	0,0422	0,3427
STA (mmol/l)	1,26 (0,13)	1,32 (0,11)	0,0133	0,1867

Les résultats sont exprimés en moyenne et écart-type. \* : l'âge et l'histoire tabagique sont les covariables.

L'activité Cu<sup>++</sup>/Zn<sup>++</sup> SOD érythrocytaire est plus élevée dans le groupe des mineurs travaillant au fond, même après ajustement sur les éventuels facteurs de confusion. L'activité GPx plasmatique est plus faible alors que le STA est plus élevé dans le groupe des mineurs mais ces différences ne sont plus significatives dès ajustement sur l'âge (données non représentées) ou après ajustement sur l'âge et l'histoire tabagique.

Tableau III : Comparaison des antioxydants entre les groupes de mineurs retraités.

Variables	Sans pneumoconiose (n = 33)	Avec pneumoconiose (n = 21)	Test de Mann-Whitney Valeurs de p	Analyse de covariance* Valeurs de p
Erythrocytes :				
CAT (k/g Hb)	141,99 (33,43)	141,93 (33,32)	0,9012	0,9000
GPx (U/g Hb)	30,87 (1,52)	29,37 (1,61)	0,7629	0,8545
Cu <sup>++</sup> /Zn <sup>++</sup> SOD (U/g Hb)	161,94 (36,99)	162,13 (33,05)	0,7629	0,9687
Plasma :				
GPx (U/l)	479,27 (140,26)	571,09 (133,55)	0,0091	0,0397
STA (mmol/l)	1,18 (0,12)	1,15 (0,10)	0,2788	0,3450

Les résultats sont exprimés en moyenne et écart-type excepté pour la GPx érythrocytaire (moyenne géométrique). \* : l'âge est la seule covariable.

L'activité GPx plasmatique est plus élevée dans le groupe des mineurs retraités pneumoconiotiques. La différence reste significative même après analyse de covariance.

#### 4 - Conclusion

Les changements que nous avons observés dans les antioxydants circulants sont en accord avec l'hypothèse d'une implication des EAO comme événement important lors de l'exposition chronique aux poussières respirables de mine de charbon et lors de l'activité pneumoconiotique. En dépit des faibles effectifs, nos données indiquent que l'activité Cu<sup>++</sup>/Zn<sup>++</sup> SOD érythrocytaire peut être considérée comme marqueur biologique d'effet chez les mineurs exposés aux poussières de mine, et l'activité GPx plasmatique comme marqueur biologique de la pneumoconiose chez les mineurs de charbon.

