

YOHAN BOSSÉ

**INFLUENCE DU POLYMORPHISME INSERTION/DÉLÉTION DU GÈNE
DE L'ENZYME DE CONVERSION DE L'ANGIOTENSINE SUR
LES EFFETS MÉTABOLIQUES D'UN TRAITEMENT AU FIBRATE
ET D'UN EXERCICE EN ENDURANCE**

Mémoire
présenté
à la Faculté des études supérieures
de l'Université Laval
pour l'obtention
du grade de maître ès sciences (M.Sc.)

Département de médecine sociale et préventive
FACULTÉ DE MÉDECINE
UNIVERSITÉ LAVAL

JUIN 2001

© Yohan Bossé, 2001



National Library
of Canada

Bibliothèque nationale
du Canada

Acquisitions and
Bibliographic Services

Acquisitions et
services bibliographiques

395 Wellington Street
Ottawa ON K1A 0N4
Canada

395, rue Wellington
Ottawa ON K1A 0N4
Canada

Your file *Votre référence*

Our file *Notre référence*

The author has granted a non-exclusive licence allowing the National Library of Canada to reproduce, loan, distribute or sell copies of this thesis in microform, paper or electronic formats.

L'auteur a accordé une licence non exclusive permettant à la Bibliothèque nationale du Canada de reproduire, prêter, distribuer ou vendre des copies de cette thèse sous la forme de microfiche/film, de reproduction sur papier ou sur format électronique.

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

L'auteur conserve la propriété du droit d'auteur qui protège cette thèse. Ni la thèse ni des extraits substantiels de celle-ci ne doivent être imprimés ou autrement reproduits sans son autorisation.

0-612-62049-2

Canada

RÉSUMÉ

Des hommes caractérisés par le syndrome dyslipidémique de l'obésité abdominale ont été soumis à un programme d'intervention comprenant un agent hypolipidémiant (gemfibrozil, 600 mg bid), diète et exercice. Le but de ce mémoire était d'étudier l'effet d'un agent hypolipidémiant de la classe des fibrates sur le profil lipidique et l'effet d'un programme d'exercice en endurance sur la composition corporelle et la tension artérielle en fonction du polymorphisme insertion(I)/délétion(D) de l'enzyme de conversion de l'angiotensine (ACE). Les résultats de la première étude démontrent que ce polymorphisme influence l'effet du gemfibrozil sur la concentration plasmatique de cholestérol-HDL. Les résultats de la deuxième étude suggèrent que les changements observés au niveau de la composition corporelle, du tissu adipeux viscéral et de la tension artérielle de repos, en réponse à un entraînement en endurance, ne sont pas influencés par le polymorphisme I/D du gène de l'ACE.

/ signature de l'étudiant

13/06/01

date

signature du directeur

04/04/01

date

AVANT-PROPOS

Le présent mémoire est constitué d'une revue de la littérature, de deux manuscrits scientifiques et d'une conclusion générale sur l'influence du polymorphisme insertion/délétion du gène de l'enzyme de conversion de l'angiotensine (ACE) sur les effets métaboliques d'un traitement au fibraté et d'un exercice en endurance. Le premier manuscrit sera soumis à la revue "Journal of Lipid Research" après approbation des collaborateurs. Le deuxième manuscrit rapporte les résultats présentés lors du congrès de la "North American Association for the Study of Obesity" en octobre 2000 à Long Beach en Californie. Les deux manuscrits ont été réalisés en collaboration avec les mêmes coauteurs et leur contribution respective est identique dans chacun des manuscrits.

Les résultats rapportés dans ce mémoire proviennent des données de l'étude prospective "Gemfibrozil-Exercise-Lipide" (GEL). Les Dr Denis Prud'homme et Jean-Pierre Després tous deux professeurs à l'université Laval et membres du centre de recherche sur les maladies lipidiques (CRML) du CHUQ-CHUL sont les principaux investigateurs de cette étude. Le Dr Martin Brochu et Mme Martine Dumont ont assumé la coordination et la réalisation de l'étude GEL. Le Dr Jean Bergeron (CRML, CHUL) était responsable de la mesure des concentrations plasmatiques des lipides et des lipoprotéines. Finalement, le génotypage des sujets pour le polymorphisme ACE I/D a été réalisé dans le laboratoire du CRML, CHUL sous la direction du Dr Marie-Claude Vohl. Tous les co-auteurs ont participé activement à la révision des deux manuscrits. À titre de premier auteur de ces articles, j'ai effectué les analyses statistiques (sous la supervision du Dr Vohl) et rédigé les deux manuscrits incluant la problématique, les méthodes, les résultats et la discussion. Aucune modification des articles originaux n'a été effectuée dans le mémoire, à l'exception de la section "methods" du chapitre 3. À cet endroit, les méthodes et techniques déjà décrites au chapitre 2 n'ont pas été répétées.

Il est impossible de réaliser un projet comme celui-ci sans un support technique et moral. Je profite donc de cette section pour remercier les gens qui de près ou de loin ont contribué à cet ouvrage.

Tout d'abord, je dois remercier mon père et ma mère pour m'avoir enseigné de bonnes valeurs et m'avoir encouragé tout au long de mon cheminement autant sur le plan académique que sportif. Je veux aussi remercier Anik, Ynuk et Heidi pour être là pour moi et m'offrir un support familial envié. La réalisation de soi-même et de ces projets est le sommet d'une pyramide qui à la base est solide et stable. Ma famille constitue pour moi cette structure robuste et durable qui me permet d'atteindre mes objectifs.

Je souhaite également remercier mes deux mentors. Premièrement, le Dr Denis Prud'homme qui a accepté de bon gré de diriger mes études graduées malgré une charge de travail imposante. Ses idées et conseils expérimentés sont le squelette du projet. De plus, il m'a donné l'opportunité d'acquérir de l'expérience pratique en recherche pharmaceutique et en enseignement. Je le remercie d'autant plus pour l'attention et la confiance qu'il m'a accordé. Je veux aussi remercier le Dr Prud'homme de m'avoir présenté le Dr Marie-Claude Vohl. Dr Vohl a été indispensable dans la réalisation de ce projet. Sa volonté d'agir et ses connaissances techniques et théoriques ont été essentielles, sans énumérer sa gentillesse et sa personnalité remarquable. Je me sens privilégié de poursuivre des études graduées sous sa direction.

Je tiens aussi à remercier le centre de recherche sur le métabolisme énergétique qui m'a permis d'effectuer mes études de deuxième cycle sans me soucier de l'aspect financier que cela comporte. Leur soutien financier a été précieux et fort apprécié.

Finalement, je veux remercier Mélanie qui m'appuie émotionnellement jour après jour. Sa présence auprès de moi est irremplaçable non seulement pour mes projets mais aussi les nôtres.

TABLE DES MATIÈRES

RÉSUMÉ	ii
AVANT-PROPOS	iii
TABLE DES MATIÈRES	v
LISTE DES ABRÉVIATIONS	viii
LISTE DES FIGURES	ix
LISTE DES TABLEAUX	x
CHAPÎTRE 1. Introduction	1
SECTION 1	3
1.1 L'effet du gemfibrozil sur le profil lipidique	3
1.2 Mécanisme d'action des fibrates	4
1.3 Pharmacogénétique	5
SECTION 2	6
2.1 L'effet d'un programme d'exercice en endurance sur la santé métabolique	6
2.1.1 L'effet d'un programme d'exercice en endurance de faible intensité sur la composition corporelle	7
2.1.2 L'effet d'un programme d'exercice en endurance de faible intensité sur la tension artérielle	7
2.1.3 L'effet d'un programme d'exercice en endurance de faible intensité sur le profil lipidique	8
2.2 La trainabilité	9

SECTION 3	10
3.1 Le système rénine-angiotensine	10
3.2 L'enzyme de conversion de l'angiotensine (ACE)	14
SECTION 4	17
4.1 L'action modulatrice du polymorphisme I/D à des traitements pharmacologiques	17
SECTION 5	19
5.1 Le polymorphisme I/D du gène de l'ACE et la performance physique ..	19
5.2 Le polymorphisme I/D du gène de l'ACE et la réponse à l'entraînement physique	20
SECTION 6	24
6.1 Description du programme d'intervention	24
6.2 L'approche du gène candidat	26
6.3 Techniques utilisées pour la détermination du génotype	27
SECTION 7	30
7.1 Objectifs de la première étude	30
7.2 Objectifs de la seconde étude	30
CHAPITRE 2. Influence du polymorphisme insertion/délétion du gène de l'enzyme de conversion de l'angiotensine sur l'efficacité d'un traitement hypolipidémiant avec le gemfibrozil	31

CHAPITRE 3. Influence du polymorphisme insertion/délétion du gène de l'enzyme de conversion de l'angiotensine sur la composition corporelle, la tension artérielle et le profil lipidique en réponse à un programme d'intervention incluant gemfibrozil, diète et exercice	57
CHAPITRE 4. Conclusion	84
RÉFÉRENCES	88

LISTE DES ABRÉVIATIONS

ACE	Enzyme de conversion de l'angiotensine
ADN	Acide désoxyribonucléique
AGT	Angiotensinogène
Ang I	Angiotensine I
Ang II	Angiotensine II
apo	Apolipoprotéine
chol	Cholestérol
HDL	«High-density lipoprotein»
HHS	«Helsinki Heart Study»
I/D	Insertion/délétion
IMC	Indice de masse corporelle
IACE	Inhibiteur de l'enzyme de conversion de l'angiotensine
LDL	«Low-density lipoprotein»
PCR	Réaction de polymérisation en chaîne
PPAR α	«Peroxisome proliferator-activated receptor alpha»
PPRE	«Peroxisome proliferator response element»
SRA	Système rénine-angiotensine
VA-HIT	«Veterans Affairs Cooperative Studies Program High-Density Lipoprotein Cholesterol Intervention Trial»
VLDL	«Very-low-density lipoprotein»
VO ₂ max	Consommation maximale d'oxygène

LISTE DES FIGURES

CHAPITRE 1

Figure 1. Le système rénine-angiotensine traditionnel	12
Figure 2. Le système rénine-angiotensine révisé	13
Figure 3. Le programme d'intervention «Gemfibrozil-Exercise-Lipide»	25
Figure 4. Amplification PCR suivie d'une digestion avec une enzyme de restriction	29

CHAPITRE 2

Figure 1. Les déterminants de la variance de la réponse du cholestérol-HDL suite à un programme d'intervention de six mois	56
---	----

CHAPITRE 3

Figure 1. Protocole expérimental de l'étude «Gemfibrozil-Exercise-Lipide»	83
--	----

LISTE DES TABLEAUX

CHAPITRE 1

Tableau 1. Le polymorphisme I/D et la tension artérielle selon le type d'étude, l'origine génétique et le sexe	16
Tableau 2. Caractéristiques et résultats des études rapportant les effets du polymorphisme I/D du gène de l'enzyme de conversion de l'angiotensine sur les paramètres d'entraînements et de performance	23

CHAPITRE 2

Tableau 1. Caractéristiques initiales des sujets en fonction du génotype ACE I/D	52
Tableau 2. Changements des niveaux plasmatiques de lipides et lipoprotéines suite au programme d'intervention en fonction du génotype ACE I/D	53
Tableau 3. Effet du polymorphisme ACE I/D et du traitement (placebo vs gemfibrozil) sur les niveaux de lipides et de lipoprotéines plasmatiques en réponse au programme d'intervention	54

CHAPITRE 3

Tableau 1. Caractéristiques initiales des sujets en fonction du génotype ACE I/D	78
Tableau 2. Caractéristiques initiales des sujets porteurs et non-porteurs de l'allèle I et des sujets porteurs et non-porteurs de l'allèle D	79
Tableau 3. Changements de la composition corporelle et de la tension artérielle suite au programme d'intervention en fonction du génotype ACE I/D	80
Tableau 4. Changements de la composition corporelle et de la tension artérielle suite au programme d'intervention entre les sujets porteurs et non-porteurs de chacun des allèles	81
Tableau 5. Effet du polymorphisme ACE I/D et du traitement sur les moyennes de changements de lipides et lipoprotéines plasmatiques en réponse au programme d'intervention	82







Autorisation de co-auteur(s) pour un article inclus dans le mémoire ou la thèse

NOM de L'ÉTUDIANT-E Yohan Bessé
 NOM DU PROGRAMME Maîtrise en kinésiologie
 TITRE DU MÉMOIRE OU DE LA THÈSE Influence du polymorphisme insertion/délétion du gène de l'enzyme de convertion de l'angiotensine (ACE) sur les effets métaboliques d'un traitement au fibrate et d'un exercice en endurance

Par la présente, le(s) soussigné(s), co-auteur(s) d'un article intitulé :

Contribution of the ACE I/D Polymorphism to the Body Composition, Blood Pressure and Lipoprotein/Lipid Profile Responses to a Gemfibrozil-Diet-Exercise Intervention Program.

faisant partie du mémoire de maîtrise ou de la thèse de doctorat en titre qui est présenté à la Faculté des études supérieures de l'Université Laval, autorise(nt) l'insertion de l'article dans ce mémoire ou cette thèse et l'éventuel microfilmage selon les règles de la Bibliothèque nationale du Canada (Service des thèses canadiennes).

SIGNATURE	NOM EN CARACTÈRES D'IMPRIMERIE	DATE
	DENIS PRUD'HOMME	04/04/01
	MARTINE DUMONT	10/04/01
	JEAN BERGERON	12/04/01
	MARIE-CLAUDE LEBLANC	12/04/01
	Jean-Pierre DESPRÉS	19/4/01
	MARTIN BROCHU	23/04/01

Autorisation de co-auteur(s) pour un article inclus dans le mémoire ou la thèse

NOM de
L'ÉTUDIANT-E

Yohan Bessé

NOM DU PROGRAMME

Maîtrise en kinésiologie

TITRE DU MÉMOIRE
OU DE LA THÈSE

Influence du polymorphisme insertion/délétion du
gène de l'enzyme de conversion de l'angiotensine (ACE)
sur les effets métaboliques d'un traitement au
fibrate et d'un exercice en endurance

Par la présente, le(s) soussigné(s), co-auteur(s) d'un article intitulé :

*Angiotensin-Converting Enzyme Gene Insertion/Deletion
Polymorphism is a Determinant of HDL Cholesterol Response
to a Lipid-Lowering Intervention with Gemfibrozil.*

faisant partie du mémoire de maîtrise ou de la thèse de doctorat en titre qui est présenté à la Faculté des études supérieures de l'Université Laval, autorise(nt) l'insertion de l'article dans ce mémoire ou cette thèse et l'éventuel microfilmage selon les règles de la Bibliothèque nationale du Canada (Service des thèses canadiennes).

SIGNATURE

NOM EN CARACTÈRES D'IMPRIMERIE

DATE



DEWIS PRUD'HOMME

04/04/01




MARTINE DUMONT

10/04/01



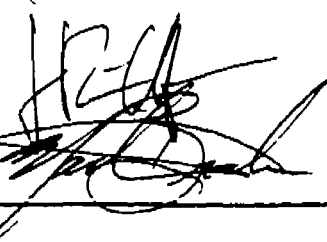
JEAN BERGERON

12/04/01



MARIE-CLAUDE WOHL

12/04/01



Jean-Pierre Despres

19/4/01



MARTIN BROCHU

23/04/01

CHAPITRE 1

Introduction

Il est bien rapporté dans la littérature que la réponse métabolique à un programme d'exercice standardisé est très variable entre les individus¹. Parallèlement, la variabilité interindividuelle en réponse à un traitement médicamenteux est considérée comme un problème clinique majeur². L'épidémiologie génétique permet maintenant d'étudier une multitude de marqueurs génétiques responsables de ce phénomène. L'étude des variations dans la séquence de l'ADN va éventuellement offrir des outils diagnostics très puissants, permettant ainsi de choisir le traitement optimal pour un individu particulier en fonction de marqueurs spécifiques.

Dans ce mémoire, un polymorphisme potentiellement impliqué dans la réponse lipidique à un traitement hypolipidémiant et dans les changements de composition corporelle, de tension artérielle et du profil lipidique suivant un programme d'entraînement en endurance est étudié. Les sections 1 et 2 du chapitre 1 constitue un bref rappel de l'action du gemfibrozil, un agent hypolipidémiant appartenant à la classe des fibrates, sur le profil lipidique et de l'effet d'un programme d'exercice en endurance sur le profil métabolique, respectivement. Le marqueur génétique étudié est présenté à la section 3. Cette partie inclut aussi : le gène contenant le polymorphisme d'intérêt, le rôle de la protéine codée par ce dernier et le fonctionnement du système dans lequel la protéine est impliquée. Les sections 4 et 5 rapportent les données de la littérature qui nous permettent de croire que le polymorphisme étudié est potentiellement impliqué

dans les variations interindividuelles suivant un traitement hypolipidémiant et un programme d'exercice en endurance, respectivement. Les méthodes utilisées sont décrites à la section 6, alors que les objectifs du présent travail sont décrits à la section 7. Les chapitres 2 et 3 représentent le corps du présent mémoire. Le chapitre 2 décrit l'influence du marqueur sur les changements du profil lipidique suivant l'administration de gemfibrozil. Le chapitre 3, pour sa part, rapporte les effets du polymorphisme étudié sur la composition corporelle, la tension artérielle et le profil lipidique en réponse à un programme d'exercice en endurance. Enfin, le chapitre 4 est consacré au bilan de la recherche.

SECTION 1

1.1 L'effet du gemfibrozil sur le profil lipidique

Le gemfibrozil est un agent hypolipidémiant appartenant à la classe des fibrates. L'efficacité du gemfibrozil a été confirmée dans deux grandes études cliniques : Helsinki Heart Study (HHS) et Veterans Affairs Cooperative Studies Program High-Density Lipoprotein Cholesterol Intervention Trial (VA-HIT).

La HHS est une étude de prévention primaire d'une durée de cinq ans ayant débutée en 1980. La cohorte à l'étude était formée de 4081 hommes assignés aléatoirement à un groupe traitement (n = 2046) ou à un groupe placebo (n = 2035). Le groupe traitement recevait deux capsules de gemfibrozil (600 mg) par jour. Les sujets étaient âgés entre 40 et 55 ans et dyslipidémiques (cholestérol non-HDL supérieur à 5,2 mmol/L). Les résultats de cette étude sont convaincants. La différence entre le groupe gemfibrozil et le groupe placebo durant l'intervention était de -10%, -11%, -14%, +11% et -35% pour le cholestérol total, le cholestérol-LDL, le cholestérol non-HDL, le cholestérol-HDL et les triglycérides, respectivement. Ces changements de lipides remarquables dans le groupe traité étaient associés à une diminution de 34% de l'incidence de maladie coronarienne³.

L'étude VA-HIT en est une de prévention secondaire d'une durée de cinq ans qui a débuté en 1991. La cohorte comprenait 2531 hommes assignés aléatoirement à un groupe gemfibrozil (n = 1264) ou à un groupe placebo (n = 1267). Le groupe traitement recevait une dose de 1200 mg par jour. Les sujets étaient âgés de moins de 74 ans et devaient avoir des concentrations plasmatiques de cholestérol-HDL inférieures à 1,0 mmol/L, de cholestérol-LDL inférieures à 3,6 mmol/L, de triglycérides inférieures à 3,4 mmol/L et présenter une histoire positive de maladie coronarienne. Comparativement au groupe placebo, les patients recevant le gemfibrozil présentaient une augmentation de 6% de la concentration de cholestérol-HDL et une réduction de 31% des niveaux plasmatiques de triglycérides alors qu'aucun changement dans la concentration plasmatique de cholestérol-LDL n'a été observé. Ces changements de lipides sanguins dans le groupe traité étaient associés à une diminution de 22% de

l'incidence de maladie coronarienne. Cette étude démontre pour la première fois, qu'un traitement hypolipidémiant qui n'a pas d'effet sur la concentration de cholestérol-LDL, mais qui augmente la concentration de cholestérol-HDL et diminue le taux de triglycérides, peut réduire significativement le risque de souffrir d'un événement coronarien⁴.

Ces deux études démontrent clairement l'effet bénéfique d'un fibrate sur l'augmentation des concentrations du cholestérol-HDL et l'action hypotriglycéridémiante de ce dernier. Cependant, elles n'expliquent pas le mécanisme par lequel ces phénomènes se produisent.

1.2 Mécanisme d'action des fibrates

Cette classe de médicaments agit en modifiant la transcription des gènes codant pour des protéines qui contrôlent le métabolisme des lipoprotéines⁵. En effet, les fibrates se lient et activent un facteur de transcription, dans le noyau cellulaire, appelé PPAR α («peroxisome proliferator-activated receptors»). Par la suite, les PPAR α se lient aux PPRE («peroxisome proliferator response element») afin d'activer ou réprimer l'expression de gènes spécifiques⁵.

L'action hypotriglycéridémiante des fibrates s'effectue en deux temps : 1- augmentation du catabolisme des lipoprotéines riches en triglycérides et 2- en diminuant la production de VLDL («very-low-density lipoprotein») hépatiques. La première action est assurée en diminuant la production d'apolipoprotéine (apo) CIII⁶ et en activant la lipoprotéine lipase⁷. Les triglycérides plasmatiques sont alors hydrolysés plus rapidement diminuant ainsi leur concentration sanguine. La deuxième action des fibrates sur la triglycéridémie est médiée par une augmentation de la captation des acides gras par le foie et de leur catabolisme par la voie de la β -oxydation^{8, 9}. La production de VLDL hépatiques est ainsi réduite car le substrat nécessaire à la synthèse des triglycérides est abaissé.

Comme mentionné précédemment, les fibrates augmentent les concentrations plasmatiques de cholestérol-HDL. Cette manifestation est causée par une augmentation

de la transcription des gènes de l'apo AI et de l'apo AII hépatiques via un mécanisme PPAR α -dépendant^{10, 11}.

1.3 Pharmacogénétique

La pharmacogénétique est l'étude de la variabilité de la réponse aux traitements pharmacologiques causée par des facteurs génétiques. Même si le terme pharmacogénétique existe depuis 1959, cette science est devenue très populaire depuis les dernières années. En effet, vers la fin des années 60, des études effectuées sur des jumeaux monozygotes ont bien démontré la contribution génétique de la réponse à des agents pharmacologiques^{12, 13}. Depuis, les progrès de la pharmacogénétique ont suivi ceux de la biologie moléculaire et aujourd'hui l'avancement dans le projet du Génome Humain¹² va révolutionner cette science. Quelques années auparavant, l'habileté de prédire la réponse interindividuelle d'un médicament sur la base génétique était une vision purement idéaliste. De nos jours, c'est un objectif réaliste qui permettra d'optimiser les bénéfices aux patients.

Évidemment, la pharmacogénétique s'applique à tous les types d'agents pharmacologiques, incluant les agents hypolipémiants. L'identification des gènes ou marqueurs génétiques responsables des variations interindividuelles suivant l'administration de gemfibrozil n'est qu'à ses débuts. Au meilleur de nos connaissances, un seul rapport a été publié sur ce sujet. Dans cet article, on y apprend que la réponse interindividuelle d'un traitement au gemfibrozil semble partiellement expliquée par les polymorphismes Xba1 et Sst1 dans les gènes de l'apo B et de l'apo A1/CIII, respectivement¹⁴. De toute évidence, d'autres études doivent être effectuées afin de valider ces résultats.

SECTION 2

2.1 L'effet d'un programme d'exercice en endurance sur la santé métabolique

La littérature scientifique regorge d'informations concernant les effets bénéfiques d'un programme d'exercice en endurance sur la santé. Plusieurs rapports sur le sujet ont été publiés par des organismes de niveau international dont : l'American College of Sports Medicine¹⁵, le National Institutes of Health¹⁶, l'American Heart Association¹⁷ et l'Office of the Surgeon General¹⁸. Ces comptes-rendus décrivent bien les adaptations attendues suivant l'administration d'un programme d'exercice en endurance. Les adaptations peuvent être divisées en deux grandes catégories, celles reliées à la condition physique (consommation maximale d'oxygène, endurance musculaire, flexibilité, etc.) et celles reliées à la condition métabolique (profil lipidique, métabolisme du glucose et de l'insuline, pression artérielle, etc.). Pendant plusieurs années, les chercheurs croyaient que l'amélioration de la santé métabolique était obligatoirement associée à l'amélioration de la condition physique. Toutefois, il est maintenant bien démontré que le profil métabolique peut être amélioré sans amélioration de la consommation maximale d'oxygène ($VO_2\text{max}$), qui est le meilleur indicateur de la capacité cardiorespiratoire¹⁹⁻²¹.

La condition métabolique est définie comme l'état des variables prédisant le risque de maladies cardiovasculaires et de diabète qui sont favorablement altérées par la participation à un programme d'exercice en endurance²². La quantité et la qualité d'exercice nécessaire pour bénéficier de ces effets diffèrent de celle nécessaire dans le but d'améliorer la condition physique¹⁵. Des exercices de faible intensité (50% du $VO_2\text{max}$) pratiqués pendant de plus longues durées peuvent ainsi causer des avantages éminents sur la santé sans améliorer la condition physique. Ainsi, la composition corporelle, la tension artérielle et le profil lipidique peuvent être modifiés par ce type de programme.

2.1.1 L'effet d'un programme d'exercice en endurance de faible intensité sur la composition corporelle

La prévalence d'individus ayant un surplus de poids ou considérés obèses est en pleine croissance dans les pays industrialisés²³. Un traitement incluant l'activité physique combinée à une diète hypocalorique s'est avéré efficace pour la perte de poids²⁴. Toutefois, afin d'évaluer l'effet indépendant d'un programme d'exercice en endurance sur le poids et la composition corporelle, il faut idéalement maintenir l'apport énergétique constant. Très peu d'équipes ont effectué ce type de protocole expérimental, mais l'équipe du Dr Bouchard s'y est intéressée¹⁹. Pour ce faire, ils ont soumis 5 jeunes hommes obèses à un programme d'exercice en endurance créant un déficit énergétique de 1000 kcal par jour pendant 100 jours. La perte de poids moyenne était de 8 kg avec une étendue de 3 à 12 kg. L'indice de masse corporelle (IMC), le pourcentage de gras et la masse grasse ont également diminué de façon significative. La perte de tissus adipeux sous-cutanés estimée par la somme des pliis du tronc et des extrémités était de 31% et 24% respectivement. Ces résultats suggèrent que la perte de tissus adipeux se fait préférentiellement au niveau du tronc lors d'un déficit énergétique induit par un programme d'exercice en endurance. Bouchard et collaborateurs ont également appliqué un protocole expérimental similaire à sept paires de jumeaux identiques²⁵. Ils ont démontré que la différence des changements dans le poids, l'IMC, la masse grasse, le pourcentage de gras et la quantité de tissu adipeux viscéral mesuré par tomographie axiale, en réponse au programme d'entraînement, est plus marquée entre les paires de jumeaux qu'entre les frères jumeaux. Ces deux études démontrent 1- l'effet bénéfique d'un programme d'exercice en endurance sur le poids et la composition corporelle et 2- qu'il existe une composante génétique importante à ces adaptations.

2.1.2 L'effet d'un programme d'exercice en endurance de faible intensité sur la tension artérielle

Le Joint National Committee on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Pressure, atteste qu'un programme d'exercice en endurance est une stratégie

efficace pour le traitement de l'hypertension²⁶. De façon générale, une réduction de la tension artérielle systolique et diastolique de 10 mm de Hg est attendue suivant ce type de programme d'entraînement chez des gens qui présentent de l'hypertension moyenne (tension artérielle de 140-180/90-105 mm Hg)²⁷. Toutefois, la diminution de la tension artérielle est fortement liée au niveau de la tension artérielle initiale du patient. En effet, l'étude HERITAGE a démontré qu'il existait une relation inverse entre la tension artérielle initiale et les changements de tension artérielle systolique et diastolique suivant un programme d'exercice en endurance de 20 semaines²⁸. Ces résultats suggèrent que les individus ayant des valeurs de tension artérielle plus élevées avant d'entreprendre un programme d'entraînement vont bénéficier davantage du traitement. Bouchard et collaborateurs ont également démontré, à partir d'une étude réalisée sur des jumeaux identiques, que la réponse de la tension artérielle systolique et diastolique suivant un programme d'exercice en endurance n'est pas influencée par des facteurs génétiques²⁵. Toutefois, cette cohorte de jumeaux comprenait des jeunes hommes en bonne santé et normotendus dont les effets potentiels de l'exercice étaient limités. Ainsi, un échantillon de patients hypertendus devrait être utilisé afin de caractériser les facteurs génétiques impliqués dans les changements de tension artérielle suivant un programme d'exercice en endurance.

2.1.3 L'effet d'un programme d'exercice en endurance de faible intensité sur le profil lipidique

Des avantages substantiels sur le profil lipidique peuvent être tirés d'un programme d'exercice en endurance^{22, 29}. Després et collaborateurs²¹ ont démontré qu'un entraînement de faible intensité sur ergocycle d'une durée prolongée pouvait diminuer les concentrations de cholestérol total, de cholestérol-LDL, de triglycérides, d'apo B et augmenter les concentrations de cholestérol-HDL, le ratio cholestérol-HDL/cholestérol-LDL et le ratio apo A1/apo B. De plus, une seconde étude des mêmes auteurs indique que les changements des niveaux de lipides et de lipoprotéines plasmatiques suivant un programme d'exercice en endurance sont très hétérogènes et que l'hérédité jouerait un rôle sur ces effets³⁰. Suite à l'étude réalisée auprès de sept

paires de jumeaux identiques, Bouchard et collaborateurs²⁵ rapportent que les changements des taux de cholestérol et de triglycérides plasmatiques sont plus concordants à l'intérieur des paires de jumeaux qu'entre les paires. En plus d'être influencées par des facteurs génétiques, les modifications entraînées par un programme d'exercice sont aussi dépendantes du profil lipidique initial. En effet, plus les niveaux de lipides et de lipoprotéines plasmatiques sont détériorés, meilleur est le potentiel d'amélioration de ce type de traitement²². Donc, afin d'étudier l'impact d'un protocole d'exercice et des facteurs génétiques sur le profil lipidique, il vaut mieux utiliser une cohorte de patients dyslipidémiques.

2.2 La trainabilité

Les adaptations au niveau du profil métabolique en réponse à un programme d'exercice sont remarquables lorsqu'on considère l'effet moyen chez les participants. Cependant, sur une base individuelle le tableau est bien différent. Certains individus sont très sensibles («high-responders») à un tel stimulus alors que d'autres semblent résistants («low-responders»). Entre ces deux phénotypes extrêmes une étendue complète des réponses existe. Cette variation interindividuelle observée dans la réponse d'un phénotype à un programme d'exercice est appelée trainabilité³¹. Connaître les changements phénotypiques reliés à la santé sur une base individuelle est crucial afin d'anticiper les avantages encourus par un programme d'exercice. L'hérédité est un facteur majeur qui influence la trainabilité. La contribution des facteurs génétiques aux adaptations à l'entraînement physique a déjà été étudiée³². Toutefois, l'identification des gènes et des marqueurs génétiques responsables de ces effets est encore au stade embryonnaire. De toute évidence, d'autres études sont nécessaires dans ce domaine afin d'être en mesure de prédire, sur la base du génotype, les avantages d'un programme d'exercice sur les déterminants de la santé.

SECTION 3

3.1 Le système rénine-angiotensine

La première preuve suggérant l'existence du système rénine-angiotensine (SRA) a été rapportée en 1898 par deux chercheurs qui ont observé une réponse vasoconstrictrice chez des lapins suite à l'infusion de saline extraite des reins³³. Depuis, plusieurs fonctions ont été attribuées au SRA dont les principales sont la régulation de la tension artérielle et le maintien de l'équilibre hydrique et électrolytique. L'effet presseur secondaire à l'activation du SRA est dû à la fois à la vasoconstriction des artérioles et à l'effet de l'aldostérone sur l'augmentation de l'absorption des ions sodium au niveau des tubules rénaux provoquant ainsi une augmentation du volume intravasculaire. Ces effets hémodynamiques sont médiés par un peptide multifonctionnel de ce système, c'est à dire l'angiotensine II (Ang II).

La cascade classique amenant à la synthèse de l'Ang II implique le foie, les reins et l'endothélium³⁴. Le processus est initié par la production de rénine via les cellules juxta-glomérulaires qui entourent les artérioles afférentes des reins. Par la suite, la rénine transforme l'angiotensinogène (AGT), produite principalement par le foie, en angiotensine I (Ang I). Suivant cette étape, l'enzyme de conversion de l'angiotensine (ACE) coupe les deux derniers acides aminés de l'extrémité carboxylée de l'Ang I pour former l'Ang II. Les effets physiologiques de l'Ang II sont réalisés via sa liaison aux récepteurs cellulaires spécifiques AT₁ et AT₂³⁵ (figure 1). Mis à part cette cascade de réactions intravasculaires, il est maintenant démontré que certains tissus synthétisent l'Ang II^{36, 37}.

Les connaissances relatives au SRA, qui était traditionnellement considéré comme un système endocrine, ont évolué considérablement au cours des dix dernières années³⁸. En effet, 1) l'identification d'Ang II chez des animaux nephrectomisés suggère la présence de voies alternatives de synthèse³⁹, 2) la présence d'Ang II et des composantes du SRA dans les tissus suggère une libération local de l'hormone⁴⁰, 3) il est maintenant démontré que plusieurs tissus dont le cerveau⁴¹, les reins³⁷, le tissu adipeux³⁶, le coeur⁴², les vaisseaux sanguins⁴³, le muscle squelettique⁴⁴ et l'intestin⁴⁵

expriment en totalité ou en partie les composantes clés du SRA. Ces tissus sont considérés comme des systèmes locaux rénine-angiotensine.

Les systèmes locaux générateurs d'Ang II sont complètement ou partiellement indépendants du système endocrine. C'est à dire qu'ils possèdent toutes les composantes nécessaires à la synthèse de l'Ang II. Autrement, les éléments manquants vont être captés dans la circulation ou obtenus par échange extracellulaire entre différentes cellules. Par ailleurs, la variation dans la concentration de la rénine entre certains tissus suggère la présence d'un système producteur d'Ang II indépendant de la rénine nommé «nonrenin-angiotensin system». Effectivement, certaines protéases telle la tonine, la cathepsine ou la chymase peuvent biosynthétiser l'Ang II à partir de son précurseur (AGT) sans avoir recours à la rénine ou à l'ACE^{36, 46}. La figure 2 présente schématiquement le SRA endocrine et autocrine-paracrine intégré. Ces deux systèmes diffèrent par leur cinétique enzymatique et leurs fonctions physiologiques³⁸. Comme l'Ang II produite en circulation, la synthèse locale d'Ang II conduit à une vasoconstriction locale, mais participe également à la prolifération cellulaire de plusieurs types de cellules via les processus de développement et de naissance des tissus^{34, 47}.

Le dysfonctionnement du SRA chez l'humain peut-être à l'origine de la pathogénèse de plusieurs maladies incluant l'hypertension, les maladies coronariennes, l'insuffisance cardiaque et la néphropathie diabétique⁴⁸. Une variation génétique dans un des éléments clés du SRA, capable d'influencer le comportement de sa protéine, peut vraisemblablement altérer un phénotype donné. Dans ce mémoire nous avons étudié l'impact d'un polymorphisme situé sur le gène de l'enzyme de conversion de l'angiotensine (ACE).

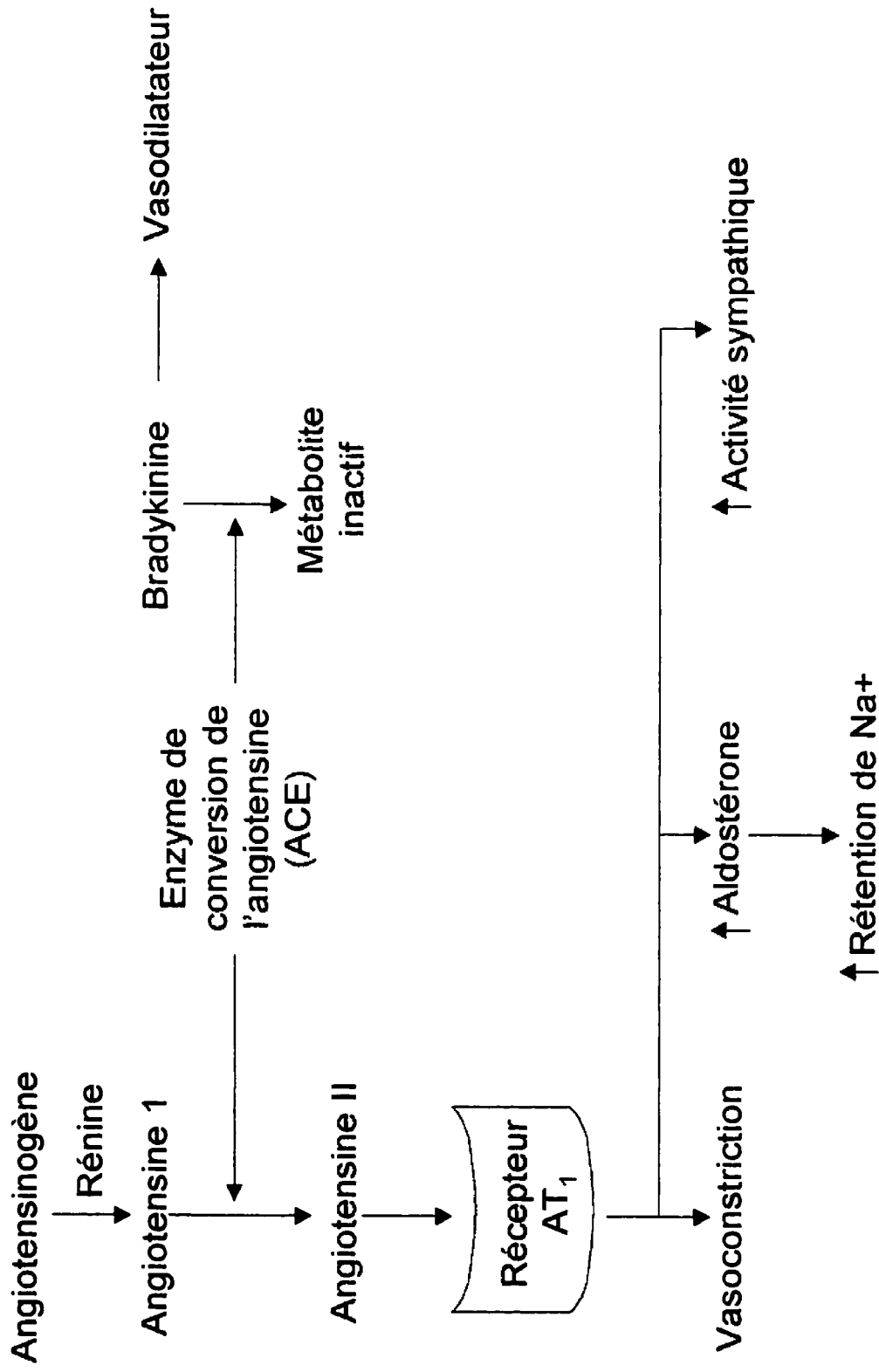


Figure 1. Le système rénine-angiotensine traditionnel. Adapté de Lilly, L. S. (1998). Pathophysiology of heart disease. Baltimore : Williams & Wilkins[®].

Formation d'angiotensine II

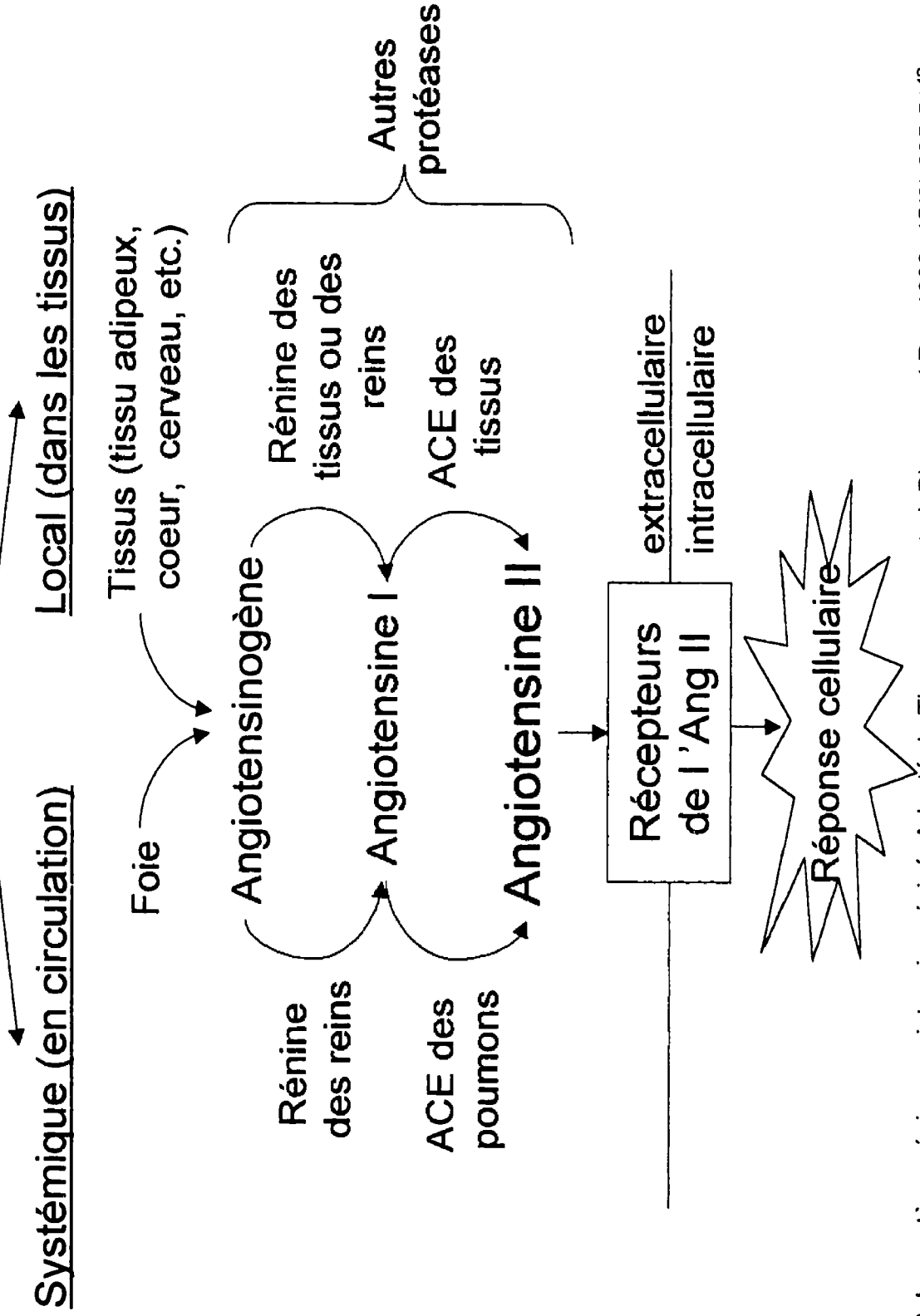


Figure 2. Le système rénine-angiotensine révisé. Adapté de Timmermans et al. Pharmacol Rev 1993; 45(2):205-51⁴⁶.

3.2 L'enzyme de conversion de l'angiotensine (ACE)

L'ACE, aussi appelé kininase II ou angioconvertase, est une dipeptidylcarboxypeptidase (EC 3.4.15.1) ayant comme fonction principale l'hydrolyse de l'Ang I en Ang II et l'inactivation de la bradykinine⁵⁰(figure 1). Ce dernier peptide ainsi que l'Ang II sont de puissants vasorégulateurs ayant des fonctions opposées sur le tonus vasculaire. L'ACE peut donc augmenter la tension artérielle de deux façons distinctes soit en inhibant la bradykinine, un puissant vasodilatateur, soit en synthétisant l'Ang II, un puissant vasoconstricteur. Les inhibiteurs de l'ACE (IACE) se sont avérés des agents pharmacologiques anti-hypertenseurs très efficaces^{51, 52}.

La présence de l'ACE est observée dans plusieurs tissus principalement sous forme d'ectoenzyme c'est-à-dire, liée à la membrane cellulaire et agissant à l'extérieur de la cellule. En effet, la molécule en question est une simple chaîne polypeptidique contenant deux domaines homologues qui ont des activités extracellulaires indépendantes. Toutefois, on retrouve aussi l'enzyme sous forme soluble en circulation. Il existe une grande variation interindividuelle des concentrations plasmatiques de l'ACE (jusqu'à 5 fois) mais la concentration est constante pour un même individu⁵³. Des analyses de ségrégation chez des familles nucléaires en santé ont suggéré l'effet d'un gène majeur expliquant en partie les variations interindividuelles de la concentration plasmatique de l'ACE⁵⁴.

Le gène de l'ACE a été cloné en 1988⁵⁵ et est localisé sur le chromosome 17, plus spécifiquement sur la bande 17q23⁵⁶. Plusieurs polymorphismes sont présents sur ce gène^{57, 58}. Le plus étudié est le polymorphisme insertion(I)/délétion(D) identifié par Rigat et collaborateurs⁵⁹. Il implique la présence ou l'absence de 287 paires de bases situées dans l'intron 16 du gène. Un individu peut donc être homozygote pour la délétion (DD), hétérozygote (ID) ou homozygote pour l'insertion (II). La fréquence des allèles varie considérablement entre les populations. À titre d'exemple, dans une méta-analyse, la prévalence de l'allèle D était de 37.2% chez les Japonais et de 56.2% chez les Caucasiens⁶⁰. Ce marqueur génétique, transmis de façon codominante, serait responsable d'environ 50% de la variabilité interindividuelle de la concentration plasmatique de l'ACE⁵⁹. En effet, le niveau plasmatique de l'ACE est environ deux fois

plus élevé chez les sujets DD comparativement au sujets II, alors que les sujets ID possèdent un niveau intermédiaire. Cette contribution génétique des niveaux de l'ACE est aussi observée chez les lymphocytes T humain⁶¹. Dans cette étude le niveau d'expression de l'ACE des cellules synthétisant l'enzyme est déterminé génétiquement. De même, Danser et collaborateurs⁴², démontrent que l'activité de l'ACE dans le tissu cardiaque est plus élevée chez les sujets DD comparativement aux autres sujets. Il est donc possible de conclure que la concentration plasmatique, le niveau d'expression de même que l'activité de l'ACE sont fortement influencés par le polymorphisme I/D. Par conséquent, il n'est pas surprenant d'observer que ce sujet a fait l'objet de nombreuses publications scientifiques.

Le polymorphisme I/D du gène de l'ACE a été associé à plusieurs conditions. Premièrement, comme les fonctions physiologiques de l'ACE affectent le métabolisme des peptides vasoactifs, le gène de l'ACE est un gène candidat pour étudier les mécanismes sous-jacents à l'hypertension. Toutefois, malgré certaines associations positives dans la littérature, le polymorphisme I/D ne semble pas expliquer les variations interindividuelles de la tension artérielle dans la population en général. Par contre, plusieurs chercheurs rapportent des associations positives entre l'hypertension et le polymorphisme I/D à l'intérieur de groupes plus homogènes (tableau 1). Deuxièmement, le génotype DD de l'ACE a été associé à plusieurs pathologies cardiaques incluant, les maladies coronariennes^{62,63}, l'hypertrophie ventriculaire gauche⁶⁴, la cardiomyopathie⁶⁵, la resténose postangioplastie ou après l'implantation d'une endoprothèse^{66,67} ainsi qu'à l'épaississement des vaisseaux sanguins⁶⁸. Par contre, ces associations demeurent controversées. De plus, cette variation génétique a aussi été associée à la maladie d'Alzheimer⁶⁹, au diabète de type 2⁷⁰, à la néphropathie diabétique⁷¹, à des problèmes rénaux⁷², au lupus érythémateux⁷³, à la performance cognitive⁷⁴ et à bien d'autres conditions. Ceci démontre bien le vaste champs d'intérêts concernant l'étude du polymorphisme I/D du gène de l'ACE. Dans le cadre de ce présent projet de recherche nous avons porté notre attention sur l'étude d'observations récentes qui rapportent une certaine influence du polymorphisme I/D sur la réponse à des traitements pharmacologiques et à des entraînements physiques.

Table 1. Le polymorphisme I/D et la tension artérielle selon le type d'étude, l'origine génétique et le sexe

Auteurs	Année	Type d'étude	Origine	# Sujets			Association D / I		
				All	M	F	All	M	F
Ashavaid et coll. ⁷⁵	2000	Cas/témoin	Inde	105/192			- / -		
Bedir et coll. ⁷⁶	1999	Cas/témoin	Turquie	165/143			- / - , association + dans certains sous-groupes		
Bengtsson et coll. ⁷⁰	1999	Transversale	Suède	2029			association + chez certains sous-groupes		
Berge et coll. ⁷⁷	1994	Transversale	Norvège	366	172	194	- / -		
		et Jumeaux		218 paires			- / -		
Cambien et coll. ⁶³	1992	Cas/témoin	France + Irlande	610/733			- / -		
Castellano et coll. ^{66*}	1995	Transversale	Italie	199			- / -		
Clarkson et coll. ⁷⁹	1997	Transversale	Ukraine	100			- / -		
Fornage et coll. ⁷⁹	1998	Linkage	Minnesota	1488	814	674	-	+	-
Hosoi et coll. ⁸⁰	1996	Transversale	Japon	288	160	128	- / -		
Iwai et coll. ⁸¹	1994	Cas/témoin	Japon	142/126	143	125	- / -	- / -	- / -
Jeunemaitre et coll. ⁸²	1992	Linkage	Utah et France	499	243	256	-		
Johnson et coll. ⁶³	1996	Cas/témoin	Australie	374/359			- / -		
Kanazawa et coll. ^{84†}	2000	Transversale	Japon		19			- / -	
Liu et coll. ⁸⁵	2000	Cas/témoin	Chine	114/75			- / -		
Marian et coll. ⁸⁶	2000	Transversale	Texas	364			- / -		
O'Donnell et coll. ⁸⁷	1998	Transversale	Massachusetts	3095	1445	1650		- / -	- / -
		et Linkage		1044				-	-
Oren et coll. ⁸⁸	1999	Transversale	Israéli					- / -	
Pamies Andreu et coll. ⁸⁶	1999	Cas/témoin	Espagne	251/245			- / -		
Rankinen et coll. ^{90†}	2000	Transversale	Multinational	476	229	247		- / -	- / -
Rice et coll. ⁸¹	2000	Linkage	Québec	679	294	385	-		
Schmidt et coll. ⁸²	1993	Familial	Allemagne	186			- / -		
Schunkert et coll. ⁸⁴	1994	Cas/témoin	Multinational	290/290	149	141	- / -		
Schunkert et coll. ⁸³	1996	Transversale	Allemagne		230	264		- / -	- / -
Stavroulakis et coll. ⁸⁴	2000	Transversale	Grèce	104	46	58	- / -		
Stefansson et coll. ⁸⁵	2000	Cas/témoin	Suède	74/85			association + dans certains sous-groupes		
Thomas et coll. ⁸⁶	2000	Cas/témoin	Chine	232/178			- / -		
Turner et coll. ⁸⁷	1999	Transversale	Minnesota	1875	887	988	- / -	- / -	- / -
							association + dans certains sous-groupes		
Uemura et coll. ⁸⁶	2000	Transversale	Japon		300			- / -	
Vasku et coll. ^{86*}	1999	Transversale	République Tchèque	243	119	124	association + dans certains sous-groupes		
Zee et coll. ¹⁰⁰	1992	Cas/témoin	Australie	80/93			- / -		

*Tension artérielle ambulatoire de 24 heures.

†Tension artérielle à l'effort.

SECTION 4

4.1 L'action modulatrice du polymorphisme I/D à des traitements pharmacologiques

Comme mentionné à la section 1, la pharmacogénétique est un domaine d'intérêt scientifique en pleine expansion. L'élaboration d'algorithmes thérapeutiques prenant en considération la prédisposition génétique de chacun des individus est essentiellement le but visé en pharmacogénétique afin de prescrire le traitement de choix. Le gène de l'ACE est un gène candidat pour ce concept, particulièrement en regard de l'utilisation des IACE. En effet, les caractéristiques du patient, le génotype de l'ACE, ainsi que l'IACE utilisé parmi l'assortiment existant se sont avérés d'importants facteurs à considérer lors du traitement¹⁰¹. Effectivement, la réduction de la tension artérielle avec l'utilisation du fusinopril dans une cohorte de sujets hypertendus semble être plus efficace chez les individus caractérisés par le génotype DD⁹⁴, tandis que l'effet réducteur du captopril semble être plus marqué chez les individus insuffisants cardiaques et porteurs du génotype II¹⁰¹. D'autre part, les individus avec le génotype DD semblent bénéficier davantage d'un traitement anti-hypertenseur⁶⁰ incluant lisinopril¹⁰² et enalapril¹⁰¹ pour traiter l'hypertrophie ventriculaire gauche. Par opposition, les sujets porteurs du génotype II profitent davantage d'un traitement ayant pour objectif d'influencer les paramètres des vaisseaux coronariens¹⁰³ et périphériques¹⁰⁴. Bref, la condition du patient, l'objectif du traitement et le génotype de l'ACE serviront, dans un avenir rapproché, d'outils sur le plan clinique afin d'optimiser le traitement en optant pour l'IACE répondant aux besoins spécifiques des individus.

Concernant le traitement des dyslipidémies, Marian et collaborateurs⁸⁶ ont rapporté un effet significatif du polymorphisme I/D du gène de l'ACE sur la réponse à un traitement hypolipidémiant de la classe des statines. En résumé, 364 sujets ont été traités avec de la fluvastatin ou un placebo pendant 2,5 ans. À la fin de l'intervention, ils ont observé chez le groupe traité, une réduction accentuée des concentrations plasmatiques du cholestérol total, du cholestérol-LDL et de l'apo B chez les sujets DD, comparativement à ceux porteurs des génotypes ID et II. Toutefois, cette étude demeure

jusqu'à présent unique en son genre et d'autres études doivent être effectuées afin de confirmer ces résultats. Dans cette optique, nous avons tenté de vérifier l'influence du polymorphisme I/D de l'ACE sur l'efficacité d'un traitement hypolipidémiant (gemfibrozil) chez un groupe d'hommes caractérisés par de l'obésité abdominale.

SECTION 5

5.1 Le polymorphisme I/D du gène de l'ACE et la performance physique

Depuis 1998, le polymorphisme I/D du gène de l'ACE attire l'attention comme marqueur de la performance athlétique et de la réponse à l'entraînement. Tout d'abord, des analyses d'association ont démontré une prévalence plus élevée de l'allèle I parmi les athlètes élités comparativement à un groupe contrôle (tableau 2). En effet, Montgomery et collaborateurs¹⁰⁵ ont observé une distribution génotypique et une fréquence allélique significativement différente entre un groupe de 25 alpinistes élités (ayant monté jusqu'à 7000m d'altitude sans supplémentation en oxygène) et un groupe contrôle, démontrant ainsi une incidence surnuméraire du génotype II et une sous représentation du génotype DD chez les alpinistes. De plus, parmi les 15 alpinistes ayant franchi 8000m d'altitude sans supplémentation en oxygène, aucun n'était homozygote pour la délétion. Cette étude démontre un avantage potentiel de posséder l'allèle I dans des conditions hypoxiques. Au cours de la même année, Gayagay et collaborateurs¹⁰⁶ ont rapporté la présence d'une sur-représentation de l'allèle I et du génotype II parmi 64 athlètes de l'équipe nationale australienne d'aviron en comparaison avec la population normale. Ils spéculent qu'une meilleure santé cardiovasculaire serait responsable de ces observations. De même, Hagberg et collaborateurs¹⁰⁷ ont mesuré la VO_2 max auprès de 47 femmes ménopausées et ont observé qu'elle est supérieure chez les femmes homozygotes pour l'insertion, intermédiaire chez les hétérozygotes ID et inférieure chez les femmes homozygotes DD. La variation de la VO_2 max observée entre les groupes était entièrement expliquée par une plus grande différence artériovéneuse et non par une augmentation du débit cardiaque. L'année suivante, Myerson et collaborateurs¹⁰⁸ ont démontré que la fréquence de l'allèle I augmente en fonction de la longueur de la discipline courue chez 91 coureurs de calibre olympique. Toutefois, ils n'observèrent aucune différence dans la fréquence allélique entre le groupe contrôle et les 404 autres athlètes de niveau olympique participant à des épreuves autres qu'en endurance. Ils suggèrent alors que le polymorphisme I/D est associé à la performance dans les sports d'endurance. Plus

récemment, Alvarez et collaborateurs¹⁰⁹ rapportaient que la fréquence de l'allèle I était plus élevée chez 60 athlètes professionnels incluant des cyclistes, des coureurs de longue distance et des joueurs de handball comparativement au groupe contrôle. Toutes ces études semblent véritablement associer le polymorphisme I/D du gène de l'ACE à la performance en endurance. À l'opposé, d'autres études ont rapporté des résultats négatifs. Effectivement, Taylor et collaborateurs¹¹⁰ ne rapportent aucune différence dans la fréquence génotypique de l'ACE entre un groupe contrôle et un groupe de 120 athlètes de l'équipe nationale australienne pratiquant des sports demandant une grande capacité cardiorespiratoire. Récemment, Rankinen et collaborateurs¹¹¹ n'ont rapporté aucune différence dans la fréquence génotypique et allélique entre un groupe contrôle et un groupe d'athlètes ayant une $VO_2\text{max}$ supérieure à 75 mlO₂/kg/min. En conclusion, même si plusieurs études ont rapporté une association positive entre la présence de l'allèle I et la performance athlétique, les deux études réalisées auprès de plus grandes cohortes de sujets (Taillor et coll.¹¹⁰, Rankinen et coll.¹¹¹) n'ont pas confirmé cette association.

5.2 Le polymorphisme I/D du gène de l'ACE et la réponse à l'entraînement physique

Plusieurs chercheurs ont investigué l'influence du polymorphisme I/D du gène de l'ACE sur la réponse à un programme d'entraînement physique (tableau 2). Montgomery et collaborateurs¹⁰⁵ ont évalué la durée pendant laquelle des hommes (n = 78) maintiennent un rythme constant de flexion de l'avant-bras avec poids et haltères, avant et après dix semaines d'entraînement. Ils notent que les sujets II ont une amélioration en moyenne 11 fois supérieure aux sujets DD. Ils spéculent que l'amélioration est due à une plus grande augmentation de l'endurance des muscles testés. L'année suivante, les chercheurs de ce même groupe¹¹² ont démontré que les sujets II ont une meilleure réponse anabolique suivant un programme d'exercice intense d'une durée de dix semaines. En effets, les résultats démontrent que les sujets II ont une plus grande augmentation de masse maigre et semble être plus résistants à perdre de la masse grasse que les individus porteurs de l'allèle D. L'augmentation observée au niveau de

la masse maigre (i.e. muscle squelettique) chez les sujets II va à l'encontre de ce qui a été observé au niveau du muscle cardiaque. Effectivement, il est bien établi que les athlètes qui participent à des épreuves d'endurance et qui sont porteurs de l'allèle D ont un ventricule gauche hypertrophié¹¹³ et, qu'en réponse à un programme d'entraînement standardisé, on observe une augmentation accentuée du ventricule gauche^{114, 115} chez les sujets porteurs de la délétion. Ces résultats suggèrent que le polymorphisme I/D du gène de l'ACE influence les effets d'un programme d'entraînement sur les cellules musculaires squelettiques et cardiaques de façon différente. Toutefois, d'autres études doivent être réalisées afin de confirmer l'interaction entre l'entraînement et les génotypes de l'ACE sur la masse maigre. Récemment, Williams et collaborateurs¹¹⁶ ont démontré, suite à un programme d'entraînement (principalement aérobie) de 11 semaines, que les changements au niveau de l'efficacité mécanique étaient dépendants du génotype de l'ACE dans une cohorte de 58 hommes. En effet, les changements relatifs observés étaient de 8.6% chez les sujets II et de -0.4% chez les sujets DD. Les auteurs ont spéculé sur les différents mécanismes pouvant affecter la fibre musculaire comme une diminution plus accentuée des protéines découplantes ou une concentration d'oxyde nitrique plus élevée chez les homozygotes II. Dans l'ensemble, ces résultats supportent une association potentielle entre l'allèle I et la performance. Toutefois, des résultats contradictoires ont été rapportés par certains groupes de recherche. Dans une étude récente, Folland et collaborateurs¹¹⁷ ont démontré, dans une cohorte de 33 hommes participant à un programme d'exercice en résistance musculaire, une plus grande augmentation de la force musculaire isométrique chez les sujets porteurs de l'allèle D. Dans une autre étude, Rankinen et collaborateurs¹¹⁸, ont rapporté auprès des sujets ayant participé à l'étude HERITAGE, aucune association entre le polymorphisme I/D du gène de l'ACE et certains indices de la condition cardiovasculaire suivant un programme d'entraînement en endurance de 20 semaines. Toutefois quelques associations positives favorisant l'allèle D ont été observées chez la génération des enfants Caucasiens. Dans ce groupe plus homogène, ils ont observé une plus grande augmentation de la VO_{2max} et une diminution plus marquée de la fréquence cardiaque lors d'un effort sous-maximal (50 watts) chez les

individus DD, comparativement aux individus II. Dans cette étude, ils n'ont pas été en mesure de démontrer que l'amélioration de la condition physique est dépendante du génotype chez les sujets originalement sédentaires. Par ailleurs, Hagberg et collaborateurs¹¹⁹ ont rapporté une plus grande diminution de la tension artérielle chez les sujets porteurs de l'allèle I comparativement aux sujets DD dans un groupe de 18 obèses hypertendus suivant un programme d'entraînement en endurance d'une durée de neuf mois. À l'opposé, l'analyse des résultats provenant de la cohorte HERITAGE⁹⁰ ne démontre aucune différence au niveau des changements de tension artérielle entre les génotypes de l'ACE, à l'exception d'une réponse artérielle diastolique réduite, lors d'un effort sous-maximal (50 watts), chez les sujets DD.

Tableau 2. Caractéristiques et résultats des études rapportant les effets du polymorphisme I/D du gène de l'enzyme de conversion de l'angiotensine sur les paramètres d'entraînements et de performance.

Auteurs	Année	Types d'études	#	Sujets	Résultats	Effet I/D
Montgomery et coll. ⁷¹	1998	Association	25	Alpinistes	Excès de génotype II et déficience de génotype DD parmi les alpinistes.	- / -
Gayagay et coll. ⁷²	1998	Association	64	Athlètes d'aviron	Excès d'allèle I et de génotype II chez les rameurs.	- / -
Hagberg et coll. ⁷³	1998	Association	47	Femmes ménopausées	La valeur de la VO ₂ max est supérieure chez les II, intermédiaire chez les ID et inférieure chez les DD.	- / -
Myerson et coll. ⁷⁴	1999	Association	91	Coureurs de standard Olympique	La fréquence de l'allèle I augmente avec la distance de la discipline courue.	- /
Alvarez et coll. ⁷⁵	2000	Association	60	Athlètes professionnels	La fréquence de l'allèle I est plus élevé chez les athlètes.	- / -
Taylor et coll. ⁷⁶	1999	Association	120	Athlètes nationaux australiens	Aucune différence dans la fréquence génotypique de l'ACE entre athlètes et contrôles.	- / -
Rankinen et coll. ⁷⁷	2000	Association	192	Athlètes avec VO ₂ max ≥ 75 ml/kg/min	Aucune différence dans la fréquence génotypique ou allélique entre athlètes et contrôles.	- / -
Montgomery et coll. ⁷¹	1998	Expérimentale*	78	Militaires	Amélioration 11 fois plus élevée chez les II vs DD sur un test d'endurance musculaire.	- / -
Montgomery et coll. ⁷⁸	1999	Expérimentale	81	Militaires	Réponse anabolique plus élevée chez le génotype II comparativement aux autres.	- / -
Williams et coll. ⁸²	2000	Expérimentale	58	Militaires	Plus grande amélioration de l'efficacité mécanique chez le génotype II vs DD.	- / -
Folland et coll. ⁶³	2000	Expérimentale	33	Hommes en santé	Gain de force plus élevé chez les porteurs de l'allèle D.	- / -
Rankinen et coll. ⁸⁴	2000	Expérimentale	724	Sédentaires	Changements des paramètres de condition cardiovasculaire similaires entre génotypes, sauf les enfants Caucasiens où l'allèle D semble conférer un avantage.	- / - ou - / -
Hagberg et coll. ⁸⁵	1999	Expérimentale	18	Obèses hypertendus	Diminution de la tension artérielle plus marquée chez les porteurs de l'allèle I.	- / -
Rankinen et coll. ⁴⁶	2000	Expérimentale	476	Sédentaires normotendus	Changements de tension artérielle au repos et à l'exercice similaire entre génotype, sauf la tension artérielle diastolique à 50 watts chez les hommes qui était davantage réduit chez les sujets DD.	- / - ou - / -

*Vérifie l'influence du polymorphisme I/D sur la réponse à l'entraînement.

SECTION 6

6.1 Description du Programme d'intervention

L'étude «Gemfibrozil-Exercice-Lipide» (GEL) avait pour but d'étudier l'efficacité d'un hypolipidémiant de la classe des fibrates (gemfibrozil, 600 mg b.i.d.) chez des hommes asymptomatiques et dyslipidémiques. Cette étude a double insu a débuté en 1995 et s'est terminée en 1997. La durée totale du protocole était d'une durée de un an. Suivant la première période d'évaluation, les participants étaient assignés aléatoirement à un groupe traité au gemfibrozil ou à un groupe placebo. Les deux groupes devaient suivre la diète de phase 1 du programme national d'éducation sur le cholestérol (NCEP) durant toute la durée de l'intervention. Les recommandations alimentaires étaient prescrites sur une base individuelle par une diététiste certifiée. À la fin des premiers six mois, une deuxième évaluation complète a été effectuée. Suivant cette étape, tous les participants ont débuté un programme d'exercice en endurance d'une durée de six mois qui constituait la deuxième phase du programme d'intervention. Au total, 90 sessions comptant 5085 minutes d'exercice d'intensité modérée ont été effectuées. Suivant ces derniers six mois, une troisième évaluation complète a été réalisée. Soixante et onze hommes ont débuté l'étude. Soixante-cinq sujets ont complété les six premiers mois alors que 47 parmi eux ont complété les derniers six mois. Le programme d'intervention est résumé à la figure 3.

Programme d'intervention

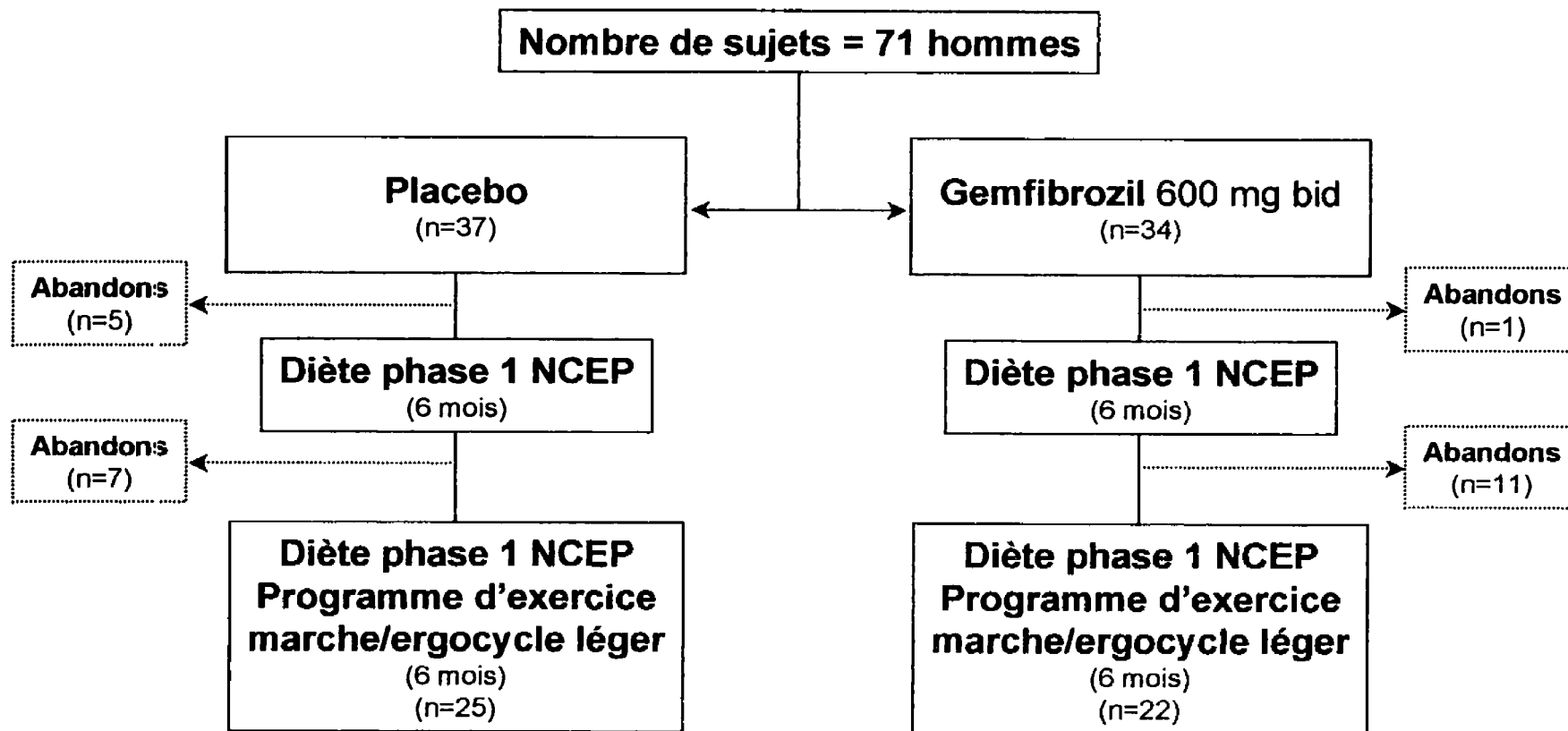


Figure 3. Le programme d'intervention Gemfibrozil-Exercice-Lipide.

6.2 L'approche du gène candidat

L'approche expérimentale utilisée dans ce mémoire est celle du gène candidat. L'objectif était de vérifier l'impact d'un seul gène sur un phénotype donné. Idéalement, il faut identifier un gène biologiquement impliqué dans le phénotype d'intérêt. Par la suite, les participants seront séparés en fonction d'un marqueur polymorphe dans la séquence d'ADN de ce gène. Pour ce faire, les variations génétiques dans le gène sont étudiées et un marqueur particulier est choisi. Suivant cette étape, le génotype de chaque sujet peut être déterminé par différentes techniques dont la plus utilisée est celle de la réaction de polymérisation en chaîne (PCR) suivie d'une digestion avec l'enzyme de restriction appropriée. Finalement, à l'aide d'analyses statistiques, les valeurs phénotypiques moyennes sont comparées entre les individus de différents génotypes pour le marqueur choisi. Les analyses peuvent aussi être effectuées sur les valeurs phénotypiques moyennes entre les porteurs et les non-porteurs d'un allèle du marqueur. Cette approche permet d'établir la présence ou l'absence de relation entre les génotypes et les phénotypes dans une population.

Une relation positive suggère que le marqueur génétique est vraiment responsable de la variation phénotypique. Un tel résultat peut être interprété de deux façons. Premièrement, le marqueur génétique étudié appartient vraiment à l'allèle qui cause la variation phénotypique. Dans un tel cas, l'association positive entre le marqueur et le trait devrait être observée dans toutes les populations étudiées. Deuxièmement, le marqueur génétique est en déséquilibre de liaison avec un autre allèle responsable de l'association dans la même région chromosomique. Un déséquilibre de liaison survient lorsque l'allèle responsable d'un trait est transmis par coségrégation avec le marqueur étudié. Dans un tel cas, l'association positive est une propriété de la population étudiée et ne peut être généralisée.

L'approche du gène candidat est efficace pour identifier les gènes ayant une contribution majeure au phénotype. Pour un trait quantitatif, qui est le résultat de l'effet additif de plusieurs gènes, les gènes ayant une faible contribution au phénotype ont moins de chances d'être détectés par l'approche du gène candidat, particulièrement dans les cohortes ayant un nombre restreint de sujets. Il faut aussi préciser que cette

approche expérimentale détermine la contribution génétique d'un seul gène et non la composante génétique du phénotype.

6.3 Techniques utilisées pour la détermination du génotype

La technique de réaction de polymérisation en chaîne (PCR) a été utilisée pour déterminer les génotypes. Il s'agit d'une technique d'amplification génétique dérivée de celle du transfert-hybridation Southern. Elle a l'avantage d'être beaucoup plus rapide et d'être complètement automatisée. Le principe de base est d'amplifier un fragment d'ADN d'intérêt afin d'obtenir suffisamment de copies pour qu'il puisse être visualisé sans hybridation. Cet objectif est atteint par plusieurs cycles de trois étapes, incluant la dénaturation, l'hybridation des amorces et l'élongation. La dénaturation implique la séparation des deux brins d'ADN. Pour ce faire, l'ADN est chauffé à une température d'environ 95°C pendant 20 à 60 secondes. Par la suite, la température est réduite afin de permettre aux amorces, qui sont des petits bouts d'ADN complémentaires à la séquence à amplifier, de s'hybrider à la séquence d'intérêt. Finalement, les séquences complémentaires des brins étalons sont synthétisées par l'enzyme thermosensible : Taq polymérase. Cette extension des amorces hybridées s'effectue à une température d'environ 72°C. Suivant cette étape, un nouveau cycle recommence (dénaturation, hybridation des amorces et élongation). Chaque cycle double la quantité de brins d'ADN voulus du cycle précédent. Si le cycle est répété x fois le brin d'ADN d'intérêt sera amplifié 2^x .

Le produit final est par la suite digéré avec l'enzyme de restriction appropriée avant d'être déposé sur gel poreux pour être séparé par électrophorèse. Cette technique sépare les fragments selon leur longueur. Les fragments les plus petits vont migrer plus rapidement dans le gel et ainsi se retrouver à une distance plus éloignée du point d'origine. Lorsque l'électrophorèse est terminée, l'ADN est coloré au bromure d'éthidium et photographié aux rayons ultra-violet. Le résultat nous permet de lire les génotypes de chacun des individus. Pour le polymorphisme I/D du gène de l'ACE, l'étape impliquant la coupure du fragment d'ADN avec l'enzyme de restriction est

éliminée. Il faut simplement amplifier et migrer le fragment d'intérêt pour ensuite vérifier la présence ou l'absence de l'insertion.

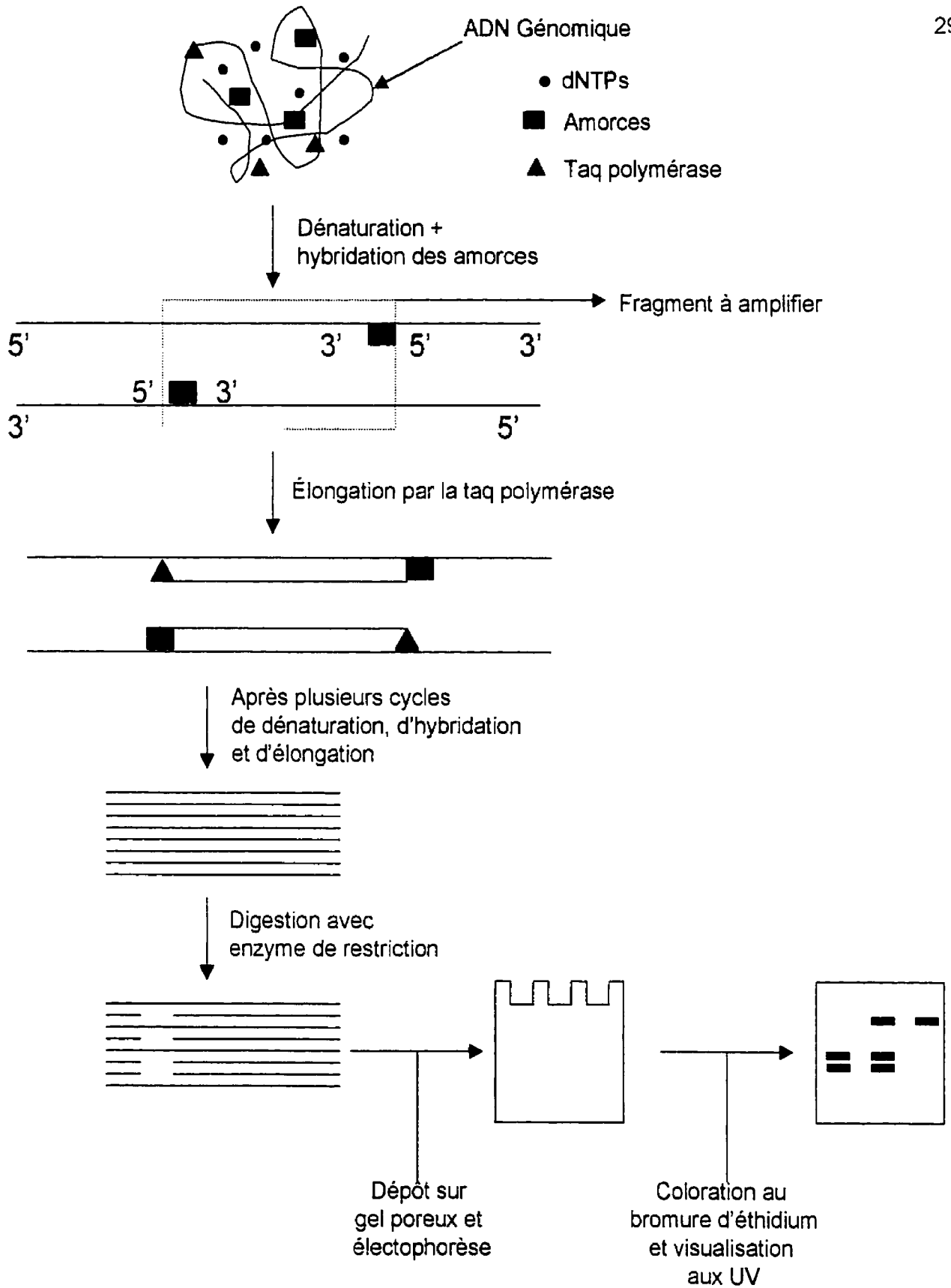


Figure 4. Amplification PCR suivie d'une digestion avec une enzyme de restriction.

SECTION 7

7.1 Objectifs de la première étude

En considérant l'intérêt envers la pharmacogénétique et l'effet potentiel du polymorphisme I/D du gène de l'ACE sur un traitement hypolipidémiant nous avons entrepris cette première étude. L'objectif était de vérifier, dans un premier temps, l'association entre les génotypes de l'ACE et les niveaux de lipides et lipoprotéines plasmatiques chez un groupe d'hommes dyslipidémiques. Le second objectif était d'étudier l'influence de cette variation génétique sur l'efficacité du gemfibrozil dans cette cohorte après les premiers six mois du protocole d'intervention. Le chapitre 2 de ce mémoire présente le manuscrit résumant les résultats de cette étude.

7.2 Objectifs de la seconde étude

L'analyse de la littérature indique qu'il existe de la controverse concernant l'influence du génotype de l'ACE sur la réponse à l'exercice. L'objectif de la deuxième étude était de vérifier l'influence du polymorphisme I/D du gène de l'ACE sur l'effet d'un entraînement en endurance sur la composition corporelle, la distribution des graisses et la tension artérielle chez des hommes caractérisés par le syndrome dyslipidémique de l'obésité viscérale. En second lieu, des analyses statistiques ont été effectuées afin de vérifier l'interaction possible entre le polymorphisme I/D du gène de l'ACE et l'effet du gemfibrozil sur les changements de lipides et de lipoprotéines plasmatiques. Le chapitre 3 est consacré à ces objectifs.

CHAPITRE 2

Influence du polymorphisme insertion/délétion du gène de l'enzyme de conversion de l'angiotensine sur l'efficacité d'un traitement hypolipidémiant avec le gemfibrozil.

L'efficacité thérapeutique du gemfibrozil, un agent de la classe des fibrates, à diminuer les concentrations plasmatiques des triglycérides et à augmenter les concentrations de cholestérol des lipoprotéines de haute densité, le place parmi les meilleurs agents hypolipidémiants. Récemment, il a été rapporté que le polymorphisme I/D du gène de l'ACE influence l'efficacité d'un traitement hypocholestérolémiant avec la fluvastatin. Dans le but d'évaluer l'interaction possible entre l'effet du gemfibrozil et le polymorphisme I/D du gène de l'ACE sur les niveaux de lipides et de lipoprotéines plasmatiques, une cohorte comprenant 65 hommes (âge : 45.2 ± 6.3 ans; IMC : 31.3 ± 2.8 kg/m²; circonférence de taille : 104.4 ± 7.3 cm; moyenne \pm écart type) caractérisés par le syndrome dyslipidémique associé à l'obésité abdominale ont été exposés à un programme d'intervention d'une durée de six mois, incluant des recommandations alimentaires avec ou sans la prise de gemfibrozil (600 mg bid). Aucune différence significative n'a été observée au niveau des valeurs initiales des lipides et des lipoprotéines plasmatiques entre les groupes génotypiques à l'exception de la

concentration plasmatique du cholestérol-HDL₃ qui était plus élevée dans le groupe DD ($p = 0.02$). Les analyses effectuées dans le groupe placebo et le groupe gemfibrozil, n'ont révélé aucune différence significative entre les génotypes concernant les changements de lipides et de lipoprotéines plasmatiques. Par contre, une tendance a été observée pour les niveaux plasmatiques de cholestérol-VLDL et de cholestérol-HDL dans le groupe placebo et gemfibrozil respectivement ($p = 0.05$ et 0.07). Finalement, nous avons observé une interaction significative entre le génotype de l'ACE et le traitement ($p = 0.04$) qui explique 7,8% de la variance totale notée au niveau des changements dans les concentrations plasmatiques de cholestérol-HDL. En conclusion, cette étude démontre pour la première fois que le polymorphisme I/D du gène de l'ACE influence l'action modulatrice du gemfibrozil sur les concentrations plasmatiques de cholestérol-HDL. Toutefois, en raison de certaines limitations associées à la présente étude, ces résultats doivent être validés auprès de plus grands échantillons de sujets.

THE HDL CHOLESTEROL RESPONSE TO GEMFIBROZIL IS MODULATED BY THE ANGIOTENSIN-CONVERTING ENZYME GENE INSERTION/DELETION POLYMORPHISM

Yohan Bossé^a, Marie-Claude Vohl^{b,c}, Martine Dumont^a, Martin Brochu^d, Jean Bergeron^b, Jean-Pierre Després^{b,c,e}, Denis Prud'homme^f

^aPhysical Activity Sciences Laboratory, Kinesiology Division, Department of Social and Preventive Medicine, ^bLipid Research Center, CHUL Research Center, ^cFood Sciences and Nutrition Department, Laval University, Québec, Canada; ^dDepartment of Kinesiology, University of Montreal, ^ethe Quebec Heart Institute, Québec; ^fHuman Kinetics, Faculty of Health Sciences, University of Ottawa, Ontario, Canada.

This study was supported by Parke Davis / Warner-Lambert Canada Inc. and by the Natural Sciences and Engineering Research Council of Canada

Short title: ACE I/D polymorphism and HDL-C response to gemfibrozil

Keywords : gemfibrozil, ACE I/D polymorphism, HDL-cholesterol, visceral obesity

Address all correspondence to : Denis Prud'homme, MD, MSc.
Director, School of Human Kinetics
Faculty of Health Sciences
University of Ottawa
125 University St. P.O. Box 450, Station A
Ottawa, Ontario
K1N 6N5, Canada
Tel : (613) 562-5851
Fax : (613) 562-5149
e-mail : denisp@uottawa.ca

Abstract

Evidence suggests that fibrate therapy reduces the risk of recurrent CHD among men with low high-density lipoprotein cholesterol (HDL-C) levels, this beneficial effect being partly mediated by the related increase in HDL-C. Recent studies have suggested that the angiotensin-converting enzyme (ACE) insertion/deletion (I/D) polymorphism may modulate the hypocholesterolemic response to statin therapy. To assess the possible interaction between fibrate therapy and such variant on plasma lipid and lipoprotein levels, a sample of 65 dyslipidemic abdominally obese men were treated for 6-months with or without gemfibrozil (600mg bid). No difference in baseline plasma lipid and lipoprotein levels were found between genotype groups except for HDL₃-C subfraction which was higher in the DD group ($p = 0.015$). No significant difference were noted in both placebo and gemfibrozil group according to the ACE genotype. Although trends were noticed for very low-density lipoprotein (VLDL)-C in placebo group ($p = 0.051$) and for HDL-C in gemfibrozil group ($p = 0.072$). Finally, there was a significant genotype-by-treatment interaction ($p = 0.037$) which explained 7.8% of the total variance of the plasma HDL-C response to treatment. Results of the present study suggest that the ACE I/D polymorphism influences the effect of gemfibrozil on plasma HDL-C levels.

Introduction

It has been shown that gemfibrozil, a fibric acid derivative, is an effective lipid-modifying agent with clinical benefits in both primary- and secondary-prevention trial (Manninen et al., 1988; Rubins et al., 1999). Despite its marginal impact on plasma low-density lipoprotein cholesterol (LDL-C) levels, it significantly increases plasma high-density lipoprotein cholesterol (HDL-C) concentrations while substantially decreasing plasma triglyceride levels. Although fibrate is the preferred class of drugs to increase HDL-C levels among patients with low HDL-C concentration, there is documented individual variation in plasma HDL-C response to different treatment intervention, including endurance exercise training (Despres et al., 1988), dietary intervention (Ordovas et al., 1995) and drug therapy (Cholerton et al., 1992) which appears to be influenced by genetic factors. For instance, a previous investigation has demonstrated that the individual response to gemfibrozil could be partly explained by polymorphisms in genes coding for apolipoprotein (apo)B and apoA1/CIII (Aalto-Setälä et al., 1991).

An interaction between the angiotensin-converting enzyme (ACE) I/D polymorphism and the plasma lipoprotein response to fluvastatin, a HMG-CoA reductase, inhibitor has been reported (Marian et al., 2000). According to this study, subjects with the DD genotype had a greater reduction in plasma cholesterol, LDL-C and apoB levels compared to the other ACE genotypes with the fluvastatin. This genetic variant, located in intron 16 of the ACE gene, is known to account for up to 50% of the individual variability of plasma ACE concentrations (Rigat et al., 1990). Since its identification, the ACE I/D polymorphism has been associated in several clinical outcomes including hypertension (Turner et al., 1999), myocardial infarction (Samani et al., 1996), left ventricular hypertrophy (Schunkert, 1998), vascular restenosis after angioplasty and stent implantation (Bauters et al., 1999), nephropathy in diabetic patients (Marre et al., 2000), Alzheimer disease (Amouyel et al., 2000) and athletic performance (Woods et al., 2000). Furthermore, this polymorphism has been shown to modulate the response to ACE inhibitors. For instance, carriers of the "I" allele appear to be more sensitive to imidapril (Okamura et al., 1999) and quinapril (Anderson et al.,

2000). Thus, these findings suggest a role of the I/D polymorphism in the modulation of the response to some pharmacological agents aimed at the improvement of atherogenic complication (blood pressure, lipid-lipoprotein profile).

Some positive associations have been observed between the ACE I/D polymorphism and total cholesterol (Suzuki et al., 1996), LDL-C (Oren et al., 1999), triglyceride (Suzuki, et al., 1996), Lp(a) (Badenhop et al., 1995; Kobayashi et al., 1999; Pamies Andreu et al., 1999) and apo A1 (Berge and Berg, 1997) levels. The objectives of the present study were : 1- to document the association of the ACE I/D polymorphism to plasma lipoprotein-lipid levels, in a group of abdominally-obese dyslipidemic men; 2- to examine the potential interaction between the ACE I/D polymorphism and the plasma lipoprotein/lipid response to gemfibrozil therapy.

Materials and methods

Subjects

Subjects were asymptomatic volunteers who had to fulfill the following criteria. Men had to be between 25 and 55 years of age willing to follow a 6-month-intervention program including the NCEP Phase 1 dietary guidelines with or without gemfibrozil. Their body mass index (BMI) had to be between 27 and 40 kg/m². Patients had to be 1) weight stable (\pm 4 kg) for at least two months, 2) non diabetic (2-h postglucose load < 11.1 mmol/L), 3) sedentary (active less than one session of 30 min of moderate exercise per week), and 4) characterised by a dyslipidemic state (triglycerides \geq 1.7 mmol/L but \leq 5.7 mmol/L; HDL-C \leq 1.2 mmol/L and total plasma cholesterol < 6.7 mmol/L). The study was approved by the Medical Ethics Committee of Laval University. All subjects gave their informed written consent to participate in this study.

Study design

After having completed their baseline measurements, 71 subjects were randomly assigned to either receiving a placebo or gemfibrozil 600 mg bid along with dietary recommendations. Placebo- or gemfibrozil-treated subjects received dietary recommendations from a registered dietician. They were instructed to follow the NCEP Phase 1 diet for the duration (6 months) of the study. During this period, they were asked to individually meet the study dietician on a monthly basis. Drug safety was assessed every four weeks by the physician in charge of the project. Subjects were tested at baseline and at the end of the 6-month intervention protocol. During that period, there were 6 abandoned (5 placebo and 1 gemfibrozil). The reasons mentioned were the lack of compliance, moving to another city or diabetes development. We thus ended-up with a total of 65 subjects who completed the trial.

Lipids and lipoproteins

Fasting blood samples were collected for the measurement of plasma lipid and lipoprotein levels. Plasma cholesterol (Allain et al., 1974) and triglyceride (Fossati and

Prencipe, 1982) concentrations were determined using a Technicon RA-500 (Bayer Corporation, Tarrytown, NY) and enzymatic reagents obtained from Randox (Randox Laboratories Canada Ltd, Mississauga, ON). Very low-density plasma lipoproteins (VLDL, $d < 1.006$ g/ml) were isolated by ultracentrifugation (Havel, 1955), and the HDL fraction was obtained after precipitation of LDL in the infranatant ($d > 1.006$ g/ml) with heparin and $MnCl_2$ (Burstein and Samaille, 1960). The cholesterol content of the infranatant fraction was measured before and after the precipitation step for the measurement of HDL-C and for the calculation of LDL-C. Apo B concentration was measured in plasma and LDL apo B was measured in the infranatant by the rocket immunoelectrophoretic method of Laurell (Laurell, 1966), as previously described (Moorjani et al., 1987). Lyophilized serum standards for apo B measurements were prepared in our laboratory and calibrated with reference standards obtained from the Centers for Disease Control (Atlanta, GA). Coefficients of variation for cholesterol, HDL-C and triglyceride concentrations were less than 3% and for apo B100 measurement less than 5%.

Anthropometry and body composition

Body density was measured by the hydrostatic weighing technique (Behnke and Wilmore, 1974). Pulmonary residual volume was assessed before immersion in the hydrostatic tank, using the helium dilution technique of Meneely and Kaltreider (Meneely, 1949). Percentage of body fat was derived from body density using the equation of Siri (Siri, 1956). Body weight, height and waist circumference were measured following standardised procedures (The Airlie (VA) Consensus Conference. In: Lohman, 1988).

Blood pressure

Subjects also underwent systolic and diastolic blood pressure measurements with a mercury sphygmomanometer. They were asked to sit in a comfortable position and stay quiet for 12 minutes. An appropriate cuff was placed on the subject's right arm with the bladder centered over the brachial artery. Systolic blood pressure was considered

as the first detectable sound, whereas the diastolic blood pressure was measured at the disappearance of Korotkoff's sounds. The blood pressure value was the mean of two different visits and each visit included three measurements taken at 5, 8 and 11 minutes.

DNA analysis

Approximately 30 ml of peripheral venous blood were collected in tubes containing EDTA and kept frozen at -20°C until processing. DNA was isolated from leukocytes by standard technique. ACE genotype was determined by use of three-primer PCR amplification (Evans et al., 1994), which is more accurate (Shanmugam et al., 1993) than the two-primer system (Rigat et al., 1992). Reactions were performed in a Perkin-Elmer Cetus thermal cycler (model TC). After an initial denaturation at 95°C for 3 min, the DNA was amplified during 30 cycles of 95°C for 1 min, 60°C for 30 sec and 72°C for 1 min, followed by a final extension at 72°C for 10 min. The products were then separated by electrophoresis using 1% agarose gels and visualized under UV lights after ethidium bromide coloration.

Statistical analyses

The distribution of scores for each variable was verified and variables abnormally distributed were \log_{10} transformed prior to analysis. Variables at baseline that underwent such transformation included: weight, BMI, free fat mass, cholesterol/HDL-C ratio, VLDL-C and triglycerides. The difference in response between genotype groups was assessed by a two-tailed unpaired Student's t-test. To evaluate whether the ACE I/D genotype may interact with gemfibrozil treatment, we performed an ANOVA and then computed the source of variation in lipoprotein/lipid profile using the type III sum of squares. This sum of squares applies to unbalanced study designs and quantifies the effects of an independent variable after adjustment for all other variables included in the model. To test the Hardy-Weinberg equilibrium, genotype distribution was compared by the use of a chi-square test. All statistical analyses were performed using the SAS package (SAS Institute, Cary, NC) and statistically significant difference was defined as $p < 0.05$.

Results

A total of 71 eligible men agreed to participate to the intervention program. There was no difference in the genotype distribution between the initial cohort [II, 11 (15.5%); ID, 36 (50.7%); DD, 24 (33.8%)] and the 65 subjects who remained in the study [II, 10 (15.4%); ID, 34 (52.3%); DD, 21 (32.3%)]. The genotype distribution also showed a Hardy-Weinberg equilibrium (χ^2 : $p = 0.3$). The baseline characteristics of subjects according to genotype are shown in Table 1. For the statistical analysis, carriers of the "I" allele were compared to DD homozygotes. No significant difference was observed between the two genotype groups, for body composition variables and resting systolic and diastolic blood pressures. Similar conclusions were reached for plasma lipid and lipoprotein levels with exception of HDL₃-C levels, which were significantly higher in the DD group. When the three genotype groups were analysed separately (II vs ID vs DD), a similar lack of difference was observed.

Table 1 about here

Changes in lipid and lipoprotein levels in the placebo and gemfibrozil treatment groups according to the ACE I/D genotype are presented in Table 2. In response to fibrate therapy, a tendency toward a greater increase in HDL-C levels was observed in the DD group but it did not reach statistical significance. In the placebo group, the VLDL-C lowering response in I allele carriers group was significantly different from the increase in DD group ($p = 0.05$).

Table 2 about here

Whether the ACE I/D polymorphism may modulate the effectiveness of gemfibrozil was tested by analysis of variance. Results presented in Table 3 show two

main effects, namely the genotype and the treatment effects, as well as the interaction between these two independent variables. As expected fibrate therapy had a statistically significant effects on plasma lipoprotein/lipid changes, more specifically triglycerides, total cholesterol, VLDL-C, HDL-C, HDL₃-C and the cholesterol/HDL-C ratio. The ACE I/D polymorphism by itself did not have a significant impact in this model although a trend was observed for changes in plasma HDL-C and HDL₃-C concentrations. However, a significant genotype-by-treatment interaction was observed for changes in plasma HDL-C levels. This finding suggests that the ACE I/D polymorphism may influence HDL-C response to fibrate therapy. When fibrate therapy and the ACE I/D genotype interaction was considered, 32.1% of the total variance of plasma HDL-C change was explained by this phenomenon (Figure 1). It appears that in the sample studied, 24,3% of the variation in HDL-C response was determined by fibrate therapy itself whereas 7,8% of the variance was attributable to the effect of the interaction between the ACE I/D genotype and gemfibrozil therapy.

Table 3 about here

Figure 1 about here

Discussion

To the best of our knowledge, our study is the first to report the influence of the ACE I/D polymorphism on the HDL-C response to fibrate therapy. Men with the ACE DD genotype tended to exhibit a greater increase in plasma HDL-C levels than those carrying the I allele. In the 33 men treated with gemfibrozil, we observed a mean HDL-C increase of 14% and 7% in ACE DD genotype and I allele carriers, respectively. For comparison, a 6% increase in plasma HDL-C levels has been observed with gemfibrozil treatment over a one year in the Veterans Affairs High-Density Lipoprotein Cholesterol Intervention Trial (VA-HIT study), a secondary-prevention trial (Rubins, et al., 1999). The magnitude of the HDL-C increase in the present study remains in the range of what could be expected with fibrate therapy (Rubins et al., 1993). However, our results have to be interpreted with caution due to the small number of subjects included in the study. The sample size upon which the present study is based does not have sufficient power to ascertain whether the ACE I/D polymorphism is acting as an independent factor on the HDL-C response to gemfibrozil. However, some aspects of our study deserve discussion. Firstly, this is an intervention study which assessed changes in the plasma lipoprotein/lipid profile, a design which considers possible baseline differences between genotypic groups. Secondly, several criterias were used to include participants in this study which eliminated several confounding factors (see materials and methods). Third, the intervention duration allowed sufficient exposure to gemfibrozil treatment to elicit clinically significant changes in plasma HDL-C and triglyceride levels (Avogaro et al., 1995). Finally, all the phenotype measurements were under standardised conditions. However, we cannot rule out the possibility of a false positive observation (type 1 error), which is expected in 1 out of 20 analyses when p-values less than 0.05 are considered significant. Another potential limitation of our study lies in the fact that the study was an a posteriori analysis.

Several candidate genes are showing polymorphisms accounting for some of the individual variations in plasma lipid and lipoprotein levels (Frikke-Schmidt et al., 2000; Lusis, 1988). To a lesser extent, they have also been involved in the response to lipid-

modulating drugs. Indeed, Aalto-Setälä et al. (Aalto-Setälä, et al., 1991) have demonstrated that gemfibrozil is implicated in some gene-treatment interactions as they showed that polymorphisms in the apo B and apo A1/CIII genes influence the serum lipid response to gemfibrozil therapy. More recently, Marian et al. (Marian, et al., 2000) proposed a possible involvement of the ACE I/D polymorphism in the lipid-lowering action of fluvastatin. Briefly, they found that subjects with DD genotype had a greater reduction in plasma cholesterol, LDL-C and apoB levels with this lipid-lowering agent compared to the other ACE genotypes. Similar findings could be extrapolated with the hypotriglyceridemic agent use in our study, which tended to show a greater lipid cardioprotective modulation among carriers of the DD genotype. In both studies, the ACE I allele carriers appeared to be more resistant to the modulating-effect of lipid drug therapy compared with ACE DD subjects. Accordingly, Berge et al. (Berge and Berg, 1997) reported, in a cohort of monozygote twins, a smaller within-pair difference of plasma apo A1 levels in ACE II homozygotes. According to Berg's theory (Berg, 1994) and in line with the present results, the ACE gene may be referred as a "variability gene", which contributes to fix a framework within which environmental factors (such as pharmacotherapy) can cause variation in quantitative variables.

This study reports a gene-treatment interaction without exploring the possible mechanism involved. It is known that fibrates act as lipid-modifying agents through alterations in transcription of genes coding for proteins regulating lipoprotein metabolism (Staels et al., 1998). The effect of fibrate on HDL is mediated via the activation of peroxisome proliferator-activated receptors alpha (PPAR α). The PPAR α then binds to its response element in the target gene and increases the transcriptional rate of major HDL apolipoproteins, apo A1 and apo AII (Vu-Dac et al., 1995). However, the mechanism by which the ACE I/D polymorphism may influence the lipid profile is less clear. Associations between the ACE I/D genotype and plasma lipoprotein/lipid levels have been inconsistent at times. In fact, Lp(a) levels seem to be higher in carriers of the D allele in some (Badenhop, et al., 1995; Kobayashi, et al., 1999) but not all studies (Pamies Andreu, et al., 1999). Data relating total cholesterol, LDL-C, triglyceride levels and the ACE I/D polymorphism have also been published (Oren, et al., 1999; Suzuki,

et al., 1996). In addition, angiotensin II, the main ACE product, has been involved in macrophage induced oxidized LDL, rendering these particles potentially more atherogenic (Scheidegger et al., 1997). Further evidence involving the I/D variants of the ACE gene with lipid and lipoprotein levels come from clinical trials using ACE inhibitors as antihypertensive drug. These drugs have considerable lowering effects, mostly on total and LDL-C levels (Marques-Vidal et al., 2000), and increasing effects on HDL-C concentrations have also been reported (Hauf-Zachariou et al., 1993). Berge et al. (Berge and Berg, 1997) demonstrated in one of their three unrelated population samples a significant difference in apo A1 concentrations according to the ACE I/D polymorphism which corresponded to circulating (Rigat, et al., 1990) and tissue (Costerousse et al., 1993) ACE levels. Therefore, ACE levels may alter the production rate of the major HDL apoprotein via mechanisms which may be similar to the fibrates mode of action.

In conclusion, the present results suggest that the ACE I/D polymorphism is partly responsible for the variation in HDL-C response to gemfibrozil. As previously shown (Marian, et al., 2000), ACE DD genotype tended to show a favorable response to fibrate compared to carriers of the I allele. These results will need replication in large sample size cohorts of different ethnic backgrounds. Furthermore, the biological explanation of the gene by treatment interaction on HDL-C response remains to be elucidated and will require further investigation.

Acknowledgement

This study was supported by Parke Davis / Warner-Lambert Canada Inc. and by the Natural Sciences and Engineering Research Council of Canada. The authors would like to express their gratitude to the subjects for their excellent collaboration and to the staff of the Lipid Research Center and of the Physical Activity Sciences Laboratory for their contribution to the study. We especially want to thank Ms Linda Drolet, Lucie Allard, Lyne Bargone, and Suzanne Brulotte as well as Mr Henri Bessette for their help in the collection of the data. Y. Bossé received a studentship from the Research Center on Energy Metabolism. M.C. Vohl and J. Bergeron are research and clinical scholars, respectively of the "Fonds de la recherche en santé du Québec". J.P. Després is chair professor of human nutrition, lipidology and prevention of cardiovascular disease supported by Provigo and Parke-Davis/Warner-Lambert Canada.

References

- Aalto-Setälä K, Kontula K, Manttari M, Huttunen J, Manninen V, Koskinen P et al. DNA polymorphisms of apolipoprotein B and AI/CIII genes and response to gemfibrozil treatment. **Clin Pharmacol Ther** 1991; **50**: 208-214.
- Allain CC, Poon LS, Chan CS, Richmond W, Fu PC. Enzymatic determination of total serum cholesterol. **Clin Chem** 1974; **20**: 470-475.
- Amouyel P, Richard F, Berr C, David-Fromentin I, Helbecque N. The renin angiotensin system and Alzheimer's disease. **Ann N Y Acad Sci** 2000; **903**: 437-441.
- Anderson TJ, Elstein E, Haber H, Charbonneau F. Comparative study of ACE-inhibition, angiotensin II antagonism, and calcium channel blockade on flow-mediated vasodilation in patients with coronary disease (BANFF study). **J Am Coll Cardiol** 2000; **35**: 60-66.
- Avogaro A, Beltramello P, Marin R, Zambon S, Bonanome A, Biffanti S et al. Insulin action and glucose metabolism are improved by gemfibrozil treatment in hypertriglyceridemic patients. **Atherosclerosis** 1995; **113**: 117-124.
- Badenhop RF, Wang XL, Wilcken DE. Angiotensin-converting enzyme genotype in children and coronary events in their grandparents. **Circulation** 1995; **91**: 1655-1658.
- Bauters C, Amouyel P, Bertrand ME. ACE gene polymorphism and coronary restenosis. **Semin Interv Cardiol** 1999; **4**: 145-149.
- Behnke AR, Wilmore JH. Evaluation and regulation of body build and composition. Englewood Cliffs, NJ: Prentice-Hall; 1974.
- Berg K. Gene-environment interaction: variability gene concept. In: Goldbourt U, de Faire U and Berg K, eds. Genetic factors in coronary heart disease. Dordrecht/Boston/London: Kluwer Academic Publishers; 1994. pp. 373-383.

- Berge KE, Berg K. Cardiovascular risk factors in people with different genotypes in the insertion/deletion (I/D) polymorphism at the locus for angiotensin I-converting enzyme (ACE). **Clin Genet** 1997; **52**: 422-426.
- Burstein M, Samaille J. Sur un dosage rapide du cholestérol lié aux B-lipoprotéines du sérum. **Clin Chim Acta** 1960; **5**: 609.
- Cholerton S, Daly AK, Idle JR. The role of individual human cytochromes P450 in drug metabolism and clinical response. **Trends Pharmacol Sci** 1992; **13**: 434-439.
- Costerousse O, Allegrini J, Lopez M, Alhenc-Gelas F. Angiotensin I-converting enzyme in human circulating mononuclear cells: genetic polymorphism of expression in T-lymphocytes. **Biochem J** 1993; **290**: 33-40.
- Despres JP, Moorjani S, Tremblay A, Poehlman ET, Lupien PJ, Nadeau A et al. Heredity and changes in plasma lipids and lipoproteins after short-term exercise training in men. **Arteriosclerosis** 1988; **8**: 402-409.
- Evans AE, Poirier O, Kee F, Lecerf L, McCrum E, Falconer T et al. Polymorphisms of the angiotensin-converting-enzyme gene in subjects who die from coronary heart disease. **Q J Med** 1994; **87**: 211-214.
- Fossati P, Prencipe L. Serum triglycerides determined colorimetrically with an enzyme that produces hydrogen peroxide. **Clin Chem** 1982; **28**: 2077-2080.
- Frikke-Schmidt R, Nordestgaard BG, Agerholm-Larsen B, Schnohr P, Tybjaerg-Hansen A. Context-dependent and invariant associations between lipids, lipoproteins, and apolipoproteins and apolipoprotein E genotype. **J Lipid Res** 2000; **41**: 1812-1822.
- Hauf-Zachariou U, Widmann L, Zulsdorf B, Hennig M, Lang PD. A double-blind comparison of the effects of carvedilol and captopril on serum lipid concentrations in patients with mild to moderate essential hypertension and dyslipidaemia. **Eur J Clin Pharmacol** 1993; **45**: 95-100.
- Havel RJ, Eder, H. & Bragdon, H. F. The distribution and chemical composition of ultracentrifugally separated lipoproteins in human serum. **J Clin Invest** 1955; **34**: 1345-1353.

- Kobayashi K, Amemiya S, Mochizuki M, Matsushita K, Sawanobori E, Ishihara T et al. Association of angiotensin-converting enzyme gene polymorphism with lipid profiles in children and adolescents with insulin-dependent diabetes mellitus. **Horm Res** 1999; **51**: 201-204.
- Laurell CB. Quantitative estimation of proteins by electrophoresis in agarose gel containing antibodies. **Anal Biochem** 1966; **15**: 45-52.
- Lusis AJ. Genetic factors affecting blood lipoproteins: the candidate gene approach. **J Lipid Res** 1988; **29**: 397-429.
- Manninen V, Elo MO, Frick MH, Haapa K, Heinonen OP, Heinsalmi P et al. Lipid alterations and decline in the incidence of coronary heart disease in the Helsinki Heart Study. **Jama** 1988; **260**: 641-651.
- Marian AJ, Safavi F, Ferlic L, Dunn JK, Gotto AM, Ballantyne CM. Interactions between angiotensin-I converting enzyme insertion/deletion polymorphism and response of plasma lipids and coronary atherosclerosis to treatment with fluvastatin: the lipoprotein and coronary atherosclerosis study. **J Am Coll Cardiol** 2000; **35**: 89-95.
- Marques-Vidal P, Montaye M, Haas B, Bingham A, Evans A, Juhan-Vague I et al. Association of hypertensive status and its drug treatment with lipid and haemostatic factors in middle-aged men: the PRIME study. **J Hum Hypertens** 2000; **14**: 511-518.
- Marre M, Hadjadj S, Bouhanick B. Hereditary factors in the development of diabetic renal disease. **Diabetes Metab** 2000; **26 Suppl 4**: 30-36.
- Meneely GRK, N. L. Volume of the lung determined by helium dilution. **J Clin Invest** 1949; **28**: 129-139.
- Moorjani S, Dupont A, Labrie F, Lupien PJ, Brun D, Gagne C et al. Increase in plasma high-density lipoprotein concentration following complete androgen blockage in men with prostatic carcinoma. **Metabolism** 1987; **36**: 244-250.

- Okamura A, Ohishi M, Rakugi H, Katsuya T, Yanagitani Y, Takiuchi S et al. Pharmacogenetic analysis of the effect of angiotensin-converting enzyme inhibitor on restenosis after percutaneous transluminal coronary angioplasty. **Angiology** 1999; **50**: 811-822.
- Ordovas JM, Lopez-Miranda J, Mata P, Perez-Jimenez F, Lichtenstein AH, Schaefer EJ. Gene-diet interaction in determining plasma lipid response to dietary intervention. **Atherosclerosis** 1995; **118 Suppl**: S11-27.
- Oren I, Brook JG, Gershoni-Baruch R, Kepten I, Tamir A, Linn S et al. The D allele of the angiotensin-converting enzyme gene contributes towards blood LDL-cholesterol levels and the presence of hypertension. **Atherosclerosis** 1999; **145**: 267-271.
- Pamies Andreu E, Palmero Palmero C, Garcia Lozano R, Stiefel Garcia-Junco P, Miranda Guisado ML, Martin Sanz V et al. The effect of the angiotensinogen M235T and the angiotensin-converting enzyme I/D polymorphisms on arterial hypertension and other cardiovascular risk factors. **Med Clin (Barc)** 1999; **113**: 164-168.
- Rigat B, Hubert C, Alhenc-Gelas F, Cambien F, Corvol P, Soubrier F. An insertion/deletion polymorphism in the angiotensin I-converting enzyme gene accounting for half the variance of serum enzyme levels. **J Clin Invest** 1990; **86**: 1343-1346.
- Rigat B, Hubert C, Corvol P, Soubrier F. PCR detection of the insertion/deletion polymorphism of the human angiotensin converting enzyme gene (DCP1) (dipeptidyl carboxypeptidase 1). **Nucleic Acids Res** 1992; **20**: 1433.
- Rubins HB, Robins SJ, Collins D, Fye CL, Anderson JW, Elam MB et al. Gemfibrozil for the secondary prevention of coronary heart disease in men with low levels of high-density lipoprotein cholesterol. Veterans Affairs High-Density Lipoprotein Cholesterol Intervention Trial Study Group. **N Engl J Med** 1999; **341**: 410-418.

- Rubins HB, Robins SJ, Iwane MK, Boden WE, Elam MB, Fye CL et al. Rationale and design of the Department of Veterans Affairs High-Density Lipoprotein Cholesterol Intervention Trial (HIT) for secondary prevention of coronary artery disease in men with low high-density lipoprotein cholesterol and desirable low-density lipoprotein cholesterol. **Am J Cardiol** 1993; **71**: 45-52.
- Samani NJ, Thompson JR, O'Toole L, Channer K, Woods KL. A meta-analysis of the association of the deletion allele of the angiotensin-converting enzyme gene with myocardial infarction. **Circulation** 1996; **94**: 708-712.
- Scheidegger KJ, Butler S, Witztum JL. Angiotensin II increases macrophage-mediated modification of low density lipoprotein via a lipoxygenase-dependent pathway. **J Biol Chem** 1997; **272**: 21609-21615.
- Schunkert H. Controversial association of left ventricular hypertrophy and the ACE I/D polymorphism—is the mist clearing up? **Nephrol Dial Transplant** 1998; **13**: 1109-1112.
- Shanmugam V, Sell KW, Saha BK. Mistyping ACE heterozygotes. **PCR Methods Appl** 1993; **3**: 120-121.
- Siri WE. The gross composition of the body. **Adv Biol Med Phys** 1956; **4**: 239-280.
- Staels B, Dallongeville J, Auwerx J, Schoonjans K, Leitersdorf E, Fruchart JC. Mechanism of action of fibrates on lipid and lipoprotein metabolism. **Circulation** 1998; **98**: 2088-2093.
- Suzuki T, Yokota H, Yamazaki T, Kitamura K, Yamaoki K, Nagai R et al. Angiotensin converting enzyme polymorphism is associated with severity of coronary heart disease and serum lipids (total cholesterol and triglycerides levels) in Japanese patients. **Coron Artery Dis** 1996; **7**: 371-375.
- The Airlie (VA) Consensus Conference. In: Lohman T, Roche, A.& Martorel, R. Standardization of anthropometric measurements. In: eds. Champaign, IL: Human Kinetics; 1988. pp. 39-80.
- Turner ST, Boerwinkle E, Sing CF. Context-dependent associations of the ACE I/D polymorphism with blood pressure. **Hypertension** 1999; **34**: 773-778.

- Vu-Dac N, Schoonjans K, Kosykh V, Dallongeville J, Fruchart JC, Staels B et al. Fibrates increase human apolipoprotein A-II expression through activation of the peroxisome proliferator-activated receptor. **J Clin Invest** 1995; **96**: 741-750.
- Woods DR, Humphries SE, Montgomery HE. The ACE I/D Polymorphism and Human Physical Performance. **Trends Endocrinol Metab** 2000; **11**: 416-420.

Tables

Table 1. Baseline Characteristics of Subjects According to the Angiotensin-Converting Enzyme Gene Insertion/Deletion (ACE I/D) Genotype.

	ACE I/D Genotypes		p value
	II + ID n = 44	DD n = 21	
Age (yrs)	44.9 ± 6.4	45.9 ± 6.0	
Height (cm)	174.0 ± 6.8	173.7 ± 5.8	0.86
Body composition			
Weight (kg)	95.4 ± 11.9	93.2 ± 7.9	0.51
BMI (kg/m ²)	31.5 ± 3.1	30.9 ± 2.2	0.49
Body fat (%)	30.4 ± 4.7	31.1 ± 3.7	0.55
Fat mass (kg)	29.3 ± 7.4	29.1 ± 5.0	0.55
Free fat mass (kg)	66.1 ± 6.5	64.1 ± 5.2	0.23
Blood Pressure (mm Hg)			
Systolic	119.2 ± 8.2	118.2 ± 8.9	0.65
Diastolic	82.4 ± 7.5	81.0 ± 6.9	0.46
Lipid and Lipoprotein levels			
Triglycerides, mmol/L	2.62 ± 0.74	2.55 ± 0.85	0.57
Cholesterol, mmol/L	5.59 ± 0.63	5.63 ± 0.42	0.81
VLDL-chol, mmol/L	1.01 ± 0.38	0.92 ± 0.31	0.34
LDL-chol, mmol/L	3.73 ± 0.63	3.84 ± 0.38	0.47
HDL-chol, mmol/L	0.83 ± 0.13	0.88 ± 0.10	0.17
HDL2-chol, mmol/L	0.18 ± 0.07	0.17 ± 0.07	0.44
HDL3-chol, mmol/L	0.66 ± 0.10	0.71 ± 0.06	0.02
Chol/HDL-chol	6.87 ± 1.33	6.48 ± 0.81	0.29
Apo B, g/L	1.22 ± 0.16	1.22 ± 0.12	0.82
LDL-Apo B, g/L	1.04 ± 0.17	1.07 ± 0.11	0.56
Apo A1, g/L	1.15 ± 0.14	1.19 ± 0.08	0.27

Values are means ± SD.

Table 2. Changes in plasma Lipid and Lipoprotein levels to the Intervention Program According to the Angiotensin-Converting Enzyme Gene Insertion/Deletion (ACE I/D) Genotype.

	Placebo			Gemfibrozil		
	II + ID n = 22	DD n = 10	p value	II + ID n = 22	DD n = 11	p value
Triglycerides, mmol/L	-0.13 ± 0.67	0.17 ± 0.61	0.23	-1.23 ± 0.73	-0.73 ± 1.06	0.13
Cholesterol, mmol/L	-0.15 ± 0.34	-0.19 ± 0.37	0.79	-0.66 ± 0.54	-0.40 ± 0.52	0.19
VLDL-chol, mmol/L	-0.07 ± 0.23	0.10 ± 0.20	0.05	-0.55 ± 0.36	-0.32 ± 0.39	0.1
LDL-chol, mmol/L	-0.08 ± 0.32	-0.24 ± 0.33	0.18	-0.15 ± 0.74	-0.20 ± 0.55	0.85
HDL-chol, mmol/L	-0.01 ± 0.07	-0.05 ± 0.07	0.16	0.06 ± 0.10	0.12 ± 0.08	0.07
HDL2-chol, mmol/L	0.02 ± 0.07	0.03 ± 0.08	0.71	0.02 ± 0.07	0.04 ± 0.09	0.36
HDL3-chol, mmol/L	-0.03 ± 0.09	-0.08 ± 0.10	0.16	0.04 ± 0.11	0.08 ± 0.08	0.3
Chol/HDL-chol	-0.16 ± 0.51	0.04 ± 0.65	0.37	-1.09 ± 1.33	-1.16 ± 0.74	0.87
Apo B, g/L	-0.05 ± 0.11	-0.05 ± 0.11	0.93	-0.15 ± 0.20	-0.14 ± 0.18	0.83
LDL-Apo B, g/L	-0.03 ± 0.10	-0.05 ± 0.11	0.68	-0.06 ± 0.19	-0.09 ± 0.17	0.75
Apo A1, g/L	0.02 ± 0.11	0.00 ± 0.06	0.66	0.02 ± 0.09	0.09 ± 0.12	0.11

Values are means ± SD.

Table 3. Effects of the Angiotensin-Converting Enzyme Gene Insertion/Deletion polymorphism and the treatment (placebo vs gemfibrozil) on the plasma lipoprotein/lipid response to the intervention program.

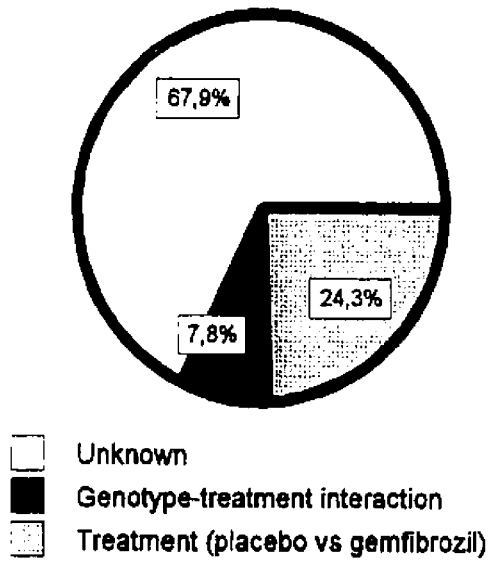
	Mean Changes	p value		
		Genotypes	Treatment	Interaction
Triglycerides, mmol/L	-0.56 ± 0.92	0.99	0.0001	0.9
Cholesterol, mmol/L	-0.37 ± 0.49	0.71	0.003	0.5
VLDL-choi, mmol/L	-0.25 ± 0.39	0.77	0.0001	0.83
LDL-choi, mmol/L	-0.15 ± 0.53	0.81	0.89	0.94
HDL-choi, mmol/L	0.03 ± 0.10	0.09	0.0001	0.04
HDL2-choi, mmol/L	0.02 ± 0.08	0.59	0.85	0.82
HDL3-choi, mmol/L	0.01 ± 0.11	0.08	0.0001	0.15
Chol/HDL-choi	-0.61 ± 1.04	0.72	0.0001	0.57
Apo B, g/L	-0.10 ± 0.16	0.98	0.03	0.88
LDL-Apo B, g/L	-0.05 ± 0.15	0.99	0.43	0.95
Apo A1, g/L	0.03 ± 0.10	0.55	0.27	0.36

Values are mean ± SD.

Legend to figure

Fig. 1. Percentage of variance explained for the change in plasma HDL-cholesterol levels resulting from the treatment (with or without gemfibrozil) and the angiotensin-converting enzyme I/D genotype. Source of variation comes from the type III sum of squares computed from the general linear model procedure.

FIGURE



CHAPITRE 3

Influence du polymorphisme insertion/délétion du gène de l'enzyme de conversion de l'angiotensine sur la composition corporelle, la tension artérielle et le profil lipidique en réponse à un programme d'intervention incluant gemfibrozil, diète et exercice.

Des études récentes ont rapporté que le polymorphisme I/D du gène de l'ACE influençait la réponse à un programme d'exercice en endurance. Premièrement, il a été démontré que les homozygotes pour l'allèle I étaient plus résistants à perdre de la masse grasse. Toutefois, ils augmentaient leur masse maigre à un niveau plus élevé que les individus porteurs de l'allèle D, pour qui la masse grasse a diminué et la masse maigre est demeurée inchangée. Une deuxième étude a constaté une diminution plus accentuée de la tension artérielle chez les porteurs de l'allèle I en réponse à un programme d'exercice en endurance. L'objectif de cette étude était de déterminer l'effet possible du polymorphisme I/D sur les variations interindividuelles observées touchant la composition corporelle, la tension artérielle et le profil lipidique en réponse à un programme d'intervention incluant gemfibrozil, la diète phase 1 du programme national d'éducation sur le cholestérol et un entraînement en endurance. Pour ce faire, 47 hommes (âge : 45.3 ± 6.1 ans; IMC : 31.4 ± 2.9 kg/m²; circonférence de taille : $103.7 \pm$

7.6 cm; moyenne \pm écart type) caractérisés par le syndrome dyslipidémique de l'obésité abdominale ont été traités pour 6 mois avec gemfibrozil ou un placebo. Par la suite, ils ont été soumis à un programme d'entraînement en endurance pour une période additionnelle de six mois comportant quatre sessions d'exercice d'une heure par semaine à 50% de leur VO_2 max. Les génotypes de l'ACE ont été déterminés par une réaction de polymérisation en chaîne suivie d'une électrophorèse. La composition corporelle, l'aire de tissu adipeux d'une coupe transverse de l'abdomen, la tension artérielle ainsi que le profil lipidique ont été mesurés au début puis après 6 et 12 mois. Seize hommes étaient homozygotes DD, 25 hétérozygotes ID et 6 étaient homozygotes II. Les trois groupes génotypiques présentaient une tension artérielle, une composition corporelle et une aire de tissu adipeux viscéral similaire avant et après le programme d'intervention. Les changements enregistrés n'étaient pas dépendants du génotype (masse grasse : $p = 0.85$; masse maigre : $p = 0.24$; tension artérielle systolique : $p = 0.26$; tension artérielle diastolique : $p = 0.95$; ANOVA). De plus, aucune interaction significative n'a été notée entre le génotype et le traitement pour les variables à l'étude, incluant les concentrations plasmatiques de lipides et de lipoprotéines. Pour conclure, le polymorphisme I/D de l'ACE ne semble pas influencer les changements de la composition corporelle, de la distribution de graisse viscérale et de la tension artérielle en réponse au programme d'intervention.

CONTRIBUTION OF THE ACE I/D POLYMORPHISM TO THE BODY COMPOSITION,
BLOOD PRESSURE AND LIPOPROTEIN/LIPID PROFILE RESPONSES TO A
GEMFIBROZIL-DIET-EXERCISE INTERVENTION PROGRAM

Y. Bossé¹, B.Sc, M.C. Vohl, PhD^{2,3}, M. Dumont, MSc¹, M. Brochu, PhD⁴, J. Bergeron,
MD, MSc², J.P. Després, PhD^{2,3,5}, D. Prud'homme, MD, MSc^{1,2}

Physical Activity Sciences Laboratory, Kinesiology Division, Department of Social and Preventive Medicine¹, Lipid Research Center, CHUL Research Center², Food Sciences and Nutrition Department³, Laval University, Québec; Department of Kinesiology, Montréal University⁴; the Quebec Heart Institute⁵, Québec, Canada.

This study was supported by Parke Davis / Warner-Lambert Canada Inc.

Short title: ACE polymorphism, gemfibrozil and metabolic response to endurance training.

Address all correspondence to : Denis Prud'homme, M.D., MSc.

Physical Activity Sciences Laboratory
Kinesiology Division
Department of Social and Preventive Medicine
Faculty of Medicine
Laval University
Ste-Foy, Québec
G1K 7P4
Tel.: (418) 656-2473
Fax: (418) 656-2660
Email: Dprudhom@crchul.ulaval.ca

Acknowledgments: voir chapitre 1

Abstract

Background: It has recently been reported that an insertion (I)/deletion (D) polymorphism of the human angiotensin converting enzyme (ACE) influences the response to an endurance training program. First, it has been shown that homozygotes (HMZ) for the I allele seem to be resistant to fat mass (FM) loss. However, they increased their fat free mass (FFM) to a greater extent than carriers of the D allele in whom FM was decreased and FFM was maintained. Another study reported that the reduction in blood pressure (BP), in response to endurance training, was greater among carriers of an I allele than among HMZ for the D allele.

Objective: The aim of the present study was to determine whether the I/D polymorphism of the ACE gene influences body composition and BP responses to the National Cholesterol Education Program (NCEP) phase 1 diet, and to an endurance training program with or without gemfibrozil.

Methods: Forty-seven abdominal obese men (age: 45.3 ± 6.1 yrs; body mass index: 31.4 ± 2.9 kg/m²; waist circumference: 103.7 ± 7.6 cm; mean \pm SD) with the atherogenic dyslipidemia of the metabolic syndrome were treated for 6 months with either gemfibrozil or a placebo and were asked to complete an additional 6-month endurance training program in which they exercised 4 sessions per week for one hour per session at about 50% of maximal aerobic power. ACE genotypes were determined by polymerase chain reaction amplification followed by electrophoresis. Body composition, cross-sectional abdominal adipose tissue (AT) areas, BP and plasma lipoprotein / lipid levels were measured at baseline, at 6 months, and at the end of the 12-month intervention program.

Results: Sixteen subjects were DD HMZ, 25 were ID heterozygotes and 6 were II HMZ. The three genotype groups had similar BMI, FM, FFM, and area of visceral AT at baseline. Mean resting BP were also comparable among the three genotypes, at baseline and during the follow-up period. Changes in body composition and BP associated with this intervention program were not genotype dependent (FM: $p = 0.85$; FFM: $p = 0.24$; systolic BP: $p = 0.26$; diastolic BP: $p = 0.95$; ANOVA). Furthermore, there

was no significant genotype-by-treatment interaction for any of the variables mentioned above including plasma lipoprotein and lipid levels.

Conclusion: In the present study, the ACE I/D polymorphism was not associated with changes in body composition, visceral AT and resting BP in response to the intervention program.

Key words: ACE polymorphism, gemfibrozil, exercise training, blood pressure, lipoprotein, visceral obesity.

Introduction

High resting blood pressure and excess body fat are two major predisposing risk factors for the development of numerous cardiovascular disease (CVD)¹⁻³. It is well documented that an endurance training program improve various features of the CVD risks profile which included blood pressure and body composition⁴. Studies on the effect of endurance training on systolic and diastolic blood pressure have suggested clinically significant reductions in mean values⁵. The same trend has also been observed for body composition in which endurance training has been shown to be an effective approach to maintain FFM and reduce FM⁶⁻⁸. Despite these results, the individual response to an endurance training program is heterogeneous. In fact, for the same training regimen, there is a whole range of response in the population, suggesting the influence of genetic factors⁹.

Searching for genetic contribution of these polygenic phenotypes, recent publications have suggested a the possible involvement of the insertion(I)/deletion(D) polymorphism of the angiotensin-converting enzyme gene on changes observed in blood pressure and body composition after an endurance training program. Hagberg et al.¹⁰, observed in originally obese hypertensive men that the decrease in diastolic blood pressure with endurance training was more pronounced among carriers of the I allele than among HMZ for the D allele. The same trend was observed for systolic blood pressure but it did not reach statistical significance. The authors postulated that the two ACE genotype groups in concert with the training regimen may influence the cardiac muscle morphology or function as well as the peripheral arteriolar smooth muscle differentially. On the other hand, Montgomery et al.¹¹, assert that changes in body composition with training were genotype dependent in a group of white male recruits from the British Army. In the latter study, carriers of the D allele were compared to II HMZ. The authors concluded that II HMZ gained more in FFM than those with one or more D alleles. In addition, II HMZ tended to be more resistant to fat loss. Montgomery and his colleagues suggested that the ACE genotype might influence the energy balance in modulating the efficiency and the nature of energetic substrates.

The purpose of the study was to assess whether these previous observations could be reproduced in a sample of dyslipidemic obese men that have been exposed to a one year intervention program including gemfibrozil therapy, dietary recommendations and an endurance exercise training. Moreover we investigated whether gemfibrozil interacts with the I/D polymorphism of the ACE gene to influence the lipid response and other health related variables, as it has been published with other pharmacological agent¹²⁻¹⁴.

Methods

Pour avoir l'information concernant les sujets et la mesure des lipides, des lipoprotéines, de la tension artérielle, de la composition corporelle ainsi que pour les mesures anthropométriques et le génotypage, se référer au chapitre deux dans la section "materials and methods".

Study design

After having completed their baseline measurements, subjects were randomly assigned to a diet-exercise training program with either receiving a placebo or gemfibrozil 600 mg bid. Placebo- or gemfibrozil-treated subjects first received dietary recommendations from a dietician. They had to follow the NCEP Phase 1 diet for 12 months. During this period, they were asked to individually meet the study dietician on a voluntary basis. After the completion of a 6-month period, an endurance exercise program was added to the diet-drug (or placebo) prescription. Subjects were tested at baseline, at 6 months, and at the end of the 12-month intervention protocol. During the 12 months intervention program 24 subjects dropouts (12 placebo and 12 gemfibrozil). The reasons for dropout were the lack of compliance, moving or diabetes development. The study design is illustrated in figure 1.

Figure 1 about here

Computed tomography

The measurement of cross-sectional abdominal adipose tissue (AT) areas was performed by computed tomography (CT) with a Siemens Somatom DHR scanner (Erlangen, Germany), as previously described¹⁵. Briefly, the subjects were examined in the supine position with both arms stretched above the head. The scan was performed at the abdominal level (L4 and L5 vertebrae) using an abdominal scout radiograph to

standardize the position of the scan to the nearest millimeter. Total AT area was calculated by delineating the abdominal scan with a graph pen and then by computing the total AT area with an attenuation range of -190 to -30 Hounsfield units. The abdominal visceral AT area was measured by drawing a line within the muscle wall surrounding the abdominal cavity. The abdominal subcutaneous AT area was calculated by subtracting the visceral AT area from the total abdominal AT area.

Endurance training program

The entire endurance training program was 90 sessions of moderate aerobic exercise. To improve adherence, participant had the choice to bike and/or walk either in our laboratory or at home. All the laboratory exercise sessions were directly supervised by a exercise specialist and a recordable polar transmitter watch was used for home training. The duration of the exercise sessions start at 30 min of continuous exercise for the first week and progressively increase to 60 min at week seven. The exercise session frequency was also increased from three, for the first six week, to four sessions/weeks for the weeks 7 to 24. The prescribed exercise intensity was 50% of maximal aerobic power ($VO_2\text{max}$). The heart rate corresponding to 50% of peak VO_2 was determined by an exercise tolerance test performed using an automated open-circuit gas analysis system [Applied Electrochemistry O_2 analyzer (S3-A Sunnyvale, CA) and an Anarad CO_2 analyzer (R1, Santa Barbara, CA)]. The test was realized on a motor-driven treadmill with an increasing workload to the point of exhaustion. The 50% aerobic power heart rate for each individual was then determined and monitored during the exercise session.

Statistical Analyses

The difference in response between genotype groups was assessed by a simple analysis of variance (ANOVA). To evaluate whether the ACE I/D genotype interact with gemfibrozil treatment we compute the source of variation in lipoprotein/lipid profile using the type III sum of square. Genotype distribution was compared by the use of a chi-

squared test. All statistical analyses were performed using the SAS package (SAS Institute, Cary, NC).

Results

A total of 71 eligible men agreed to participate to the intervention program. The genotype distribution at the beginning [II, 11 (15,5%); ID, 36 (50,7%); DD, 24 (33,8%)] was similar to the 47 subjects who remained in the study [II, 6 (12,8%); ID, 25 (53,2%); DD, 16 (34,0%)], and showed a Hardy-Weinberg equilibrium. Baseline characteristics of subjects who completed the intervention were similar to those who did not except for waist circumference and VLDL-cholesterol ($103.7 \text{ cm} \pm 7.6$ vs $107.7 \text{ cm} \pm 5.6$ and $0.93 \text{ mmol/L} \pm 0.33$ vs $1.11 \text{ mmol/L} \pm 0.41$; mean \pm SD, $P < 0.05$). Further analysis revealed only significant differences for baseline characteristics in DD group. In fact, dropouts DD individuals have significant ($p < 0.05$) higher body weight, BMI, FFM, waist circumference and total cross-sectional AT than their completer counterparts (not shown). However, the lipid-lipoprotein levels were similar among the group with the exception of lower plasma LDL-cholesterol and apolipoprotein B levels ($P < 0.05$, not shown).

Baseline characteristics according to the ACE I/D polymorphism are shown in Table 1. No significant differences were observed, between the three genotype groups, for body composition, body fat distribution and resting systolic and diastolic blood pressures. However, BMI and systolic blood pressure tended to be higher in II homozygotes compared to individuals in ID or DD genotype groups.

 Table 1 about here

In previous studies, authors have performed data analysis with either homozygous II or DD individuals combined with heterozygous individuals[10, 11]. The same groups analyze has been investigated in the present study. First, when the ID individuals were merged with the II subjects, no significant differences were observed for any baseline characteristics (Table 2). However, when ID subjects were joined with

the DD genotype, individual with at least one D allele (D+) had significantly lower BMI, FM and blood pressure.

Table 2 about here

Changes of baseline characteristic with the intervention program are presented in Table 3. Data from gemfibrozil and placebo group were combined due to similar changes observed for body composition index and resting blood pressure (data not shown). Despite some substantial changes within group, analysis of variance between the three ACE genotypes did not indicate any significant differences in response to the intervention program. Results remained unchanged after adjustment for baseline values and for the treatment effect.

Table 3 about here

Essentially the same results were observed when the HTZ were merged with HMZ groups (Table 4). Indeed, there is no difference in response to the intervention program in II and D+ nor for DD and I+ genotype groups.

Table 4 about here

Table 5 presents baseline characteristic and mean changes in plasma lipids and lipoprotein levels in response to the intervention program. Based on our data, the ACE I/D polymorphism did not significantly influence the changes in plasma lipids and

lipoprotein levels following the intervention program. As expected, reduction of plasma triglyceride levels was higher in the gemfibrozil treatment group. However, there was no significant interaction between the ACE genotypes and the treatment, which means that the ACE I/D polymorphism does not seem to influence plasma lipids/lipoproteins responsiveness to a treatment with gemfibrozil.

Table 5 about here

Discussion

Response to the intervention program between genotypes

It has been proposed that local renin angiotensin system is present in several tissues and has the ability to synthesize angiotensin II independently of the endocrine system¹⁶⁻¹⁸. This octapeptide hormone, produced locally, influences tissue growth and development via specific interaction with its receptors¹⁹. The angiotensin-converting enzyme mediates the last step of the pathway for angiotensin II production²⁰. Recently, the ACE I/D polymorphism, which is responsible for 50% of the interindividual variability of plasma ACE concentration²¹ and activity of the enzyme in tissue²², has been reported to influence the body composition response to an endurance training program. Montgomery et al.¹¹ demonstrated, in a sample of young British men, that HMZ for the I allele had a greater anabolic response for FM and FFM to an intensive training regimen. Using three different methods for the assessment of body composition, these authors confirmed that changes with training were strongly influenced by the presence of the D allele. However, the results of the present study, showed no difference in changes in body composition and body fat distribution indices between the three genotypes. Regrouping the heterozygous individuals with either II or DD genotype groups did not shift our results anywhere near Montgomery's et al. observations. Differences among studies could be explained by the exercise training programs used or/and simply by studying population with different genetic background. However, our results confirmed those reported by Hagberg et al.¹⁰ who studied a sample of obese hypertensive men. They found no difference between ACE I/D genotype groups for changes in body weight and body composition in response to an endurance training program. However, they observed that the changes in blood pressure were genotype dependent. Indeed, they found that II HMZ were more resistant to the lowering effect of exercise training on blood pressure. This finding is not observed in our results. In fact, unlike the results of Hagberg et al., the DD group exhibited greater systolic blood pressure reductions than I+ men, although the difference was not significant. This controversy could be explained by the difference in the training program but the most

likely explanation are the age and the baseline characteristics of the subjects which were quite different between the two study samples. On the other hand, our results are comparable to those reported by Rankinen et al.²³, on larger cohorts, that demonstrated that men with DD genotype had a greater decrease in diastolic blood pressure in response to a 20 weeks endurance training program.

Variation in changes observed in body composition and blood pressure between ACE I/D genotype group in response to an exercise training program are derived from small cohorts^{10,11}. The ACE I/D polymorphism has also been recognized as a genetic variation associated with physical performance in this type of study²⁴⁻²⁷. Thereafter, these findings were not replicated in larger studies^{28,29}. Based on our results, the same scenario become possibly true with the changes associated to an endurance training program. This is furthermore relevant if we consider that negative findings might not be reported in the literature. Indeed, the tendency to publish only positive finding may cause a publication bias.

Exercise and renin-angiotensin system

The renin-angiotensin system is disturbed during continuous aerobic exercise resulting from an acute rise in plasma angiotensin II concentration^{30,31}. Since ACE is considered the major angiotensin II producer it would be conceivable that the I/D polymorphism of the ACE gene, which explains the activity²² and the plasmatic variation²¹ of the enzyme, may contribute to angiotensin II concentration during exercise. We can postulate that the alteration in angiotensin II level in the tissue with exercise are the same as observed in the circulation and could explain the variability of response in phenotype potentially modified by this mode of treatment. However, results of this study are not in concert with this flattering theory and it seems even more logic since the raise in angiotensin II with exercise is mediated by an alternative pathway that does not implicate ACE³⁰.

Gene-treatment interactions

Genetic polymorphisms, has been partly accountable for interindividual variations in the response to different drug therapy^{12-14, 32}. Recent publications have shown that ACE I/D polymorphism interact with ACE inhibitors. Actually, carriers of the I allele seem to be more sensitive to imidapril¹⁴ and quinapril¹³ treatment. Most interestingly, the effectiveness of an hypocholesterolic agent has been proved to be dependent of the ACE I/D polymorphism. To summarize, Marian et al.¹² demonstrated that in response to fluvastatin, an HMG-CoA reductase inhibitor, subjects with DD genotype had a greater reduction in plasma total chol, LDL-chol and apo B levels compared to the other ACE genotypes. To the best of our knowledge, our study is the first to question whether the ACE genotype may influence the response to an hypotriglyceridemic agent. It has been previously demonstrated that gemfibrozil, agent utilized in our study, is implicated in some kind of gene-treatment interaction. In fact, gemfibrozil have been shown to interact with polymorphisms in genes coding for apo B and apo A1/CIII³². Thus the main interest was to know whether the lipid-modulating action of gemfibrozil differs according to the three ACE genotypes. We concluded that the effect of gemfibrozil is independent of the genotype effect and there was no significant genotype-by-treatment interaction for lipids and lipoprotein levels.

In summary, the ACE (I/D) polymorphism does not seem to influence the response of body composition, blood pressure and plasma lipids-lipoproteins levels to a NCEP diet, and an endurance exercise with or without gemfibrozil. These results are in discrepancy with previous investigations. Studies have reported that the acute effect of continuous exercise on the endocrine renin-angiotensin system is associated with the time and intensity of the effort^{30,31}. Superposing this theory to the local renin-angiotensin system with the different exercise training regimen among studies compared would explain in part the divergence between results. It is likely that the exercise-related changes in this system may influence the phenotype response, but based on our result and the trivial role of ACE in the acute response with exercise³⁰, ACE I/D polymorphism is not the appropriate target. The role of others local renin-angiotensin system

components might be more imperative. However, this is hypothesis needs further investigations.

References

1. Grundy SM. Primary prevention of coronary heart disease: integrating risk assessment with intervention. *Circulation* 1999; 100: 988-98.
2. Gordon T, Kannel WB. The effects of overweight on cardiovascular diseases. *Geriatrics* 1973; 28: 80-8.
3. Kannel WB, Doyle JT, Ostfeld AM, Jenkins CD, Kuller L, Podell RN, Stamler J. Optimal resources for primary prevention of atherosclerotic diseases. Atherosclerosis Study Group. *Circulation* 1984; 70: 155A-205A.
4. Fletcher GF, Blair SN, Blumenthal J, Caspersen C, Chaitman B, Epstein S, Falls H, Froelicher ES, Froelicher VF, Pina IL. Statement on exercise. Benefits and recommendations for physical activity programs for all Americans. A statement for health professionals by the Committee on Exercise and Cardiac Rehabilitation of the Council on Clinical Cardiology, American Heart association. *Circulation* 1992; 86: 340-4.
5. American College of Sports Medicine. Position Stand. Physical activity, physical fitness, and hypertension. *Med Sci Sports Exerc* 1993; 25: i-x.
6. Leon AS, Conrad J, Hunninghake DB, Serfass R. Effects of a vigorous walking program on body composition, and carbohydrate and lipid metabolism of obese young men. *Am J Clin Nutr* 1979; 32: 1776-87.
7. Zuti WB, Golding LA. Comparing diet and exercise as weight reduction tools. *Phys Sportsmed* 1976; 4: 49-53.
8. Schwartz RS, Shuman WP, Larson V, Cain KC, Fellingham GW, Beard JC, Kahn SE, Stratton JR, Cerqueira MD, Abrass IB. The effect of intensive endurance exercise training on body fat distribution in young and older men. *Metabolism* 1991; 40: 545-51.
9. Bouchard C. Individual differences in the response to regular exercise. *Int J Obes Relat Metab Disord* 1995; 19 Suppl 4: S5-8.

10. Hagberg JM, Ferrell RE, Dengel DR, Wilund KR. Exercise training-induced blood pressure and plasma lipid improvements in hypertensives may be genotype dependent. *Hypertension* 1999; 34: 18-23.
11. Montgomery HE, Clarkson P, Barnard M, Bell J, Brynes A, Dollery C, Hajnal J, Hemingway H, Mercer D, Jarman P, Marshall R, Prasad K, Rayson M, Saeed N, Talmud P, Thomas L, Jubb M, World M, Humphries S. Angiotensin-converting-enzyme gene insertion/deletion polymorphism and response to physical training. *Lancet* 1999; 353: 541-5.
12. Marian AJ, Safavi F, Ferlic L, Dunn JK, Gotto AM, Ballantyne CM. Interactions between angiotensin-1 converting enzyme insertion/deletion polymorphism and response of plasma lipids and coronary atherosclerosis to treatment with fluvastatin : the lipoprotein and coronary atherosclerosis study. *J Am Coll Cardiol* 2000; 35: 89-95.
13. Anderson TJ, Elstein E, Haber H, Charbonneau F. Comparative study of ACE-inhibition, angiotensin II antagonism, and calcium channel blockade on flow-mediated vasodilation in patients with coronary disease (BANFF study). *J Am Coll Cardiol* 2000; 35: 60-6.
14. Okamura A, Ohishi M, Rakugi H, Katsuya T, Yanagitani Y, Takiuchi S, Taniyama Y, Moriguchi K, Ito H, Higashino Y, Fujii K, Higaki J, Ogihara T. Pharmacogenetic analysis of the effect of angiotensin-converting enzyme inhibitor on restenosis after percutaneous transluminal coronary angioplasty. *Angiology* 1999; 50: 811-22.
15. Ferland M, Despres JP, Tremblay A, Pinault S, Nadeau A, Moorjani S, Lupien PJ, Theriault G, Bouchard C. Assessment of adipose tissue distribution by computed axial tomography in obese women: association with body density and anthropometric measurements. *Br J Nutr* 1989; 61: 139-48.
16. Phillips MI, Speakman EA, Kimura B. Levels of angiotensin and molecular biology of the tissue renin angiotensin systems. *Regul Pept* 1993; 43: 1-20.

17. Paul M, Wagner J, Dzau VJ. Gene expression of the renin-angiotensin system in human tissues. Quantitative analysis by the polymerase chain reaction. *J Clin Invest* 1993; 91: 2058-64.
18. Jones BH, Standridge MK, Taylor JW, Moustaid N. Angiotensinogen gene expression in adipose tissue : analysis of obese models and hormonal and nutritional control. *American Journal of Physiology* 1997; 273: R236-42.
19. Timmermans PB, Wong PC, Chiu A T, Herblin WF, Benfield P, Carini DJ, Lee RJ, Wexler RR, Saye JA, Smith RD. Angiotensin II receptors and angiotensin II receptor antagonists. *Pharmacol Rev* 1993; 45: 205-51.
20. Griendling KK, Murphy TJ, Alexander RW. Molecular biology of the renin-angiotensin system. *Circulation* 1993; 87: 1816-28.
21. Rigat B, Hubert C, Alhenc-Gelas F, Cambien F, Corvol P, Soubrier F. An insertion/deletion polymorphism in the angiotensin I-converting enzyme gene accounting for half the variance of serum enzyme levels. *J Clin Invest* 1990; 86: 1343-6.
22. Danser AH, Schalekamp MA, Bax WA, van den Brink AM, Saxena PR, Riegger GA, Schunkert H. Angiotensin-converting enzyme in the human heart. Effect of the deletion/insertion polymorphism. *Circulation* 1995; 92: 1387-8.
23. Rankinen T, Gagnon J, Perusse L, Chagnon YC, Rice T, Leon AS, Skinner JS, Wilmore JH, Rao DC, Bouchard C. AGT M235T and ACE ID polymorphisms and exercise blood pressure in the HERITAGE family study. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2000; 279: H368-74.
24. Gayagay G, Yu G, Hambly B, Boston T, Hahn A, Celermajer DS, Trent RJ. Elite endurance athletes and the ACE I allele—the role of genes in athletic performance. *Hum Genet* 1998; 103: 48-50.
25. Hagberg JM, Ferrell RE, McCole SD, Wilund KR, Moore GE. VO₂ max is associated with ACE genotype in postmenopausal women. *Appl Physiol* 1998; 85: 1842-6.

26. Montgomery HE, Marshall R, Hemingway H, Myerson S, Clarkson P, Dollery C, Hayward M, Holliman DE, Jubb M, World M, Thomas EL, Brynes AE, Saeed N, Barnard M, Bell JD, Prasad K, Rayson M, Talmud PJ, Humphries SE. Human gene for physical performance. *Nature* 1998; 393: 221-2.
27. Myerson S, Henimgway H, Budget R, Martin J, Humphries S, Montgomery H. Human angiotensin I-converting enzyme gene and endurance performance. *J Appl Physiol* 1999; 87: 1313-6.
28. Rankinen T, Wolfarth B, Simoneau JA, Maier-Lenz D, Rauramaa R, Rivera MA, Boulay MR, Chagnon YC, Perusse L, Keul J, Bouchard C. No association between the angiotensin-converting enzyme ID polymorphism and elite endurance athlete status. *Journal of Applied Physiology* 2000; 88: 1571-5.
29. Taylor RR, Mamotte CD, Fallon K, van Bockxmeer FM. Elite athletes and the gene for angiotensin-converting enzyme. *J Appl Physiol* 1999; 87: 1035-7.
30. Miura S, Ideishi M, Sakai T, Motoyama M, Kinoshita A, Sasaguri M, Tanaka H, Shindo M, Arakawa K. Angiotensin II formation by an alternative pathway during exercise in humans. *J Hypertens* 1994; 12: 1177-81.
31. Staessen J, Fagard R, Hespel P, Lijnen P, Vanhees L, Amery A. Plasma renin system during exercise in normal men. *J Appl Physiol* 1987; 63: 188-94.
32. Aalto-Setälä K, Kontula K, Manttari M, Huttunen J, Manninen V, Koskinen P, Frick HM. DNA polymorphisms of apolipoprotein B and AI/CIII genes and response to gemfibrozil treatment. *Clin Pharmacol Ther* 1991; 50: 208-14.

Tables**Table 1.** Baseline Characteristics of Subjects According to Angiotensin Converting Enzyme (ACE) Genotypes (n = 47).

	ACE I/D Genotypes		
	II (n = 6)	ID (n = 25)	DD (n = 16)
Age (yrs)	43.7 ± 7.9	45.3 ± 6.3	45.8 ± 5.4
Weight (kg)	99.8 ± 14.8	94.4 ± 12.2	92.3 ± 7.7 ²
Height (cm)	171.2 ± 5.5	173.8 ± 6.4	173.9 ± 5.9
BMI (kg/m ²)	33.9 ± 3.4	31.2 ± 3.2	30.5 ± 1.9 ²
Waist circumference (cm)	108.3 ± 9.1	103.7 ± 8.0	101.6 ± 5.9 ²
Fat Mass (kg)	34.3 ± 11.5	27.9 ± 6.7 ⁰	28.5 ± 5.0 ²
Fat Free Mass (kg)	65.5 ± 4.6	65.6 ± 6.8 ⁰	63.8 ± 5.6 ²
Body fat (%)	33.6 ± 6.5	29.6 ± 4.2 ⁰	30.7 ± 4.0 ²
CT abdominal AT areas (cm²)			
Total	589 ± 134	507 ± 112	500 ± 67
Subcutaneous	387 ± 115	318 ± 86	327 ± 57
Visceral	202 ± 34	190 ± 66	173 ± 57
Blood Pressure (mm Hg)			
Systolic	127 ± 10	117 ± 8	119 ± 9
Diastolic	88 ± 11	81 ± 6	81 ± 7

Values are presented as mean ± SD; ⁰n = 23; ²n = 15.

BMI = body mass index; CT = Computed tomography; AT = adipose tissue.

Table 2. Baseline Characteristics of Subjects According to Combined Angiotensin Converting Enzyme (ACE) Genotypes (n = 47).

	ACE I/D Genotypes		ACE I/D Genotypes	
	I+ (n = 31)	DD (n = 16)	II (n = 6)	D+ (n = 41)
Age (yrs)	45.0 ± 6.6	45.8 ± 5.4	43.7 ± 7.9	45.5 ± 5.9
Weight (kg)	95.5 ± 12.7	92.3 ± 7.8 [ⓑ]	99.8 ± 14.8	93.6 ± 10.7 [ⓑ]
Height (cm)	173.3 ± 6.2	173.9 ± 5.9	171.2 ± 5.5	173.8 ± 6.2
BMI (kg/m ²)	31.7 ± 3.3	30.5 ± 1.9 [ⓑ]	33.9 ± 3.4	31.0 ± 2.7 ^{ⓑ*}
Waist circumference (cm)	104.5 ± 8.3	101.6 ± 5.9 [ⓑ]	108.3 ± 9.1	102.9 ± 7.3 [ⓑ]
Fat mass (kg)	29.2 ± 8.1 [ⓑ]	28.5 ± 5.0 [ⓑ]	34.3 ± 11.5	28.1 ± 6.0 ^{ⓑ*}
Fat free mass (kg)	65.5 ± 6.3 [ⓑ]	63.8 ± 5.6 [ⓑ]	65.5 ± 4.6	64.9 ± 6.3 [ⓑ]
Body fat (%)	30.4 ± 4.9 [ⓑ]	30.7 ± 4.0 [ⓑ]	33.6 ± 6.5	30.0 ± 4.1 [ⓑ]
CT abdominal AT areas (cm²)				
Total	523 ± 119	500 ± 67	589 ± 134	505 ± 96
Subcutaneous	331 ± 94	327 ± 57	387 ± 115	322 ± 75
Visceral	192 ± 61	173 ± 57	202 ± 34	183 ± 62
Blood Pressure (mm Hg)				
Systolic	119 ± 9	119 ± 9	127 ± 10	118 ± 8*
Diastolic	82 ± 8	81 ± 7	88 ± 11	81 ± 7*

Values are presented as mean ± SD; [ⓐ]n = 29; [ⓑ]n = 15; [ⓒ]n = 40; [ⓓ]n = 38.

BMI = body mass index; CT = Computed tomography; AT = adipose tissue.

*p < 0.05.

Table 3. Changes in Body Composition and Blood Pressure Response to the Intervention Program According to Angiotensin Converting Enzyme (ACE) Genotypes.

	ACE I/D Genotypes			ANOVA		
	II (n = 6)	ID (n = 25)	DD (n = 16)	p value*	p value†	p value‡
Weight (kg)	-6.1 ± 11.0	-3.8 ± 2.8	-4.3 ± 4.4	0.59	0.74	0.67
BMI (kg/m ²)	-2.1 ± 3.6	-1.3 ± 0.9	-1.5 ± 1.5	0.55	0.74	0.78
Waist circumference (cm)	-5.35 ± 9.2	-4.1 ± 2.1	-4.2 ± 4.3	0.81	0.82	0.93
Fat mass (kg)	-3.5 ± 9.2	-2.3 ± 2.5	-2.7 ± 4.1	0.85	0.87	0.98
Free fat mass (kg)	-2.7 ± 2.5	-1.4 ± 1.4	-1.6 ± 1.4	0.24	0.61	0.23
Body fat (%)	-1.2 ± 5.4	-1.4 ± 2.0	-1.7 ± 3.1	0.95	0.83	0.71
CT abdominal AT areas (cm²)						
Total	-72 ± 114	-70 ± 51	-68 ± 66	0.99	0.64	0.99
Subcutaneous	-34 ± 51	-30 ± 35	-40 ± 39	0.75	0.20	0.73
Visceral	-39 ± 65	-39 ± 29	-28 ± 30	0.59	0.84	0.73
Blood Pressure (mm Hg)						
Systolic	-3.8 ± 5.1	-3.3 ± 3.8	-6.4 ± 8.1	0.26	0.52	0.12
Diastolic	-1.8 ± 6.1	-2.8 ± 5.8	-2.6 ± 7.9	0.95	0.84	0.46

Values are presented as mean ± SD. Change are calculated as mean difference between the baseline and the final follow up value.

*Analyses of variance (ANOVA) between the three genotype groups.

†ANOVA between the three genotype groups when controlled for treatment.

‡ANOVA between the three genotype groups when controlled for baseline values.

BMI = body mass index; CT = Computed tomography; AT = adipose tissue.

Table 4. Changes in Body Composition and Resting Blood Pressure Response to the Intervention Program According to Combine Angiotensin Converting Enzyme (ACE) Genotypes (n = 47).

	ACE I/D Genotypes			ACE I/D Genotypes		
	I+ (n = 31)	DD (n = 16)	p value*	II (n = 6)	D+ (n = 41)	p value*
Weight (kg)	-4.2 ± 5.3	-4.3 ± 4.4 ²	0.98	-6.1 ± 11.0	-3.9 ± 3.4 ²	0.32
BMI (kg/m ²)	-1.4 ± 1.7	-1.5 ± 1.5 ²	0.98	-2.1 ± 3.6	-1.4 ± 1.2 ²	0.29
Waist circumference (cm)	-4.3 ± 4.2	-4.2 ± 4.3 ²	0.92	-5.4 ± 9.2	-4.1 ± 3.0 ²	0.51
Fat mass (kg)	-2.5 ± 4.5 ^D	-2.7 ± 4.1 ²	0.93	-3.5 ± 9.2	-2.4 ± 3.2 ²	0.60
Free fat mass (kg)	-1.7 ± 1.7 ^C	-1.6 ± 1.4 ²	0.92	-2.7 ± 2.5	-1.5 ± 1.4 ²	0.10
Body fat (%)	-1.4 ± 2.9 ^D	-1.7 ± 3.1 ²	0.77	-1.2 ± 5.4	-1.5 ± 2.5 ²	0.81
CT abdominal AT areas (cm²)						
Total	-70 ± 65	-68 ± 66	0.90	-72 ± 114	-69 ± 57	0.91
Subcutaneous	-31 ± 38	-40 ± 39	0.46	-34 ± 51	-34 ± 36	0.99
Visceral	-39 ± 37	-28 ± 30	0.30	-39 ± 65	-35 ± 30	0.82
Blood Pressure (mm Hg)						
SBP (mm Hg)	-3.4 ± 4.0	-6.4 ± 8.1	0.10	-3.8 ± 5.1	-4.5 ± 6.0	0.79
DBP (mm Hg)	-2.6 ± 5.8	-2.6 ± 7.9	0.98	-1.8 ± 6.1	-2.7 ± 6.6	0.76

Values are presented as mean ± SD; ¹n = 29; ²n = 15; ³n = 40; ⁴n = 38.

*Analyses of variance (ANOVA) between the two genotype groups.

BMI = body mass index; CT = Computed tomography; AT = adipose tissue.

Table 5. Analyses of Variance of Mean Changes in Plasma Lipid and Lipoprotein levels in Response to the Intervention Program.

	Baseline n = 47	Mean changes	ANOVA - p value		
			Genotypes*	Treatment†	Interaction‡
Chol/HDL-chol	6.68 ± 1.08	-0.80 ± 1.59	0.65	0.35	0.43
Cholesterol, mmol/L	5.55 ± 0.55	-0.40 ± 0.75	0.20	0.51	0.09
VLDL-chol, mmol/L	0.93 ± 0.33	-0.11 ± 0.93	0.75	0.93	0.48
LDL-chol, mmol/L	3.78 ± 0.52	-0.39 ± 0.54	0.92	0.56	0.97
HDL-chol, mmol/L	0.84 ± 0.10	0.06 ± 0.33	0.63	0.19	0.60
HDL ₂ -chol, mmol/L	0.17 ± 0.06	0.06 ± 0.11	0.45	0.27	0.40
HDL ₃ -chol, mmol/L	0.67 ± 0.09	-0.00 ± 0.14	0.79	0.06	0.71
Triglycerides, mmol/L	2.51 ± 0.72	-0.60 ± 0.8	0.97	0.02	0.92
Apo B, g/L	1.21 ± 0.15	-0.11 ± 0.17	0.14	0.10	0.08
LDL-Apo B, g/L	1.05 ± 0.14	-0.08 ± 0.15	0.28	0.30	0.39
Apo A1, g/L	1.16 ± 0.11	0.05 ± 0.10	0.09	0.09	0.12

All baseline and mean changes values are mmol/L and presented as mean ± SD.
*Analyses of variance of mean changes between the three genotype groups when controlled for treatment.

†Analyses of variance of mean changes between the two treatment groups when controlled for genotypes.

‡Analyses of variance showing the genotype-by-treatment interaction.

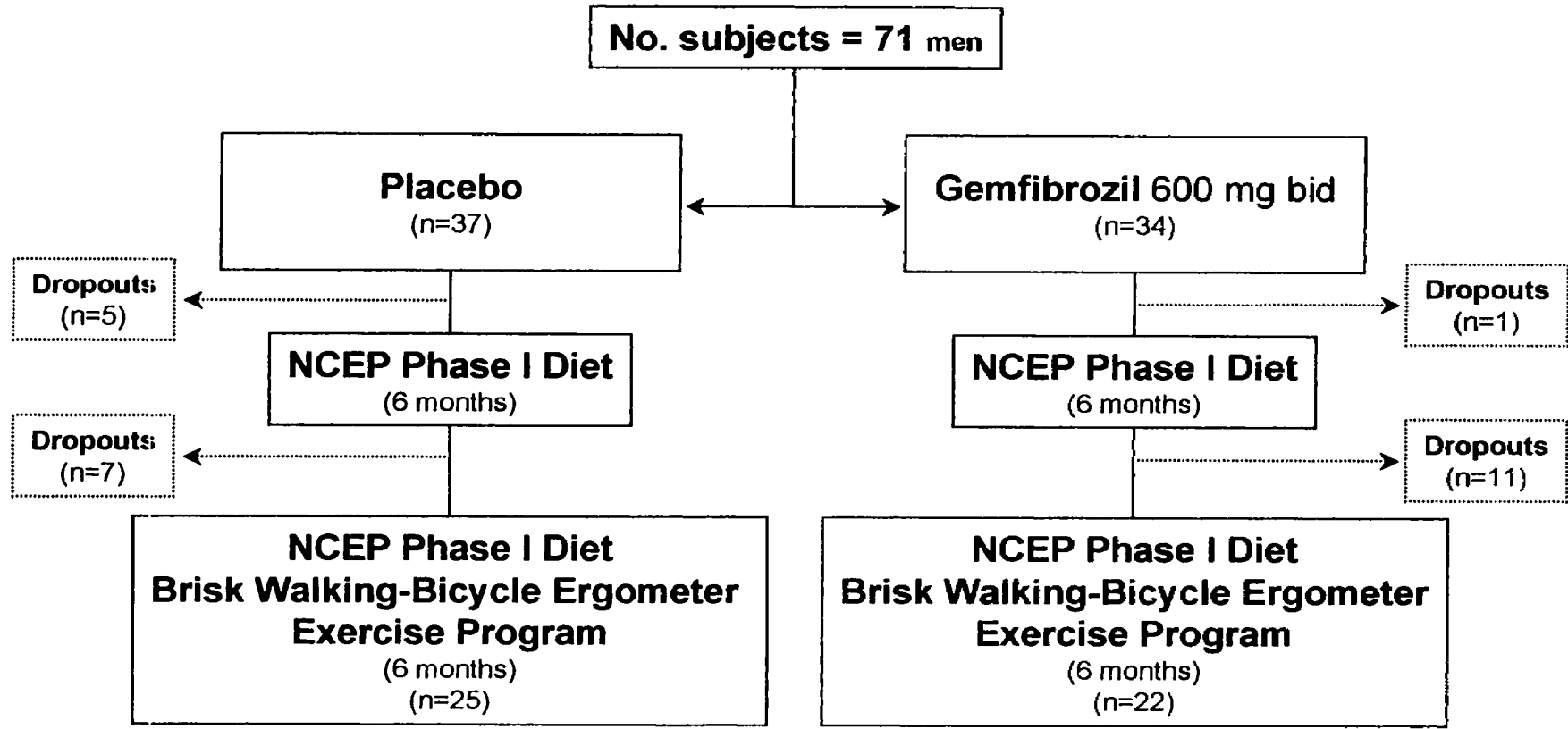


Figure 1. Experimental Design.

CHAPITRE 4

Conclusion

Récemment, plusieurs études ont documenté le rôle du polymorphisme I/D du gène de l'ACE sur la réponse de différents phénotypes à des traitements pharmacologiques et à des entraînements physiques. Toutefois, les changements observés au niveau des phénotypes sont d'origine multifactorielle et dépendent à la fois des facteurs environnementaux, génétiques et de l'interaction entre ces derniers. Dans le but d'évaluer l'influence d'un certain facteur génétique sur la variabilité interindividuelle observée au niveau de certains phénotypes à la suite d'un programme d'intervention, nous avons utilisé l'approche du gène candidat. Celle-ci consiste à identifier un marqueur génétique dans un gène potentiellement impliqué au phénotype d'intérêt. Dans le présent mémoire, le polymorphisme insertion/délétion de l'intron 16 du gène de l'ACE constituait notre marqueur génétique. Les changements des concentrations plasmatiques des lipides et des lipoprotéines en réponse au gemfibrozil ainsi que les changements observés au niveau de la tension artérielle et de la composition corporelle en réponse à un programme d'exercice en endurance représentaient nos phénotypes d'intérêts. Cette approche permet d'établir la présence

ou l'absence de relation entre les génotypes et les phénotypes d'intérêts dans une population donnée. La population de l'étude était un groupe d'hommes caractérisés par le syndrome dyslipidémique associé à l'obésité abdominale.

Le chapitre 2 présente des résultats intéressants dans le domaine de la pharmacogénétique. Dans cette première étude, les hommes ont été randomisés dans un groupe avec ou sans gemfibrozil pour une durée de six mois. L'interaction rapportée entre la médication et le polymorphisme I/D du gène de l'ACE sur les changements de concentrations plasmatiques du cholestérol-HDL constitue le résultat majeur de la première étude. Marian et collaborateurs⁸⁶ ont rapporté des résultats similaires avec l'utilisation de la fluvastatine. En effet, dans les deux études, les sujets ayant le génotype DD semblent bénéficier davantage des effets d'un traitement hypolipidémiant. Toutefois, une étude réalisée auprès d'un plus grand nombre d'individus est nécessaire afin de confirmer ces résultats.

Dans la deuxième étude de ce mémoire, nous nous sommes particulièrement intéressés à l'influence du polymorphisme I/D sur la réponse de différents indices d'adiposité et de tension artérielle à un entraînement en endurance. L'étude a été réalisée sur la même cohorte d'hommes qui ont complété un programme d'exercice en endurance additionnel d'une durée de six mois. Il avait été démontré que les porteurs de l'allèle I répondaient de façon plus favorable à un programme d'exercice en endurance. Premièrement, Hagberg et collaborateurs¹¹⁹ rapportaient auprès d'un échantillon de 18 sujets, une plus grande diminution de la tension artérielle de repos chez les porteurs de cet allèle suivant un programme d'exercice en endurance. Deuxièmement, Montgomery et collaborateurs¹¹² ont démontré une plus grande augmentation de la masse maigre et un maintien de la masse grasse chez les sujets II, comparativement au sujets porteurs de l'allèle D. Toutefois, les mesures de la composition corporelle dans cette étude n'ont pas été effectuées à l'aide de méthodes sophistiquées. À l'opposé, les résultats rapportés dans le troisième chapitre ont été effectués auprès d'une cohorte de 47 hommes et les mesures des différents indices de la composition corporelle et de distribution de la graisse ont été réalisées respectivement à l'aide de la pesée hydrostatique et de la tomographie axiale. Aucune

influence du polymorphisme I/D du gène de l'ACE sur ces phénotypes n'a été observée dans la présente étude. De même, des études de plus grande envergure ont rapporté des résultats similaires auprès d'une cohorte d'individus sédentaires, suite à un programme d'entraînement standardisé d'une durée de 20 semaines^{90, 118}. Dans l'ensemble, ces résultats suggèrent que le génotype de l'ACE ne semble pas influencer la réponse de ces phénotypes à un entraînement en endurance chez les individus originellement sédentaires. Néanmoins, certains auteurs suggèrent que le polymorphisme I/D du gène de l'ACE joue un rôle au niveau de la performance dans des sports d'endurance extrême¹²⁰.

Par ailleurs, il n'est pas surprenant de constater l'absence d'influence du génotype de l'ACE sur la réponse à un entraînement en endurance. Par définition, un gène candidat est un gène impliqué ou potentiellement impliqué dans le phénotype d'intérêt. L'ACE ne semble pas répondre à cette définition en regard à la réponse à l'entraînement. Il faut se rappeler que le polymorphisme explique en grande partie les variations plasmatiques de l'enzyme⁵⁹, son activité⁴² et son degré d'expression dans les cellules⁶¹. En présence d'une influence du polymorphisme I/D de cette enzyme, on devrait s'attendre à ce que des associations positives soient observées entre différents phénotypes dus à ces mécanismes physiologiques. En d'autres mots, l'avantage de l'allèle I envers un entraînement en endurance devrait s'expliquer par une concentration plasmatique réduite et/ou une activité diminuée de l'enzyme qui causerait une diminution dans la synthèse de l'Ang II. À cet effet, il est démontré que la concentration d'Ang II au repos n'est pas affectée par le polymorphisme I/D¹²¹. De plus, il faut mentionner que le SRA est perturbé suite à une séance d'exercice, puisque l'on observe une augmentation de la concentration plasmatique de l'Ang II¹²². Toutefois, l'augmentation de l'Ang II est indépendante de l'activité de l'ACE¹²³ et n'est pas affectée par la présence des inhibiteurs de l'ACE¹²⁴. Ces constats suggèrent que le polymorphisme I/D joue un rôle important dans la régulation de l'ACE, mais ne semble pas affecter le produit final du SRA. D'autre part, le fait de diminuer artificiellement l'action de l'ACE par des IACE, ce qui est analogue à posséder l'allèle I, ne change pas pour autant la performance chez des sujets bien entraînés¹²⁵. En conclusion, les

chercheurs qui soutiennent l'existence d'un effet du polymorphisme I/D du gène de l'ACE sur la réponse à un entraînement ou sur la performance athlétique détiennent toujours le fardeau de la preuve.

Une observation intéressante qui découle des résultats de la deuxième étude, est l'absence d'interaction entre le gemfibrozil et le polymorphisme I/D sur les changements de concentrations plasmatiques de cholestérol-HDL qui ont été observés dans la première étude. Ce phénomène peut s'expliquer par l'effet chronique de l'exercice sur les taux plasmatiques de cholestérol-HDL lors des six derniers mois du programme d'intervention. En effet, Prud'homme et collaborateurs (article soumis) ont rapporté, dans la même cohorte de sujets une amélioration du profil lipidique chez le groupe placebo suivant le programme d'exercice en endurance. Donc, l'effet d'interaction présenté au chapitre 2 entre le gemfibrozil et le polymorphisme I/D du gène de l'ACE au niveau des changements des concentrations plasmatiques de cholestérol-HDL a sûrement été «noyé» par l'entraînement physique subi par les sujets au chapitre 3. Ceci démontre bien la complexité de disséquer l'influence de la génétique sur des traits complexes.

Malgré que l'approche du gène candidat soit très populaire dans le but d'identifier le rôle d'un gène auprès d'un phénotype quelconque, l'utilisation de cette approche est très limitée dans un contexte pluri-interventionnelle qui s'intéresse à des traits quantitatifs. Dans le but d'optimiser l'identification des gènes impliqués dans la réponse à l'entraînement le recours à une intervention unique ainsi qu'à d'autres techniques d'analyse génétique, comme le criblage génomique, pourraient s'avérer plus efficaces.

RÉFÉRENCES

1. Bouchard C. Individual differences in the response to regular exercise. *Int J Obes Relat Metab Disord* 1995; 19 Suppl 4:S5-8.
2. Wolf CR, Smith G. Pharmacogenetics. *Br Med Bull* 1999; 55:366-86.
3. Manninen V, Elo MO, Frick MH, et al. Lipid alterations and decline in the incidence of coronary heart disease in the Helsinki Heart Study. *JAMA* 1988; 260:641-51.
4. Rubins HB, Robins SJ, Collins D, et al. Gemfibrozil for the secondary prevention of coronary heart disease in men with low levels of high-density lipoprotein cholesterol. Veterans Affairs High-Density Lipoprotein Cholesterol Intervention Trial Study Group. *N Engl J Med* 1999; 341:410-8.
5. Staels B, Dallongeville J, Auwerx J, Schoonjans K, Leitersdorf E, Fruchart JC. Mechanism of action of fibrates on lipid and lipoprotein metabolism. *Circulation* 1998; 98:2088-93.
6. Malmendier CL, Lontie JF, Delcroix C, Dubois DY, Magot T, De Roy L. Apolipoproteins C-II and C-III metabolism in hypertriglyceridemic patients. Effect of a drastic triglyceride reduction by combined diet restriction and fenofibrate administration. *Atherosclerosis* 1989; 77:139-49.
7. Heller F, Harvengt C. Effects of clofibrate, bezafibrate, fenofibrate and probucol on plasma lipolytic enzymes in normolipaemic subjects. *Eur J Clin Pharmacol* 1983; 25:57-63.

8. Martin G, Schoonjans K, Lefebvre AM, Staels B, Auwerx J. Coordinate regulation of the expression of the fatty acid transport protein and acyl-CoA synthetase genes by PPARalpha and PPARgamma activators. *J Biol Chem* 1997; 272:28210-7.
9. Schoonjans K, Watanabe M, Suzuki H, et al. Induction of the acyl-coenzyme A synthetase gene by fibrates and fatty acids is mediated by a peroxisome proliferator response element in the C promoter. *J Biol Chem* 1995; 270:19269-76.
10. Vu-Dac N, Schoonjans K, Kosykh V, et al. Fibrates increase human apolipoprotein A-II expression through activation of the peroxisome proliferator-activated receptor. *J Clin Invest* 1995; 96:741-50.
11. Berthou L, Duverger N, Emmanuel F, et al. Opposite regulation of human versus mouse apolipoprotein A-I by fibrates in human apolipoprotein A-I transgenic mice. *J Clin Invest* 1996; 97:2408-16.
12. Lander ES, Linton LM, Birren B, et al. Initial sequencing and analysis of the human genome. International Human Genome Sequencing Consortium. *Nature* 2001; 409:860-921.
13. Venter JC, Adams MD, Myers EW, et al. The sequence of the human genome. *Science* 2001; 291:1304-51.
14. Aalto-Setälä K, Kontula K, Manttari M, et al. DNA polymorphisms of apolipoprotein B and AI/CIII genes and response to gemfibrozil treatment. *Clin Pharmacol Ther* 1991; 50:208-14.
15. American College of Sports Medicine Position Stand. The recommended quantity and quality of exercise for developing and maintaining cardiorespiratory and muscular fitness, and flexibility in healthy adults. *Med Sci Sports Exerc* 1998; 30:975-91.
16. Physical activity and cardiovascular health. NIH Consensus Development Panel on Physical Activity and Cardiovascular Health. *JAMA* 1996; 276:241-6.

17. Fletcher GF, Balady G, Blair SN, et al. Statement on exercise: benefits and recommendations for physical activity programs for all Americans. A statement for health professionals by the Committee on Exercise and Cardiac Rehabilitation of the Council on Clinical Cardiology, American Heart Association. *Circulation* 1996; 94:857-62.
18. Surgeon General's report on physical activity and health. From the Centers for Disease Control and Prevention. *JAMA* 1996; 276:522.
19. Bouchard C, Tremblay A, Nadeau A, et al. Long-term exercise training with constant energy intake. 1: Effect on body composition and selected metabolic variables. *Int J Obes* 1990; 14:57-73.
20. Tremblay A, Nadeau A, Despres JP, St-Jean L, Theriault G, Bouchard C. Long-term exercise training with constant energy intake. 2: Effect on glucose metabolism and resting energy expenditure. *Int J Obes* 1990; 14:75-84.
21. Despres JP, Tremblay A, Moorjani S, et al. Long-term exercise training with constant energy intake. 3: Effects on plasma lipoprotein levels. *Int J Obes* 1990; 14:85-94.
22. Despres JP, Lamarche B. Low-intensity endurance exercise training, plasma lipoproteins and the risk of coronary heart disease. *J Intern Med* 1994; 236:7-22.
23. Kuczmarski RJ, Carroll MD, Flegal KM, Troiano RP. Varying body mass index cutoff points to describe overweight prevalence among U.S. adults: NHANES III (1988 to 1994). *Obes Res* 1997; 5:542-8.
24. Proper and improper weight loss programs. *Med Sci Sports Exerc* 1983; 15:ix-xiii.
25. Bouchard C, Tremblay A, Despres JP, et al. The response to exercise with constant energy intake in identical twins. *Obesity Research* 1994; 2.
26. The 1988 report of the Joint National Committee on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Pressure. *Arch Intern Med* 1988; 148:1023-38.
27. American College of Sports Medicine. Position Stand. Physical activity, physical fitness, and hypertension. *Med Sci Sports Exerc* 1993; 25:i-x.

28. Wilmore JH, Stanforth PR, Gagnon J, et al. Heart rate and blood pressure changes with endurance training: the HERITAGE Family Study. *Med Sci Sports Exerc* 2001; 33:107-16.
29. Despres JP, Lamarche B, Bouchard C, Tremblay A, Prud'homme D. Exercise and the prevention of dyslipidemia and coronary heart disease. *Int J Obes Relat Metab Disord* 1995; 19 Suppl 4:S45-51.
30. Despres JP, Moorjani S, Tremblay A, et al. Heredity and changes in plasma lipids and lipoproteins after short-term exercise training in men. *Arteriosclerosis* 1988; 8:402-9.
31. Bouchard B, Malina RM, Pérusse L. Genetics of fitness and physical performance. Champaign, IL: Human Kinetics, 1997:92-6.
32. Bouchard C, Pérusse L. Heredity, activity level, fitness, and health. In *Physical activity, fitness, and health*. Champaign, IL: Human Kinetics, 1994.
33. Kem DC, Brown RD. Renin--from beginning to end. *N Engl J Med* 1990; 323:1136-7.
34. Jones BH, Standridge MK, Taylor JW, Moustaid N. Angiotensinogen gene expression in adipose tissue: analysis of obese models and hormonal and nutritional control. *Am J Physiol* 1997; 273:R236-42.
35. Griendling KK, Murphy TJ, Alexander RW. Molecular biology of the renin-angiotensin system. *Circulation* 1993; 87:1816-28.
36. Karlsson C, Lindell K, Ottosson M, Sjöström L, Carlsson B, Carlsson LM. Human adipose tissue expresses angiotensinogen and enzymes required for its conversion to angiotensin II. *J Clin Endocrinol Metab* 1998; 83:3925-9.
37. Paul M, Wagner J, Dzau VJ. Gene expression of the renin-angiotensin system in human tissues. Quantitative analysis by the polymerase chain reaction. *J Clin Invest* 1993; 91:2058-64.
38. Dzau VJ, Re R. Tissue angiotensin system in cardiovascular medicine. A paradigm shift?. *Circulation* 1994; 89:493-8.
39. Trollet MR, Phillips MI. The effect of chronic bilateral nephrectomy on plasma and brain angiotensin. *J Hypertens* 1992; 10:29-36.

40. Phillips MI, Speakman EA, Kimura B. Levels of angiotensin and molecular biology of the tissue renin angiotensin systems. *Regul Pept* 1993; 43:1-20.
41. Bunnemann B, Fuxe K, Ganter D. The brain renin-angiotensin system: localization and general significance. *J Cardiovasc Pharmacol* 1992; 19:S51-62.
42. Danser AH, Schalekamp MA, Bax WA, et al. Angiotensin-converting enzyme in the human heart. Effect of the deletion/insertion polymorphism. *Circulation* 1995; 92:1387-8.
43. Dzau VJ. Vascular renin-angiotensin system and vascular protection. *J Cardiovasc Pharmacol* 1993; 22:S1-9.
44. Dragovic T, Minshall R, Jackman HL, Wang LX, Erdos EG. Kininase II-type enzymes. Their putative role in muscle energy metabolism. *Diabetes* 1996; 45 Suppl 1:S34-7.
45. Levens NR. Local control of jejunal absorption by the renin-angiotensin system. *J Cardiovasc Pharmacol* 1986; 8:S17-22.
46. Timmermans PB, Wong PC, Chiu AT, et al. Angiotensin II receptors and angiotensin II receptor antagonists. *Pharmacol Rev* 1993; 45:205-51.
47. Lever AF. Slow developing pressor effect of angiotensin II and vascular structure. *J Hypertens Suppl* 1993; 11:S27-8.
48. Oliverio MI, Coffman TM. Angiotensin II receptor physiology using gene targeting. *News Physiol Sci* 2000; 15:171-5.
49. Kalkanis SN, Sloane D, Strichartz GR, Lilly LS. Cardiovascular drugs. In: Lilly LS, ed. *Pathophysiology of heart disease*. Baltimore, Maryland: Williams & Wilkins, 1998.
50. Erdos EG, Skidgel RA. The angiotensin I-converting enzyme. *Lab Invest* 1987; 56:345-8.
51. Yusuf S, Sleight P, Pogue J, Bosch J, Davies R, Dagenais G. Effects of an angiotensin-converting-enzyme inhibitor, ramipril, on cardiovascular events in high-risk patients. The Heart Outcomes Prevention Evaluation Study Investigators. *N Engl J Med* 2000; 342:145-53.

52. Yusuf S, Pepine CJ, Garces C, et al. Effect of enalapril on myocardial infarction and unstable angina in patients with low ejection fractions. *Lancet* 1992; 340:1173-8.
53. Alhenc-Gelas F, Richard J, Courbon D, Warnet JM, Corvol P. Distribution of plasma angiotensin I-converting enzyme levels in healthy men: relationship to environmental and hormonal parameters. *J Lab Clin Med* 1991; 117:33-9.
54. Cambien F, Alhenc-Gelas F, Herbeth B, et al. Familial resemblance of plasma angiotensin-converting enzyme level: the Nancy Study. *Am J Hum Genet* 1988; 43:774-80.
55. Soubrier F, Alhenc-Gelas F, Hubert C, et al. Two putative active centers in human angiotensin I-converting enzyme revealed by molecular cloning. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1988; 85:9386-90.
56. Mattei M-G, Hubert C, Alhenc-Gelas F, Roeckel N, Corvol P, Soubrier F. Angiotensin-1 converting enzyme gene is on chromosome 17. *Cytogenet Cell Genet* 1989; 51:1041.
57. Villard E, Tiret L, Visvikis S, Rakotovo R, Cambien F, Soubrier F. Identification of new polymorphisms of the angiotensin I-converting enzyme (ACE) gene, and study of their relationship to plasma ACE levels by two-QTL segregation-linkage analysis. *Am J Hum Genet* 1996; 58:1268-78.
58. Rieder MJ, Taylor SL, Clark AG, Nickerson DA. Sequence variation in the human angiotensin converting enzyme. *Nat Genet* 1999; 22:59-62.
59. Rigat B, Hubert C, Alhenc-Gelas F, Cambien F, Corvol P, Soubrier F. An insertion/deletion polymorphism in the angiotensin I-converting enzyme gene accounting for half the variance of serum enzyme levels. *J Clin Invest* 1990; 86:1343-6.
60. Kuznetsova T, Staessen JA, Wang JG, et al. Antihypertensive treatment modulates the association between the D/I ACE gene polymorphism and left ventricular hypertrophy: a meta-analysis. *J Hum Hypertens* 2000; 14:447-54.

61. Costerousse O, Allegrini J, Lopez M, Alhenc-Gelas F. Angiotensin I-converting enzyme in human circulating mononuclear cells: genetic polymorphism of expression in T-lymphocytes. *Biochem J* 1993; 290:33-40.
62. Nakai K, Itoh C, Miura Y, et al. Deletion polymorphism of the angiotensin I-converting enzyme gene is associated with serum ACE concentration and increased risk for CAD in the Japanese. *Circulation* 1994; 90:2199-202.
63. Cambien F, Poirier O, Lecerf L, et al. Deletion polymorphism in the gene for angiotensin-converting enzyme is a potent risk factor for myocardial infarction. *Nature* 1992; 359:641-4.
64. Schunkert H, Hense HW, Holmer SR, et al. Association between a deletion polymorphism of the angiotensin-converting-enzyme gene and left ventricular hypertrophy. *N Engl J Med* 1994; 330:1634-8.
65. Marian AJ, Yu QT, Workman R, Greve G, Roberts R. Angiotensin-converting enzyme polymorphism in hypertrophic cardiomyopathy and sudden cardiac death. *Lancet* 1993; 342:1085-6.
66. Amant C, Bauters C, Bodart JC, et al. D allele of the angiotensin I-converting enzyme is a major risk factor for restenosis after coronary stenting. *Circulation* 1997; 96:56-60.
67. Bauters C, Amouyel P, Bertrand ME. ACE gene polymorphism and coronary restenosis. *Semin Interv Cardiol* 1999; 4:145-9.
68. Castellano M, Muiesan ML, Rizzoni D, et al. Angiotensin-converting enzyme I/D polymorphism and arterial wall thickness in a general population. The Vobarno Study. *Circulation* 1995; 91:2721-4.
69. Hu J, Miyatake F, Aizu Y, et al. Angiotensin-converting enzyme genotype is associated with Alzheimer disease in the Japanese population. *Neurosci Lett* 1999; 277:65-7.
70. Bengtsson K, Orho-Melander M, Lindblad U, et al. Polymorphism in the angiotensin converting enzyme but not in the angiotensinogen gene is associated with hypertension and type 2 diabetes: the Skaraborg Hypertension and diabetes project. *J Hypertens* 1999; 17:1569-75.

71. Marre M, Hadjadj S, Bouhanick B. Hereditary factors in the development of diabetic renal disease. *Diabetes Metab* 2000; 26 Suppl 4:30-6.
72. Navis G, van der Kleij FG, de Zeeuw D, de Jong PE. Angiotensin-converting enzyme gene I/D polymorphism and renal disease. *J Mol Med* 1999; 77:781-91.
73. Pullmann R, Jr., Lukac J, Skerenova M, et al. Association between systemic lupus erythematosus and insertion/deletion polymorphism of the angiotensin converting enzyme (ACE) gene. *Clin Exp Rheumatol* 1999; 17:593-6.
74. Bartres-Faz D, Junque C, Clemente IC, et al. Angiotensin I converting enzyme polymorphism in humans with age-associated memory impairment: relationship with cognitive performance. *Neurosci Lett* 2000; 290:177-80.
75. Ashavaid TF, Shalia KK, Nair KG, Dalal JJ. ACE and AT1R gene polymorphisms and hypertension in Indian population. *J Clin Lab Anal* 2000; 14:230-7.
76. Bedir A, Arik N, Adam B, Kilinc K, Gumus T, Guner E. Angiotensin converting enzyme gene polymorphism and activity in Turkish patients with essential hypertension. *Am J Hypertens* 1999; 12:1038-43.
77. Berge KE, Berg K. No effect of insertion/deletion polymorphism at the ACE locus on normal blood pressure level or variability. *Clin Genet* 1994; 45:169-74.
78. Clarkson PB, Prasad N, MacLeod C, Burchell B, MacDonald TM. Influence of the angiotensin converting enzyme I/D gene polymorphisms on left ventricular diastolic filling in patients with essential hypertension. *J Hypertens* 1997; 15:995-1000.
79. Fornage M, Amos CI, Kardina S, Sing CF, Turner ST, Boerwinkle E. Variation in the region of the angiotensin-converting enzyme gene influences interindividual differences in blood pressure levels in young white males. *Circulation* 1998; 97:1773-9.
80. Hosoi M, Nishizawa Y, Kogawa K, et al. Angiotensin-converting enzyme gene polymorphism is associated with carotid arterial wall thickness in non-insulin-dependent diabetic patients. *Circulation* 1996; 94:704-7.

81. Iwai N, Ohmichi N, Nakamura Y, Kinoshita M. DD genotype of the angiotensin-converting enzyme gene is a risk factor for left ventricular hypertrophy. *Circulation* 1994; 90:2622-8.
82. Jeunemaitre X, Lifton RP, Hunt SC, Williams RR, Lalouel JM. Absence of linkage between the angiotensin converting enzyme locus and human essential hypertension. *Nat Genet* 1992; 1:72-5.
83. Johnson AG, Simons LA, Friedlander Y, Simons J, Davis DR, MaCallum J. I/D polymorphism of the angiotensin-converting enzyme gene does not predict isolated systolic or systolic-diastolic hypertension in the elderly. *J Hum Hypertens* 1996; 10:167-9.
84. Kanazawa H, Okamoto T, Hirata K, Yoshikawa J. Deletion polymorphisms in the angiotensin converting enzyme gene are associated with pulmonary hypertension evoked by exercise challenge in patients with chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med* 2000; 162:1235-8.
85. Liu Q, Lei H, Wang X. The relationship of angiotensin-converting enzyme gene to essential hypertension and drug treatment in chongqing. *Chung Hua I Hsueh I Chuan Hsueh Tsa Chih* 2000; 17:340-2.
86. Marian AJ, Safavi F, Ferlic L, Dunn JK, Gotto AM, Ballantyne CM. Interactions between angiotensin-I converting enzyme insertion/deletion polymorphism and response of plasma lipids and coronary atherosclerosis to treatment with fluvastatin: the lipoprotein and coronary atherosclerosis study. *J Am Coll Cardiol* 2000; 35:89-95.
87. O'Donnell CJ, Lindpaintner K, Larson MG, et al. Evidence for association and genetic linkage of the angiotensin-converting enzyme locus with hypertension and blood pressure in men but not women in the Framingham Heart Study. *Circulation* 1998; 97:1766-72.
88. Oren I, Brook JG, Gershoni-Baruch R, et al. The D allele of the angiotensin-converting enzyme gene contributes towards blood LDL-cholesterol levels and the presence of hypertension. *Atherosclerosis* 1999; 145:267-71.

89. Pamies Andreu E, Palmero Palmero C, Garcia Lozano R, et al. The effect of the angiotensinogen M235T and the angiotensin-converting enzyme I/D polymorphisms on arterial hypertension and other cardiovascular risk factors. *Med Clin (Barc)* 1999; 113:164-8.
90. Rankinen T, Gagnon J, Perusse L, et al. AGT M235T and ACE ID polymorphisms and exercise blood pressure in the HERITAGE Family Study. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2000; 279:H368-74.
91. Rice T, Rankinen T, Province MA, et al. Genome-wide linkage analysis of systolic and diastolic blood pressure : the Quebec family study. *Circulation* 2000; 102:1956-63.
92. Schmidt S, van Hooft IM, Grobbee DE, Ganten D, Ritz E. Polymorphism of the angiotensin I converting enzyme gene is apparently not related to high blood pressure: Dutch Hypertension and Offspring Study. *J Hypertens* 1993; 11:345-8.
93. Schunkert H, Hense HW, Muscholl M, Luchner A, Riegger GA. Association of angiotensin converting enzyme activity and arterial blood pressure in a population-based sample. *J Hypertens* 1996; 14:571-5.
94. Stavroulakis GA, Makris TK, Krespi PG, et al. Predicting response to chronic antihypertensive treatment with fosinopril: the role of angiotensin-converting enzyme gene polymorphism. *Cardiovasc Drugs Ther* 2000; 14:427-32.
95. Stefansson B, Ricksten A, Rymo L, Aurell M, Herlitz H. Angiotensin-converting enzyme gene I/D polymorphism in malignant hypertension. *Blood Press* 2000; 9:104-9.
96. Thomas GN, Young RP, Tomlinson B, Woo KS, Sanderson JE, Critchley JA. Renin-angiotensin-aldosterone system gene polymorphisms and hypertension in Hong Kong Chinese. *Clin Exp Hypertens* 2000; 22:87-97.
97. Turner ST, Boerwinkle E, Sing CF. Context-dependent associations of the ACE I/D polymorphism with blood pressure. *Hypertension* 1999; 34:773-8.
98. Uemura K, Nakura J, Kohara K, Miki T. Association of ACE I/D polymorphism with cardiovascular risk factors. *Hum Genet* 2000; 107:239-42.

99. Vasku A, Soucek M, Hajek D, Holla L, Znojil V, Vacha J. Association analysis of 24-h blood pressure records with I/D ACE gene polymorphism and ABO blood group system. *Physiol Res* 1999; 48:99-104.
100. Zee RY, Lou YK, Griffiths LR, Morris BJ. Association of a polymorphism of the angiotensin I-converting enzyme gene with essential hypertension. *Biochem Biophys Res Commun* 1992; 184:9-15.
101. Baudin B. Angiotensin I-converting enzyme gene polymorphism and drug response. *Clin Chem Lab Med* 2000; 38:853-6.
102. Hernandez D, Lacalzada J, Salido E, et al. Regression of left ventricular hypertrophy by lisinopril after renal transplantation: role of ACE gene polymorphism. *Kidney Int* 2000; 58:889-97.
103. Okamura A, Ohishi M, Rakugi H, et al. Pharmacogenetic analysis of the effect of angiotensin-converting enzyme inhibitor on restenosis after percutaneous transluminal coronary angioplasty. *Angiology* 1999; 50:811-22.
104. Anderson TJ, Elstein E, Haber H, Charbonneau F. Comparative study of ACE-inhibition, angiotensin II antagonism, and calcium channel blockade on flow-mediated vasodilation in patients with coronary disease (BANFF study). *J Am Coll Cardiol* 2000; 35:60-6.
105. Montgomery HE, Marshall R, Hemingway H, et al. Human gene for physical performance. *Nature* 1998; 393:221-2.
106. Gayagay G, Yu B, Hambly B, et al. Elite endurance athletes and the ACE I allele--the role of genes in athletic performance. *Hum Genet* 1998; 103:48-50.
107. Hagberg JM, Ferrell RE, McCole SD, Wilund KR, Moore GE. VO₂ max is associated with ACE genotype in postmenopausal women. *J Appl Physiol* 1998; 85:1842-6.
108. Myerson S, Hemingway H, Budget R, Martin J, Humphries S, Montgomery H. Human angiotensin I-converting enzyme gene and endurance performance. *J Appl Physiol* 1999; 87:1313-6.

109. Alvarez R, Terrados N, Ortolano R, et al. Genetic variation in the renin-angiotensin system and athletic performance. *Eur J Appl Physiol* 2000; 82:117-20.
110. Taylor RR, Mamotte CD, Fallon K, van Bockxmeer FM. Elite athletes and the gene for angiotensin-converting enzyme. *J Appl Physiol* 1999; 87:1035-7.
111. Rankinen T, Wolfarth B, Simoneau JA, et al. No association between the angiotensin-converting enzyme ID polymorphism and elite endurance athlete status. *J Appl Physiol* 2000; 88:1571-5.
112. Montgomery H, Clarkson P, Barnard M, et al. Angiotensin-converting-enzyme gene insertion/deletion polymorphism and response to physical training. *Lancet* 1999; 353:541-5.
113. Nagashima J, Musha H, Takada H, et al. Influence of angiotensin-converting enzyme gene polymorphism on development of athlete's heart. *Clin Cardiol* 2000; 23:621-4.
114. Montgomery HE, Clarkson P, Dollery CM, et al. Association of angiotensin-converting enzyme gene I/D polymorphism with change in left ventricular mass in response to physical training. *Circulation* 1997; 96:741-7.
115. Fatini C, Guazzelli R, Manetti P, et al. RAS genes influence exercise-induced left ventricular hypertrophy: an elite athletes study. *Med Sci Sports Exerc* 2000; 32:1868-72.
116. Williams AG, Rayson MP, Jubb M, et al. The ACE gene and muscle performance. *Nature* 2000; 403:614.
117. Folland J, Leach B, Little T, et al. Angiotensin-converting enzyme genotype affects the response of human skeletal muscle to functional overload. *Exp Physiol* 2000; 85:575-9.
118. Rankinen T, Perusse L, Gagnon J, et al. Angiotensin-converting enzyme ID polymorphism and fitness phenotype in the HERITAGE Family Study. *J Appl Physiol* 2000; 88:1029-35.

119. Hagberg JM, Ferrell RE, Dengel DR, Wilund KR. Exercise training-induced blood pressure and plasma lipid improvements in hypertensives may be genotype dependent. *Hypertension* 1999; 34:18-23.
120. Woods DR, Humphries SE, Montgomery HE. The ACE I/D Polymorphism and Human Physical Performance. *Trends Endocrinol Metab* 2000; 11:416-420.
121. Lachurie ML, Azizi M, Guyene TT, Alhenc-Gelas F, Menard J. Angiotensin-converting enzyme gene polymorphism has no influence on the circulating renin-angiotensin-aldosterone system or blood pressure in normotensive subjects. *Circulation* 1995; 91:2933-42.
122. Staessen J, Fagard R, Hespel P, Lijnen P, Vanhees L, Amery A. Plasma renin system during exercise in normal men. *J Appl Physiol* 1987; 63:188-94.
123. Miura S, Ideishi M, Sakai T, et al. Angiotensin II formation by an alternative pathway during exercise in humans. *J Hypertens* 1994; 12:1177-81.
124. Aldigier JC, Huang H, Dalmay F, et al. Angiotensin-converting enzyme inhibition does not suppress plasma angiotensin II increase during exercise in humans. *J Cardiovasc Pharmacol* 1993; 21:289-95.
125. Predel HG, Rohden C, Heine O, Prinz U, Rost RE. ACE inhibition and physical exercise: studies on physical work capacity, energy metabolism, and maximum oxygen uptake in well-trained, healthy subjects. *J Cardiovasc Pharmacol* 1994; 23:S25-8.