ACTUALITÉS DANS LE DÉPISTAGE DE LA PRÉÉCLAMPSIE: LES MARQUEURS ANGIOGÉNIQUES.

62èmes Journées de l'innovation en biologie (JIB 2019)

AKSAS K. ZENATI A. MAKRELOUF M. (Laboratoire Central De Biologie-CHU BAO-ALGER)

Définition de la PREECLAMPSIE

- Désordre hypertensif de la grossesse ou THG
- Maladie de l'endothélium maternel
  - Endothéliose d'origine placentaire
- Pathologie non retrouvée chez l'animal
- Pathologie multifactorielle
- L'induction de l'accouchement est le seul traitement curatif connu de cette pathologie.

EPIDEMIOLOGIE

Dans le monde

- 3% - 10% des grossesses
- THG ⟶ 18% de la mortalité maternelle mondiale
  ⟶ 26% des décès néonatals dans les pays en voie de développement (OMS, 2006; GHAE, 2012)

Dans les pays anglo-saxons

1 à 7% des grossesses

Aux USA, la fréquence est +imp chez les gestantes afro-américaines

En Afrique

4% à 18% (certaines ethnies) (Sherif et al Afr J Med Med Sci 2000)

EPIDEMIOLOGIE

En Algérie

- Selon un *rapport du ministère de la santé sur la périnatalité (programme 2006-2009)*

%THG = 36.7%

- Dont la moitié serait d'origine gravidique
- Les complications de la PE (**Eclampsie, HELLP**) représentent la *première cause* de décès maternel (**30%**) et fœtal (**18.4%**)

Diagnostic de la prééclampsie

- RFEF (2009), USAID (2011), SFHTA (2015) CNGOF (2015)

HTA gestationnel (HTAg) + protéinurie > 0,3 g/24 h

- ISSHP (2001), NHBPEP (2000), ACOG (2013), SOGC (2014)

HTAg + critère inverse :

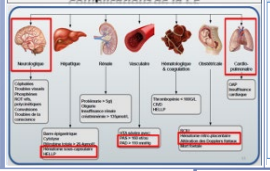
- Protéinurie ≥ 0,3 g/24 h ;
- Céphalée persistante ; Troubles visuels ;
- Douleur abdominale persistante ou de l'hypochondre droit ;
- Éclampsie ; Œdème pulmonaire ;
- Anomalie biologique: ↑créatininémie, ↑transaminases, ↑ la LDH, plaquette < 100 000/mL, albuminémie < 20g/L;
- Oligohydramnios ; RCIU ; Mort fœtale in utero.

FACTEURS DE RISQUE

	RR (IC à 95%)
Antécédents de pré-éclampsie	8,4 (7,1 - 9,9)
Hypertension artérielle chronique	5,1 (4,0 - 6,5)
Diabète	3,7 (3,1 - 4,3)
Grossesse multiple	2,9 (2,6 - 3,1)
IMC > 30 avant la grossesse	2,8 (2,6 - 3,1)
Syndrome des antiphospholipides	2,8 (1,8 - 4,3)
Antécédents de mort-né	2,4 (1,7 - 3,4)
IMC > 25 avant la grossesse	2,1 (2,0 - 2,2)
Nulliparité	2,1 (1,9 - 2,4)
Antécédents de décollement du placenta	2,0 (1,4 - 2,7)
Néphropathie chronique	1,8 (1,5 - 2,1)
Procréation médicalement assistée	1,8 (1,6 - 2,1)
Age de la mère > 40 ans	1,5 (1,2 - 2,0)
Age de la mère < 35 ans	1,2 (1,1 - 1,3)

Barrach et al 2016

Complications de la PE



PHYSIOPATHOLOGIE

- La prééclampsie se manifeste durant la deuxième partie de grossesse
- Les mécanismes se mettent en place dès la fin du premier trimestre.
- Physiopathologie multifactorielle et complexe.

Causes

- Immunologiques
- Génétiques
- Environnementales (hypoxie et malnutrition)
- Inflammatoire
- Le stress oxydant
- Déficit en catéchol-o- méthyl transférase.

Un défaut d'invasion des artères spiralées endométriales par les (Cyto)trophoblaste (extra) villeux (CTEV) + ↘ PLGF

PLGF

- Facteur de croissance vasculaire (famille des VEGF)
- GlycoProtéine placentaire (50Kd -149aa)
- Produit par le CV, le ST, et le CTEV
- Stimule la prolifération et la migration des cellules endothéliales
- Stimule l'angiogenèse et la vasodilatation
- Activités /récepteurs tyrosine kinase exprimés sur les cellules endothéliales:
  - VEGF R2 = KDR
  - VEGF R1 = Flt-1

Les artères spiralées restent hyperplastique conservent leur potentiel vasoconstricteur avec diminution du débit sanguin dans la chambre intervilleuse

Insuffisance de la perfusion utéro-placentaire

Ischémie utéro-placentaire (hypoxie)/ Apoptose PL

Libération dans la circulation maternelle molécules endothélio-toxique : cytokines pro-inflammatoires (TNF-alpha et IL-1), radicaux libres, lipides oxydés, débris syncytiaux, sEndoglinc, sFlt1, etc.

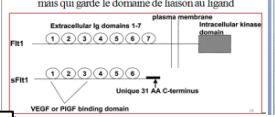
Activation des cellules endothéliales et leur altération fonctionnelle → Endothéliose

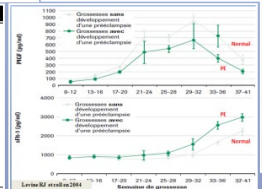
Diverses angiopathies

HTA /Néphropathie glomérulaire / (œdèmes).

sFlt1

- Protéine anti-angiogénique de petite taille (687 AA)
- ⟷ Forme tronquée / épissage alternatif de Flt-1 /Perte du domaine cytoplasmique+ transmembranaire, mais qui garde le domaine de liaison au ligand





Levine RJ et coll en 2004

PROBLEMATIQUE

Devant la morbi-mortalité générée par la PE, son dépistage est devenu un véritable enjeu de santé publique. Ce dépistage permettra de façon précoce (avant 20 SA) d'**identifier** au sein de la population de femmes gestantes, celle qui développeront cette maladie.

Plusieurs tests de dépistage mais nombreuses limites:

- Test à l'angiotensine II (dangereux)
- Mesure continue de la pression artérielle pendant 24 heures durant le second trimestre
- Dépistage basé sur les facteur de risque clinique
- Doppler des artères utérines (DAU), réalisé au 2e trimestre de la grossesse
- Doppler des artères utérines dès le 1er trimestre
- Dosage de marqueurs de la PE

PROBLEMATIQUE

- Marqueurs biologiques de la PE : PLGF et sFlt-1, l'endogline soluble, la PP13, la P-sélectine, l'ADN fœtal circulant, la désintégrine, la métalloprotease 12, la Pentraxine 3, la PAPP-A, l'AFP, l'HCG hyperglycosylée et la free-βHCG.
- Grande hétérogénéité des valeurs retrouvées, leur sensibilité, leur spécificité ainsi que leurs valeurs seuils ⟶ Absence de modèle prédictif
- Différence des méthodes utilisées, des populations étudiées et du choix des moments de prélèvement.

OBJECTIFS DE L'ETUDE

Objectif principal

Evaluer l'intérêt du dosage du sFlt1 et du PLGF dans le dépistage de la prééclampsie (PE) au premier et au deuxième trimestre de grossesse.

Les objectifs secondaires

- L'analyse des facteurs de risque connus de PE dans la population d'étude et comparer les résultats retrouvés à ceux de la littérature ;
- Analyse des profils biologiques des femmes atteintes de PE
- Description des complications materno-fœtales de la prééclampsie rencontrées chez les patientes prééclamptiques et analyse de leur relation avec les marqueurs de la PE
- Identification des groupes à haut risque de développement de PE.

Méthodologie

- Critères d'inclusion

•Femme gestante étant à 13 SA (+ 1SA) lors de la visite d'inclusion.
•Femme gestante présentant une grossesse unique.

- Critères de non inclusion

•Femme gestante avec une grossesse multiple.
•Femme gestante ayant un fœtus atteint d'anomalie congénitale ou chromosomique.
•Femme gestante étant à plus de 13 semaines de grossesse lors de la visite d'inclusion.

- Critères d'exclusion

•Femme gestante dont l'issue de grossesse était inconnue (perdues de vue).
•Femme gestante ayant subi un avortement spontané.

- Type et lieu d'étude

Etude de cohorte prospective observationnelle, longitudinale et pronostique (Follow up). Laboratoire central de biologie CHU BEO (Alger).

- Méthodes de prélèvements

Tubes héparinés, sanguins et EDTA et Urines de 24h

-Calcul des différents indices **Le Ratio sFlt-1/ PLGF, L'IMCpg et Le LDLc**

- Dosage du PLGFet du sFlt1

Le sFlt1 et le PLGF ont été dosés par méthode *immunométrique automatisée par électrochimiluminescence "ECLIA"* sur analyseur COBAS 6000, module e601 (ROCHE).

-Analyses statistiques

Les variables quantitatives à distribution non Gaussienne sont présentées en **médiane M** avec l'interquartile range IQR [IQ1 – IQ3] .

Test U de Mann-Whitney : significative entre les variables continues de deux groupes.

Chi-deux (χ2)

Test de corrélation *de Spearman:* entre covariable.

Les tableaux croisés 2 x 2 : le calcul des *odds ratio* (**OD**).

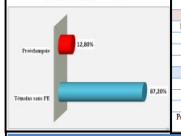
la courbe ROC « Receiver Operating Characteristic »: L'évaluation des performances d'un marqueur (**AUC**). L'AUC (**A**rea **U**nder **C**urve) ou ASC en français (**A**ire **S**ous la **C**ourbe) est un indice calculé qui correspond à la probabilité pour qu'un événement soit classé positif par le test sur l'étendu des valeurs seuils possibles. Le modèle est considéré bon dés lors que sa valeur AUC est supérieure à 0.70.

L'exploitation des résultats a été effectuée sur le logiciel Statistical Package of Social Sciences **SPSS 22** adapté sur le Windows, et le logiciel **XLSTAT**.

Le test de significativité bilatérale est fixée pour une valeur <0,05.

RESULTATS

Prévalence de la PE



Variables %	Non PE (n=170)	PE (n=25)	p
Complications maternelles			
Diabète gestationnel	14%	12%	NS
HBP	2,3%	8%	NS
HELLP	0%	8%	<0,01
Eclampsie	0%	8%	<0,01
Complications fœtales			
RCIU	10%	44%	<0,01
Prématurité	3,5%	59%	<0,001
Mortinatalité	3,52%	16%	<0,01
Poids moyen de naissance (PPN) (<2,5 kg)	7,03%	40%	<0,01

Facteurs de risque de la population

Facteur de risque	Prévalence
Âge ≥35 ans et ≤ 20ans	29,7%
Nulliparité	37,4%
IGs≥3 ans	35%
IMCpg≥25 kg/m²	41,3%
ATCD médicaux	39%
ATCD de THG	19,1%

Variables	PLGFT1 (pg/ml)	sFlt1 T1 (pg/ml)	PLGFT2 (pg/ml)	sFlt1 T2 (pg/ml)
Age < 20 ans	74,5 (71,6-75,3)	1223 (986-1228)	169 (161,8-214)	2147 (1998-2458)
Age 20 – 35 ans	68,12 (48,25-89,4)	1258 (966,5-1566)	188 (148,25-234)	2272,5 (1351-2678)
Age>35 ans	72,6 (48,4-79)	1136 (954-1400)	201 (131,5-246)	2250 (2011,5-2661,5)
IMCpg <25 Kg/m²	73,23 (58,42-88,36)	1231 (945-1495)	199,5 (160,5-232,7)	2232 (1912,5-2589)
IMCpg 25- 30 Kg/m²	63,62 (45,88-85)	1155,2 (959-1559)	179,8 (148,2-233,2)	2538 (1970,5-2649,2)
IMCpg > 30 Kg/m²	56,14 (39,88-91,2)	1136 (807-1360)	162 (95,2-210)	2365 (1987-3100)
IGs < 3 ans	74,5 (51,6-97,8)	1258 (1030-1496)	178 (136-247)	2301 (1969-2987)
IGs >3ans	67,81 (48,28-85,67)	1223 (897-1495)	196 (150-234)	2235 (1969-2839)
Nullipares	61,7 (50,7-82,2)	1186 (927-1396)	165 (139-209)	2014 (1970-2320)
Primipares	69,6 (47,4-84,1)	1298 (1090-1495)	151 (117-236)	2365 (1758-2656)
Multipares	64,4 (46,3-90,6)	1002 (841-1378)	178 (147-228)	2175 (1918-2589)

ATCD THG ⟶ OR= 7,71 (IC95% 2,74- 21,64)

Shoeibian M. 2007 / Marvizi P. 2008: RR= 5 à 8 fois pour l'ATCD de THG.
Dols S. 2008: OR = 5,08 (IC 95 % : 2,89–8,92) pour l' ATCD de PE.

ATCD HTAc ⟶ OR = 2,82 (IC 95% 1,1-7,31)

Marvizi P. 2008 ATCD HTAc : OR = 2,77 ; IC 95 % [1,01–7,90]
Cetre J M. 2007 (Danemark)/ Magnussen E B. 2007 (Norvège): RR= 2-3

Bartsch E. 2017 : Méta-analyse de 37 études prospectives et 55 études rétrospectives / cohortes de grande ampleur (n ≥ 5000), a retrouvé que les valeurs de RR les plus élevées correspondaient aux ATCD DE :

PE	RR = 8,4	IC 95% (7,1-9,9)
HTAc	RR = 5,1	IC 95% (4,0-6,5)

Variables à T1	Non PE (n=170)	PE (n=25)	p
PLGF (pg/ml)	73,87 (54,03-89,9)	48 (36,39-67,5)	<0,001
sFlt1 (pg/ml)	1240,5 (948,25-1568)	1152,4 (1019,3-1288)	0,45
Ratio	18,12 (13,54-22,52)	23,98 (17,55-34,67)	0,002

Variables	Non PE (n=170)	PE (n=25)	p
PLGF (pg/ml)	201 (164,25-244,75)	93,2 (79,38-111,91)	<0,000
sFlt1 (pg/ml)	2229 (1968-2589)	2836,5 (1936,5-3202)	0,03
Ratio	11,41 (9,28-13,75)	28,4 (21,93-34,05)	<0,000

	Odds Ratio	Intervalle de confiance à 95%		p
		Bas	Supérieur	
PLGF T1	4,958	2,012	12,221	<0,001
sFlt1 T1	10,000	1,317	75,943	<0,001
Ratio T1	0,198	0,082	0,476	<0,001
PLGF T2	87,421	19,041	401,362	<0,001
sFlt1T2	0,149	0,059	0,372	<0,001
Ratio T2	0,007	0,002	0,029	<0,001

DISCUSSION

La prévalence de la PE diffère d'une région à une autre et d'un pays à un autre. Elle survient dans 3% à 10% des grossesses au niveau mondial et dans 3% à 5% des grossesses dans les pays développés **(Steegers EA, 2010) (Uzan, J. 2011) (Ananth CV. 2013)**. Dans notre étude, nous avons enregistré 25 cas de prééclampsie et 11 cas de HTAg sur un total de 195 gestantes, soit une prévalence de **12,8%** pour la PE, et de 5,6% pour l'HTAg. La prévalence des troubles hypertensifs gestationnels (THG) au sein de notre cohorte est donc de 18,4%. Cette forte prévalence peut être expliquée par fait que 60 % des gestantes de notre cohorte avaient au moins un facteur de risque de PE. L'analyse des critères cliniques au sein de notre cohorte, a révélé que le facteur de risque le plus significatif pour le développement d'une prééclampsie est la présence d'un **antécédent personnel de THG** (ATCD d'HTAg et de PE) avec un **OR= 7,71** (IC95% 2,74- 21,64). En effet, on constate que 48% des gestantes prééclamptiques, avaient un antécédent personnel de THG versus 15% chez les témoins. Aussi, 32% des patientes avec antécédent personnel de THG ont fini par faire une PE contre 8% sans antécédent. Notre étude a révélé que les taux de PLGF à T1 et à T2 étaient *significativement diminués* chez les gestantes PE :T1= 48 (36,39-67,5) pg/ml / T2 = 93.2 (79.38-111.91) pg/ml, suivis de ceux des gestantes avec HTAg :T1= 68.4 (59-76.4) pg/ml/ T2= 178 (149.5-238.5) pg/ml, comparés aux gestantes sans THG :T1= 74.5 (51.4-91.22) pg/ml /T2 : 201 (165.5-244.5) pg/ml.

Des variations similaires ont été rapportées par l'étude prospective cas-témoins (40/80) de **Thadani**. En effet, la mesure des taux sériques de sFlt-1 et PLGF à la 12ème semaine de gestation, a montré des taux sériques plus faibles de PLGF chez les femmes qui développent une prééclampsie par rapport aux témoins (23±24 pg/ml vs 63±145 pg/ml) **(Thadani 2004).** Une revue systématique datant de 2011, avec pour objet l'étude des taux de sFlt-1 au 1er trimestre et dans laquelle les études cas-témoins étaient exclues, a révélé que les taux de sFlt-1 étaient plus élevés chez les femmes qui finissaient par développer une prééclampsie, mais ces variations n'étaient pas toujours statistiquement significatives **(Jacobs M. 2011)**.

C'est aussi ce qui a été constaté dans la présente étude où la comparaison des taux de sFlt-1 entre nos deux groupes ne révèle aucune différence significative à **T1** : PE = 1240,5 (948,25-1568) pg/ml, témoin = 1152,4 (1019,3-1288) pg/ml (p=0,45). En revanche à T2, nos résultats révèlent des taux de sFlt-1 significativement élevés chez les gestantes PE comparées aux gestantes témoins : PE= 2836,5 (1956,5-3202) pg/ml, Témoin = 2229 (1968-2589) pg/ml (p<0,05). Nos résultats se rapprochent de ceux de **Thadani**, qui dans son étude cas-témoin, ne retrouve au premier trimestre aucune différence significative dans les concentrations de sFlt-1 entre le groupe témoin (1048±657 pg/ml) et le groupe PE (973±490 pg/ml) **(Thadani 2004).** Les résultats de notre étude ont révélé que les ratios sFlt-1/PLGF mesurés au premier et au deuxième trimestre étaient significativement supérieurs chez les femmes PE comparés au groupe témoin : T1 = **23,98** (17,55-34,67) vs 18,12 (13,54-22,52) et T2 = **28,4** (21,93-34,05) vs 11,41 (9,28-13,75) (p<0.001). Par ailleurs, nous n'avons retrouvé aucune différence significative et ce quelque soit le trimestre entre les formes graves (ratio = 29,35 (21,82-36.73)) et les formes modérées (ratio = 27,44(22,19-33,2)).Cependant, après ajustement de chaque marqueur avec les autres marqueurs de la PE, il a été constaté que seul le ratio sFlt-1/PLGF à T2, était un facteur de risque indépendants de la PE. En effet, un ratio sFlt-1/PLGF à T2 ≥18.39 représente un facteur pronostique indépendant de la survenue d'une PE (ORa=1,7).

Conclusion

- L'exploration biologique de la PE, a permis de découvrir de nombreux marqueurs directement liés à sa physiopathologie dont les plus importants sont le **PLGF** et le **sFlt1**.
- L'objectif visé au cours de cette étude, était d'évaluer l'apport des marqueurs angiogéniques dans le dépistage de la PE.
- Les résultats retrouvés rejoignent ceux de la littérature.Cependant, la plus part des **VPP**, avant 20 SA, restent faibles.

En revanche, leurs **VPN sont excellentes** ce qui permettrait de discriminer, au sein d'une population de gestantes à risque de PE, celles qui en seront indemnes. Le ratio sFlt-1/PLGF dosé à 18 SA est marqueur de PE le plus performant..