

PATRICE SAVARD

**PRÉDISPOSITION GÉNÉTIQUE À
L'HYPERTENSION DE GROSSESSE :
polymorphismes de gènes de la détoxification**

Mémoire présenté
à la Faculté des études supérieures de l'Université Laval
dans le cadre du programme de maîtrise en médecine expérimentale
pour l'obtention du grade de maître ès sciences (M.Sc.)

FACULTÉ DE MÉDECINE
UNIVERSITÉ LAVAL
QUÉBEC

JUILLET 2005

© Patrice Savard, 2005

RÉSUMÉ

L'hypertension de grossesse (HG) se retrouve chez 5 à 10% des femmes enceintes. Son étiologie demeure inconnue à ce jour, mais sa physiopathologie impliquerait une perfusion sanguine abaissée de l'unité foeto-maternelle entraînant un stress oxydatif suivi d'une dysfonction de l'endothélium vasculaire maternel. Nos travaux de recherche visent l'identification des facteurs génétiques liés au stress oxydatif et pouvant prédisposer à l'HG chez la femme. Dans ce but, nous avons évalué certains polymorphismes de gènes impliqués dans la biotransformation des dérivés actifs de l'oxygène et des xénobiotiques : glutathion S-transférase pi (*GSTPI*), mu (*GSTMI*) et thêta (*GSTTI*) ; cytochrome p450 (*CYP1A1*), époxyde hydrolase (*EPXH*), NO-synthase endothéliale (*eNOS*), catalase (*CAT*) et superoxyde dismutase (*MnSOD*). Notre étude a permis de mettre en évidence quatre polymorphismes associés au risque d'HG et/ou de prééclampsie (PE) : *GSTπ* A³¹³G (*RC*= 0.42 IC 95% [0.22-0.80]) ; *GSTMI*^{dé1} (*RC*= 0.26 [0.07-0.91]) ; *eNOS* G⁸⁴⁹T (*RC* = 3.19 [1.33-7.67]) ainsi que *CAT* G⁸⁴⁴A (*RC*= 0.24 [0.07-0.85]). Nos résultats montrent également plusieurs associations d'allèles indépendants combinés deux à deux prédictives d'un risque d'HG. En corollaire, certains marqueurs génétiques d'enzymes impliquées dans la biotransformation pourraient permettre d'identifier précocement les femmes à risque d'HG et pourraient avoir des implications sur le risque de maladies cardiovasculaires à long terme.

AVANT-PROPOS

Dans un premier temps, je tiens à remercier en toute sincérité Le Fonds de Recherche en Santé du Québec (FRSQ), organisme boursier 2003-2005 ainsi que les Instituts de recherche en santé du Canada (IRSC), organisme boursier en 2002, pour le soutien financier qu'ils m'ont octroyé au cours de ma formation à la maîtrise. Véritables promoteurs de la recherche médicale et de la formation des cliniciens chercheurs, il est indéniable que n'eût été de leur précieux concours, la réalisation de ce projet n'aurait pu être possible.

J'adresse par ailleurs ma reconnaissance la plus cordiale au D^r Yves Giguère, MD PhD directeur de projet, pour son soutien intarissable tout au long de mon cheminement dans le vaste monde de la recherche, ainsi que pour l'encadrement scientifique constant et sans faille qu'il a su m'accorder. Au D^r Giguère, je dis merci de m'avoir accordé le privilège de prendre part à ses travaux de laboratoire comme étudiant à la maîtrise ; ce fut pour moi un plaisir sans cesse renouvelé de travailler à ses côtés au quotidien.

Au D^r Jean-Claude Forest, MD PhD directeur de la recherche à l'Hôpital Saint-François-d'Assise et co-directeur de mes travaux de maîtrise, je désire également témoigner mes plus chaleureux remerciements. Je lui exprime ma plus profonde gratitude eu égard à ses bons conseils et aux encouragements dont il m'a honoré tout au long de mon cheminement académique.

Je m'en voudrais de passer sous silence l'excellente collaboration dont j'ai pu bénéficier auprès de M^{me} Nathalie Bernard, MSc et assistante de recherche au laboratoire, ainsi qu'avec le D^r Joël Girouard, MD MSc médecin biochimiste et étudiant au troisième cycle.

Qui plus est, je ne saurais omettre de souligner tout le plaisir que j'ai eu à côtoyer tous ceux et celles qui animent les laboratoires de périnatalogie du Centre de recherche de l'Hôpital St-François-d'Assise.

Enfin, aux membres de ma famille : ma mère Louise Dumas, mon père Jean Savard, mon frère Sébastien et mes sœurs Danielle et Sylvie ; à eux tous qui n'ont jamais cessé de croire en moi et m'ont toujours témoigné leurs encouragements et leur support dans ma tâche quotidienne d'étudiant au programme combiné de doctorat en médecine et de maîtrise en médecine expérimentale, j'adresse mes remerciements les plus cordiaux et sincères.

À eux tous, je dis mille fois merci !

*En hommage à ma très chère mère, source
d'inspiration à qui je dois tant, je dédie cet
ouvrage*

*Nous réalisons que ce que nous
accomplissons n'est qu'une goutte dans
l'océan. Mais si cette goutte n'existait pas
dans l'océan, elle manquerait*
Mère Térésa [1913-1997]

TABLE DES MATIÈRES

Résumé.....	ii
Avant-propos	iii
Table des matières	vi
Liste des abréviations.....	ix
Liste des tableaux.....	xi
Liste des figures.....	xii
PARTIE 1- INTRODUCTION	13
Chapitre 1- Hypertension de grossesse	13
1.1.1- Classification de l'hypertension de grossesse	14
1.1.1.1- <i>Hypertension chronique</i>	14
1.1.1.2- <i>Hypertension induite par la grossesse</i>	14
A- Hypertension gestationnelle	14
B- Prééclampsie/éclampsie	15
1.1.1.3- <i>Prééclampsie superposée à l'hypertension chronique</i>	15
Chapitre 2- Stress oxydatif	17
1.2.1- Définition.....	17
1.2.2- Marqueurs biologiques	17
1.2.2.1- <i>Marqueur du stress oxydatif</i>	17
1.2.2.2- <i>Marqueur de l'activation de l'endothélium</i>	18
Chapitre 3- Prééclampsie	19
1.3.1- Définition.....	19
1.3.2- Physiopathologie et étiologie de la prééclampsie.....	20
1.3.2.1- <i>L'ischémie / hypoxie placentaire : élément-clé de la PE</i>	21
A- Dysfonction endothéliale et prééclampsie	22
1.3.2.2- <i>Implication du système immunitaire et PE</i>	23
1.3.2.3- <i>Prédisposition génétique et PE</i>	24
1.3.3- Facteurs de risque de la prééclampsie	25
1.3.4- Incidence et répercussion de la prééclampsie.....	26
1.3.5- Dépistage et prévention de la prééclampsie	27
1.3.5.1- <i>Marqueurs biologiques précoces de la maladie</i>	27
1.3.5.2- <i>Essais thérapeutiques préventifs</i>	27
A- Suppléments calciques.....	28
B- Faibles doses d'aspirine	28
C- Suppléments en vitamines C et E	28
1.3.6- Traitement de la prééclampsie.....	29

Chapitre 4- Prééclampsie et stress oxydatif	30
1.4.1- Lien entre la prééclampsie et le stress oxydatif.....	30
1.4.1.1- Déséquilibre entre pro-oxydants et antioxydants et PE.....	30
1.4.1.2- Indices du stress oxydatif dans la PE.....	30
A- Marqueurs sanguins et placentaires.....	30
B- Marqueurs respiratoires.....	31
1.4.1.3- Radicaux libres et peroxydation des lipides.....	31
1.4.1.4- Les antioxydants et la prééclampsie.....	33
A- Fondement de la supplémentation en vitamines C et E.....	33
Chapitre 5- Prééclampsie et maladies cardiovasculaires	34
Chapitre 6- Pertinence et objectifs	35
1.6.1- Hypothèse.....	35
1.6.2- Objectif général.....	35
1.6.2.1- Objectifs spécifiques du travail de maîtrise.....	36
Chapitre 7- Description de chacun des gènes candidats	37
1.7.1- Glutathion S-transférase.....	37
1.7.2- Glutathion S-transférase pi.....	38
1.7.2.1- <i>GSTπ A³¹³G</i>	38
1.7.2.2- <i>GSTπ C³⁴¹T</i>	40
1.7.3- Glutathion S-transférase mu.....	40
1.7.4- Glutathion S-transférase thêta.....	41
1.7.5- Cytochrome P450 1A1.....	42
1.7.6- Époxyde hydrolase.....	42
1.7.6.1- <i>EPXH A⁶¹²G</i>	43
1.7.6.2- <i>EPXH His139Arg</i>	43
1.7.7- NO-synthase endothéliale.....	43
1.7.8- Catalase.....	44
1.7.9- Superoxyde dismutase mitochondriale.....	45
Chapitre 8- Méthodologie et matériel	47
1.8.1- Mise au point et optimisation de chacun des marqueurs.....	47
1.8.1.1- Recherche des séquences d'ADN et développement des amorces.....	47
1.8.1.2- Techniques de travail employées.....	47
A- Description de la méthode PCR.....	47
B- Description de l'ASO-PCR.....	48
C- Réactifs et ADN.....	48
1.8.2- Génotypage de la cohorte et analyses statistiques.....	49
1.8.2.1- Démarche expérimentale.....	49
A- Exemple d'un protocole de réaction d'ASO-PCR.....	49
1.8.2.2- Équilibre de Hardy-Weinberg.....	50
1.8.2.3- Analyses statistiques.....	51

PARTIE 2- RÉSULTATS.....	53
2.1.1- GST π A ³¹³ G.....	54
2.1.2- GST π C ³⁴¹ T.....	56
2.1.3- GST μ délétion.....	58
2.1.4- GST τ délétion.....	60
2.1.5- CYP1A1 A ⁴⁸⁸⁹ G.....	62
2.1.6- EPXH A ⁶¹² G.....	64
2.1.7- EPXH His139Arg.....	66
2.1.8- eNOS G ⁸⁹⁴ T.....	68
2.1.9- CAT C ⁻⁸⁴⁴ T.....	70
2.1.10- MnSOD C ⁴⁷ T.....	72
2.1.11- Autres résultats.....	74
2.1.11.1- Associations protectrices.....	74
A- GST π A ³¹³ G et GST μ ^{dél}	74
B- GST π A ³¹³ G et CYP1A1 A ⁴⁸⁸⁹ G.....	75
C- GST π A ³¹³ G et MnSOD T ⁴⁷ C.....	75
D- GST π C ³⁴¹ T et GST μ ^{dél}	75
E- GST π C ³⁴¹ T et CAT G ⁻⁸⁴⁴ A.....	75
F- GST μ ^{dél} et CYP 1A1 A ⁴⁸⁸⁹ G.....	75
G- MnSOD T ⁴⁷ C et CAT G ⁻⁸⁴⁴ A.....	76
2.1.11.2- Association prédisposante.....	76
A- GST τ ^{dél} et EPXH A ⁶¹² G.....	76
PARTIE 3- DISCUSSION.....	79
3.1.1- Glutathion S-transférase.....	79
3.1.1.1- GST π A ³¹³ G (Ile105Val).....	79
3.1.1.2- GST π C ³⁴¹ T (Ala114Val).....	81
3.1.2- GST μ délétion.....	81
3.1.3- GST τ délétion.....	83
3.1.4- CYP1A1 A ⁴⁸⁸⁹ G (Ile462Val).....	84
3.1.5- Époxyde hydrolase.....	85
3.1.5.1- EPXH A ⁶¹² G (Tyr113His).....	85
3.1.5.2- EPXH His139Arg.....	87
3.1.6- eNOS G ⁸⁹⁴ T (Glu298Asp).....	87
3.1.7- CAT C ⁻⁸⁴⁴ T.....	89
3.1.8- MnSOD C ⁴⁷ T (Ala16Val).....	90
Conclusion.....	91
Bibliographie.....	93
Appendice : Illustration de la méthode d'ASO-PCR.....	105

LISTE DES ABRÉVIATIONS

A	Adénine
ADH	Alcool déshydrogénase
ADN	Acide désoxyribonucléique
Ala	Alanine
ALT	Alanine transaminase
Arg	Arginine
Asp	Asparagine
AST	Aspartate transaminase
ASO-PCR	Allele-specific oligonucleotide polymerase chain reaction
C	Cytosine
CAT	Catalase
CYP1A1	Cytochrome p450 1A1
eNOS	NO-synthase endothéliale
EPXH	Époxyde hydrolase
F ₂ -IsoPs	F ₂ -isoprostanés
FMO	Flavin-containing monooxygenases
G	Guanine
Glu	Glutamine
GST	Glutathion S-transférase
HAP	Hydrocarbures aromatiques polycycliques
HELLP	Hemolysis, Elevated Liver enzymes, Low Platelet count
HG	Hypertension de grossesse
His	Histidine
HTA	Hypertension artérielle
HW	Hardy-Weinberg
Ile	Isoleucine
iNOS	NO-synthase inductible
LDH	Lactate déshydrogénase
LDL	Low density lipoprotein
MCV	Maladies cardiovasculaires
MnSOD	Superoxyde dismutase cofacteur : manganèse
NAT	N-acétyltransférases
NCBI	National Center for Biotechnology Information
NHBPEP	National High Blood Pressure Education Program
NO	Monoxyde d'azote
nNOS	NO-synthase neuronale

PAI-1	Plasminogen activator inhibitor type 1
PCR	Polymerase chain reaction
PE	Prééclampsie
ROS	Reactive oxygen species (radicaux libres de l'oxygène)
SOD	Superoxyde dismutase
STBM	Syncytiotrophoblast microfragments
T	Thymine
TA	Tension artérielle
TBARs	Thiobarbituric acid reactive-substances
TNF	Tumor necrosis factor
Tyr	Tyrosine
Val	Valine
VEGF	Vascular endothelial growth factor
VLDL	Very low-density lipoprotein
VOCs	Volatile organic compounds

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1 :	Présentation des différents polymorphismes étudiés	46
Tableau 2 :	Tableau illustrant un protocole type de réaction PCR	50
Tableau 3 :	Caractéristiques des deux groupes à l'étude	53
Tableau 4 :	Risque combiné d'HG et de PE pour $GST\pi A^{313}G$	55
Tableau 5 :	Risque d'HG pour $GST\pi A^{313}G$	55
Tableau 6 :	Risque de PE pour $GST\pi A^{313}G$	56
Tableau 7 :	Risque combiné d'HG et de PE pour $GST\pi C^{341}T$	57
Tableau 8 :	Risque d'HG pour $GST\pi C^{341}T$	57
Tableau 9 :	Risque de PE pour $GST\pi C^{341}T$	58
Tableau 10 :	Risque combiné d'HG et de PE pour $GST\mu^{del}$	59
Tableau 11 :	Risque d'HG pour $GST\mu^{del}$	59
Tableau 12 :	Risque de PE pour $GST\mu^{del}$	60
Tableau 13 :	Risque combiné d'HG et de PE pour $GST\tau^{del}$	61
Tableau 14 :	Risque d'HG pour $GST\tau^{del}$	61
Tableau 15 :	Risque de PE pour $GST\tau^{del}$	62
Tableau 16 :	Risque combiné d'HG et de PE pour $CYP1A1 A^{4889}G$	63
Tableau 17 :	Risque d'HG pour $CYP1A1 A^{4889}G$	63
Tableau 18 :	Risque de PE pour $CYP1A1 A^{4889}G$	64
Tableau 19 :	Risque combiné d'HG et de PE pour $EPXH A^{612}G$	65
Tableau 20 :	Risque d'HG pour $EPXH A^{612}G$	65
Tableau 21 :	Risque de PE pour $EPXH A^{612}G$	66
Tableau 22 :	Risque combiné d'HG et de PE pour $EPXH His139Arg$	67
Tableau 23 :	Risque d'HG pour $EPXH His139Arg$	67
Tableau 24 :	Risque de PE pour $EPXH His139Arg$	68
Tableau 25 :	Risque combiné d'HG et de PE pour $eNOS G^{894}T$	69
Tableau 26 :	Risque d'HG pour $eNOS G^{894}T$	69
Tableau 27 :	Risque de PE pour $eNOS G^{894}T$	70
Tableau 28 :	Risque combiné d'HG et de PE pour $CAT C^{-844}T$	71
Tableau 29 :	Risque d'HG pour $CAT C^{-844}T$	71
Tableau 30 :	Risque de PE pour $CAT C^{-844}T$	72
Tableau 31 :	Risque combiné d'HG et de PE pour $MnSOD C^{47}T$	73
Tableau 32 :	Risque d'HG pour $MnSOD C^{47}T$	73
Tableau 33 :	Risque de PE pour $MnSOD C^{47}T$	74
Tableau 34 :	Combinaisons d'allèles indépendants et risque d'HG et de PE	77
Tableau 35 :	Combinaisons d'allèles indépendants et risque de PE	77
Tableau 36 :	Combinaisons d'allèles indépendants et risque de PE	78

LISTE DES FIGURES

Figure 1 : Classification de l'hypertension lors de la grossesse.....	16
Figure 2 : Critères de sévérité de la prééclampsie	20
Figure 3 : Étiopathogénèse de la prééclampsie.....	23
Figure 4 : Facteurs de risque de prééclampsie.....	25
Figure 5 : Conséquences de la PE sur la mère.....	26
Figure 6 : Conséquences de la PE sur le fœtus.....	27
Figure 7 : Physiopathologie de la prééclampsie en deux stades.....	32
Figure 8 : Mécanisme de peroxydation des lipides par les radicaux libres	32
Figure 9 : Mutation A313G du chromosome 11q13.....	40

PARTIE 1- INTRODUCTION

*Tous les hommes ont, par nature,
le désir de connaître...*
Aristote

Chapitre 1- Hypertension de grossesse

L'une des atteintes les plus fréquemment rencontrées au cours de l'état gravide chez la femme est sans nul doute l'hypertension de grossesse (HG): celle-ci complique entre 6 et 8% de toutes les grossesses aux États-Unis et est responsable d'une part importante de la mortalité et de la morbidité néonatale.² À cet effet, l'HG et ses complications sont responsables d'environ 15% des décès maternels aux États-Unis, ce qui en fait la deuxième cause en importance à ce chapitre après les embolies.² Les causes soutenant son développement demeurent à ce jour inconnues.

Celle-ci peut être attribuable soit à une condition pathologique chronique si elle existe avant la vingtième semaine d'aménorrhée et si elle persiste au moins six semaines post-partum, soit à un phénomène *de novo* provoqué par la grossesse elle-même chez la patiente sans aucun antécédent d'hypertension artérielle (HTA). Par ailleurs, les valeurs nous permettant de porter un diagnostic d'HG sont : une pression systolo-diastolique de 140/90 mmHg après la vingtième semaine de grossesse mesurée à deux reprises à au moins quatre (4) heures d'intervalle. Antérieurement, une augmentation de 30 mmHg de la pression systolique et/ou de 15 mmHg de la pression diastolique mesurée à deux reprises à six heures d'intervalle était également diagnostique et ce, même si elles ne dépassaient pas 140/90 mmHg ; néanmoins, lors de la révision de ses lignes directrices en 2000, le *National High Blood Pressure Education Program Working Group Report on High Blood Pressure in Pregnancy* (NHBPEP) ne recommandait plus l'usage de ce critère, car la majorité des femmes remplissant cette condition ne présentait pas d'issue défavorable.²

1.1.1- Classification de l'hypertension de grossesse

Selon la terminologie actuellement en usage dans la littérature, les femmes avec hypertension en cours de grossesse se divisent en quatre (4) catégories différentes. Ainsi, on distingue l'hypertension chronique, l'hypertension de grossesse comprenant l'hypertension gestationnelle et la prééclampsie (PE)/ éclampsie ainsi que la PE superposée à l'hypertension chronique.³ Reprenons donc chacune de ces classes distinctes :

1.1.1.1- Hypertension chronique

L'hypertension chronique se définit par une pression artérielle systolique ≥ 140 mmHg et/ou une diastolique ≥ 90 mmHg mesurée avant même que la patiente ne soit enceinte ou avant la 20^e semaine de grossesse. Par ailleurs, l'hypertension diagnostiquée pour la première fois en cours de grossesse et qui ne se résout pas à l'intérieur de six (6) semaines post-partum fait également partie de cette catégorie.⁴

1.1.1.2- Hypertension induite par la grossesse

Il s'agit en soit d'une HTA *de novo* diagnostiquée après la 20^e semaine d'aménorrhée gravidique et qui rentre dans l'ordre à l'intérieur de six (6) semaines après la grossesse. On la subdivise en deux catégories : l'hypertension gestationnelle et la PE / éclampsie.

A- Hypertension gestationnelle

On porte le diagnostic d'hypertension gestationnelle chez toute femme enceinte pour qui une pression artérielle supérieure à 140 / 90 mmHg à deux reprises à au moins quatre (4) heures d'intervalle est mesurée pour la première fois en cours de grossesse ou dans les 24 heures post-partum sans autre signe de PE ou d'hypertension préexistante.⁴ Il faut généralement attendre en post-partum avant de poser définitivement ce diagnostic. Ainsi, si la patiente ne développe pas de PE et que sa pression artérielle revient à la normale à l'intérieur de la sixième (6^e) semaine après son accouchement, le diagnostic d'hypertension transitoire associée à la grossesse peut alors être porté.²

B- Prééclampsie/éclampsie

La PE, tout comme sa complication l'éclampsie, constitue une atteinte spécifique de la femme enceinte qui survient généralement après la vingtième (20^e) semaine de grossesse. Ce syndrome se caractérise par une élévation de la pression artérielle telle que définie ci-haut accompagnée d'une protéinurie > 0,3g dans une collecte des 24 heures.² L'œdème n'est pas un critère diagnostique de PE.⁴ La troisième section de ce mémoire est dédiée entièrement à la PE qui y sera présentée *in extenso*. Quant à l'éclampsie, elle se caractérise par l'apparition de convulsions chez une femme avec PE sans que celles-ci ne puissent être attribuées à une autre cause.^{2,4} Parmi les facteurs prédictifs d'éclampsie, notons les réflexes ostéotendineux vifs et l'hyperuricémie chez une patiente porteuse de PE.⁵

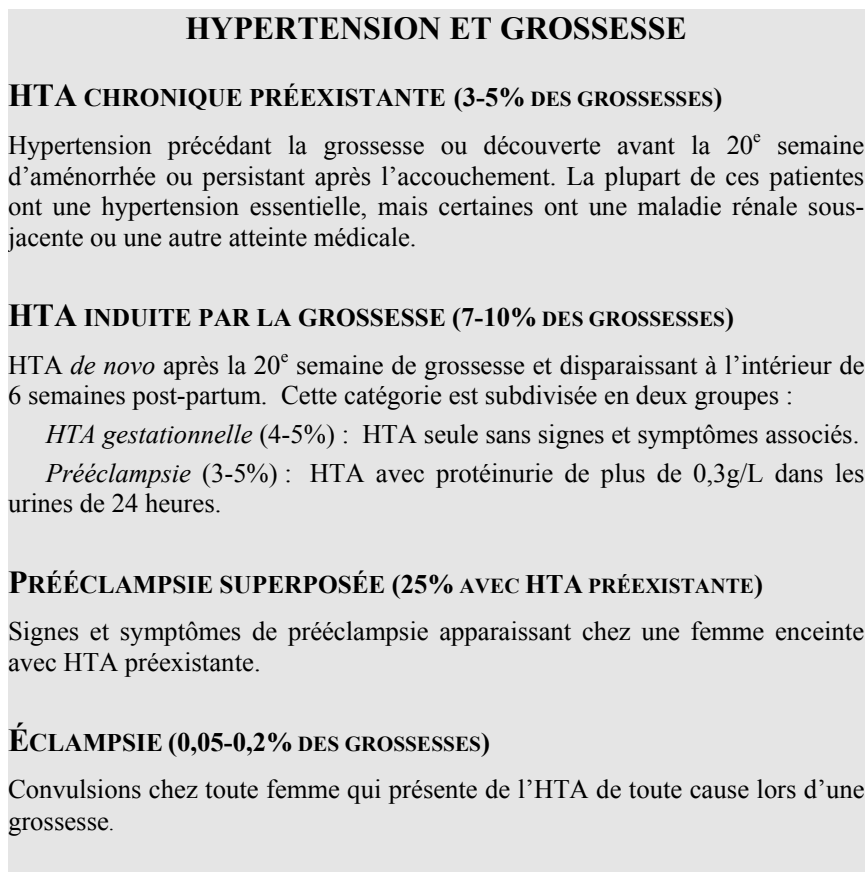
1.1.1.3- Prééclampsie superposée à l'hypertension chronique

Il a été démontré que la PE peut se développer chez des patientes présentant initialement une hypertension chronique (*cf. supra*) ; dans ce cas, il fut établi que le pronostic à la fois de la mère et du fœtus est plus sombre que lorsque la patiente présente l'une ou l'autre pathologie prise séparément.^{2,4} Ce diagnostic repose principalement sur les critères suivants² :

- ◆ patiente avec hypertension sans protéinurie avant la 20^e semaine de grossesse chez qui on note l'apparition d'une protéinurie significative (> 0,5g de protéines dans une collecte de 24 heures alors qu'il n'y a aucune évidence d'infection urinaire)⁴
- ◆ patiente avec hypertension et protéinurie avant la 20^e semaine de grossesse chez qui apparaît l'un ou l'autre des critères suivants⁴ :
 - augmentation importante et subite de la protéinurie
 - augmentation importante et subite de l'hypertension alors qu'elle était bien contrôlée auparavant
 - apparition d'une thrombocytopenie (< 100 000 plaquettes / mm³)
 - augmentation anormale des taux sériques d'alanine aminotransférase (ALT) et d'aspartate aminotransférase (AST)

La figure ci-dessous résume la classification de l'HG.

Figure 1 : Classification de l'hypertension lors de la grossesse (tiré de Walker³)



Chapitre 2- Stress oxydatif

1.2.1- Définition

À vrai dire, le stress oxydatif se caractérise par un déséquilibre entre les pro-oxydants (radicaux libres, peroxydes) et les antioxydants (superoxyde dismutase [SOD], catalases, glutathion peroxydase, vitamines antioxydantes).⁶⁻⁸ Ce déséquilibre pourrait contribuer significativement à la dysfonction endothéliale rencontrée dans la PE, où les facteurs vasoconstricteurs (thromboxane, endothéline) surpassent ceux vasodilatateurs (protacyclines, oxyde nitrique) et mènent à l'hypertension.^{1,3,9,10}

1.2.2- Marqueurs biologiques

Divers marqueurs ont été étudiés par le passé dans le but de mettre en évidence le stress oxydatif *in vivo* ainsi que la dysfonction endothéliale qui lui est associée. C'est le cas, entre autres, des F₂-isoprostanes (F₂-IsoPs), indices du stress oxydatif, et du *Plasminogen Activator Inhibitor type 1* (PAI-1), signe de la dysfonction endothéliale. Nous présentons ici un bref survol des connaissances les plus récentes concernant ces deux marqueurs repris par la suite dans l'évaluation de l'atteinte vasculaire gravidique.

1.2.2.1- Marqueur du stress oxydatif

Le 8-isoprostane est un composé issu de la famille des F₂-IsoPs, lesquels sont des isomères des prostaglandines F₂. Les F₂-IsoPs sont formés chez l'humain par une réaction non enzymatique qui implique la peroxydation de l'acide arachidonique par les radicaux libres.¹¹⁻¹³ En ce sens, le dosage des F₂-IsoPs est de plus en plus évoqué dans la littérature comme étant l'approche la plus valable pour évaluer quantitativement l'importance du stress oxydatif *in vivo*.¹¹⁻¹⁷ Plus particulièrement dans la famille des F₂-IsoPs, le 8-isoprostane a été identifié comme étant le marqueur le plus précis d'une déficience en antioxydants, déficience associée aux pathologies vasculaires chez l'humain telle la PE.^{12,13}

À vrai dire, ce marqueur biologique est l'indicateur le plus spécifique du stress oxydatif *in vivo* pour plusieurs raisons : i) il s'agit d'un produit spécifique de la peroxydation des lipides ; ii) il se retrouve à des niveaux suffisants pour être détecté dans la plupart des tissus et fluides biologiques ; iii) ce composé est stable ; iv) sa formation augmente

considérablement *in vivo* lors d'expériences animales impliquant une atteinte causée par un stress oxydatif ; v) sa formation est modulée selon la capacité antioxydante de l'organisme et vi) sa formation n'est pas influencée par le contenu en lipides de la diète du sujet.¹¹

1.2.2.2- Marqueur de l'activation de l'endothélium

Le PAI-1 fut associé à la PE en tant que mesure quantitative de la dysfonction endothéliale, laquelle est considérée comme étant l'un des substrats de la maladie.^{13-15,18-22} PAI-1 est produit principalement par les cellules endothéliales, dont celles de la vascularisation placentaire. Ainsi, l'atteinte placentaire de la PE se caractérise par une augmentation des niveaux sériques de PAI-1, que l'on peut alors doser dans le sérum en tant qu'indicateur biologique de la souffrance endothéliale.²²

Chapitre 3- Prééclampsie

1.3.1- Définition

En clair, le diagnostic de PE, un syndrome propre à la femme enceinte, est basé sur l'existence d'une HG avec protéinurie significative ($> 0,3$ g sur une collecte de 24 heures) mesurées après la 20^e semaine d'aménorrhée gravidique.² Nous avons déjà défini l'HG par des valeurs >140 mmHg pour la systolique et >90 mmHg pour la diastolique (mesurée à deux reprises) chez une femme normotendue avant la 20^e semaine de grossesse. La pression artérielle se normalise en post-partum et ce, habituellement au cours des premiers jours suivant l'accouchement ; toutefois, le retour à la normale peut parfois prendre entre deux (2) et quatre (4) semaines surtout dans les cas sévères de PE.²

Notons par ailleurs que nous considérons une forme légère (définie ci haut) ainsi qu'une forme sévère de la PE. Dans la forme sévère, se rajoutent des symptômes visuels (vision embrouillée), pulmonaires (difficultés respiratoires), cérébraux (entre autres des céphalées), épigastriques (douleur abdominale) et hématologiques. Le "HELLP syndrome" (Hemolysis, Elevated Liver enzymes, and Low Platelet count) est la forme la plus connue de PE sévère et comprend plusieurs manifestations hématologiques dont entre autres, une thrombocytopénie ainsi qu'une augmentation du niveau de la lactate déshydrogénase (LDH) pouvant mener à l'éclampsie, un état plus grave encore où s'ajoutent des convulsions.³

Soulignons par ailleurs qu'en absence de protéinurie significative, nous devrions fortement suspecter le diagnostic de PE lorsque l'élévation de la pression artérielle s'accompagne de maux de tête, de vision embrouillée, de douleur abdominale, d'élévation anormale des enzymes hépatiques sériques (ALT et AST) ou encore d'une thrombocytopénie.²

La figure ci-après tirée de Paruk¹ résume les critères de PE sévère.

Figure 2 : Critères de sévérité de la prééclampsie

PE SÉVÈRE
TA systolique > 160 mmHg ou TA diastolique > 110 mmHg
Protéinurie > 5g / 24 heures
Oligurie (< 100 ml / jour)
Signes et symptômes neurologiques
céphalées
scotomes
vision embrouillée
altération de l'état de conscience
Oedème pulmonaire
Douleur épigastrique
Élévation des enzymes hépatiques
Thrombocytopénie (<100 000 plaquettes/mm ³)
HELLP

1.3.2- Physiopathologie et étiologie de la prééclampsie

Les manifestations maternelles de la PE se caractérisent par 1) un vasospasme, 2) une activation du système de la coagulation et 3) des perturbations au sein des mécanismes régulateurs du volume circulant et de l'hémostase.⁴ En ce sens, les études menées au cours des dernières décennies ont permis une meilleure compréhension des mécanismes physiopathologiques potentiellement impliqués dans la maladie et l'hypothèse soulignant l'importance du stress oxydatif est de plus en plus prépondérante dans la littérature.^{3,6,8,9,23-27}

En ce qui concerne l'étiologie proprement dite de la PE, elle demeure inconnue encore de nos jours. Plusieurs considèrent le placenta²⁵ comme étant à l'origine de la maladie eu égard au fait que l'accouchement demeure le seul moyen de mettre un terme définitif aux manifestations de la PE. Qui plus est, seule la présence d'un placenta est nécessaire au développement de la PE, celle d'un fœtus n'est pas une condition *sine qua non* puisque la PE peut survenir en présence d'une môle hydatiforme.²⁵

Néanmoins, de nombreuses suppositions quant à l'étiologie de la PE ont été émises jusqu'à présent et mentionnons sur ce point qu'une étude de Dekker et Sibai parue récemment rapportait que quatre hypothèses parmi toutes celles énoncées dans le passé par différents auteurs font l'objet de recherches intenses : premièrement, celle impliquant une ischémie placentaire pouvant infliger une dysfonction endothéliale à l'organisme maternel ; deuxièmement, l'hypothèse évoquant la toxicité accrue des VLDL (*very low-density lipoprotein*) durant la grossesse ; troisièmement, l'idée voulant qu'une maladaptation immunitaire conduisant à une implantation incomplète des artères spiralées et quatrièmement, une prédisposition génétique impliquant l'expression d'un gène récessif ou encore celle d'un gène dominant à pénétrance incomplète.²⁸ Selon les mêmes auteurs, ces quatre hypothèses ne seraient pas mutuellement exclusives, mais plutôt interactives.²⁸

D'un autre côté, d'aucuns comme Broughton-Pipkin²⁹ supportent l'idée généralement rapportée dans la littérature actuelle à l'effet qu'une constellation de facteurs prédisposants (génétique, environnementaux, comportementaux et immunitaires³⁰) pourrait être à l'origine de la maladie³¹ alors que d'autres questionnent le rôle du stress dans la physiopathologie de la PE.³²⁻³⁵

1.3.2.1- L'ischémie / hypoxie placentaire : élément-clé de la PE

L'hypothèse prépondérante au sein de la littérature implique la circulation utéroplacentaire et consiste en une prédisposition constitutionnelle chez certaines femmes résultant en une placentation sous optimale attribuable à une différenciation et à une invasion inappropriées des artères utérines par le trophoblaste, ce qui occasionnerait un défaut de perfusion placentaire.^{4,8-10,24,25,30,36} À ce propos, soulignons que tôt après la fécondation, les petites artères spiralées (branches terminales de l'artère utérine) subissent une transformation physiologique de leur paroi musculaire qui devient moins rigide et plus flasque afin de faire face à l'augmentation du flot sanguin utérin,^{25,30,31,37} celui-ci étant multiplié par dix (10) au cours de la gestation.² Cette transformation se fait grâce à l'invasion desdits vaisseaux sanguins par les cellules trophoblastiques du placenta.^{9,30,36}

Il existe de plus en plus de preuves que l'invasion des artères spiralées utérines par le trophoblaste est incomplète et que ces dernières conservent une paroi musculaire de

résistance chez les femmes avec PE.^{2,9,31} Il semble que cette différenciation incomplète pourrait être médiée par le système immunitaire.³¹ Cette placentation anormale entraînerait alors des périodes d'ischémie et *ipso facto* d'hypoxie tissulaire et, par voie de conséquence, la production accrue de ROS^{23,36} et la sécrétion dans la circulation maternelle par le placenta de facteurs (cytokines³⁰ telles que TNF, lipides peroxydés et les *syncytiotrophoblast microfragments* (STBM)²⁵) provoquant une activation et une dysfonction généralisée de l'endothélium résultant finalement en PE.³⁰ D'autres soutiennent le rôle de la réponse inflammatoire dans la pathologie vasculaire gravidique en notant l'augmentation de la protéine C-réactive lors d'épisodes de PE.³⁸

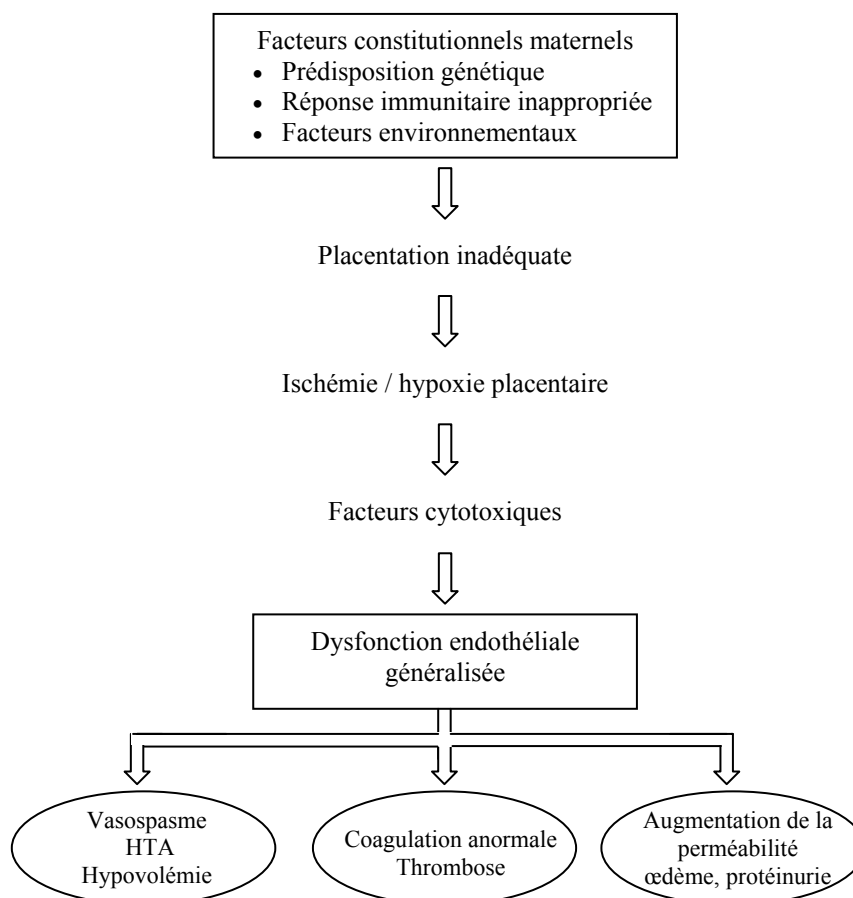
En ce sens, mentionnons que l'une des conséquences de l'hypoxie serait d'entraîner une activation et une dysfonction généralisée de l'endothélium maternel via certaines cytokines avec pour conséquences la formation accrue de facteurs vasoconstricteurs (endothéline, thromboxane, sérotonine et superoxydes³⁸), une augmentation de la sensibilité endothéliale à l'angiotensine II et une diminution de la production des substances vasodilatatrices (oxyde nitrique et prostacyclines³⁸) lesquelles mèneraient à la genèse de l'hypertension et de la protéinurie caractérisant la maladie.^{9,39}

A- Dysfonction endothéliale et prééclampsie

L'endothélium vasculaire maternel est la cible des divers facteurs relâchés dans la circulation par le placenta suite à l'hypoxie tissulaire.³⁸ L'endothélium est un organe clé dans la régulation de différents processus biologiques tels que le contrôle du tonus musculaire lisse, la régulation de la cascade de coagulation, de la fibrinolyse et de la fonction plaquettaire et leucocytaire³⁰ via la sécrétion de nombreux facteurs endogènes. Différents marqueurs de la dysfonction endothéliale ont été mis en évidence chez les femmes qui ont développé une PE : un déséquilibre des facteurs anticoagulants et procoagulants⁴, une hausse de la formation des protéines impliquées dans la cascade de coagulation⁹ ainsi que l'augmentation des niveaux circulants de fibronectine^{4,39} (tous des éléments synthétisés par l'endothélium) sont présents chez les femmes prééclampsiques ce qui renforce l'hypothèse de l'implication prépondérante de la dysfonction de l'endothélium maternel.^{9,39}

La figure 3 représente une schématisation de la physiopathologie de la PE telle qu'on la retrouve le plus fréquemment dans la littérature actuelle.

Figure 3 : Étiopathogénèse de la prééclampsie



Tiré de Yves Giguère

D'ailleurs, diverses études comme celles de Zamudio et de Palmer rapportées par Hubel et Roberts²⁶ tendent à prouver cette hypothèse en démontrant une augmentation des cas de PE chez les femmes vivant en haute altitude, un fait qui suggère très clairement selon eux qu'une hypoxie chronique pourrait être un facteur prédisposant à la maladie.

1.3.2.2- Implication du système immunitaire et PE

Quant à la deuxième hypothèse, celle impliquant une réponse immunitaire inappropriée de la mère à un antigène paternel contenu dans le sperme,^{40,41} notons que les arguments en

faveur sont, entre autres, la prédominance du syndrome chez les femmes nullipares et chez celles qui changent de partenaire³⁷ et à l'inverse, la diminution du risque de PE lorsque la cohabitation est prolongée (> 12 mois⁴⁰) avec le même partenaire avant la conception, ce qui suggère que l'exposition aux antigènes paternels est protectrice^{2,23,31}. Dans la même veine, on rapporte une augmentation des chances de développer une PE chez les femmes utilisant une méthode barrière pour leur contraception^{40,42,43} ainsi que chez celles utilisant une méthode de conception assistée avec fertilisation de leur ovule par du sperme issu d'une banque de donneurs.⁴¹ D'autres éléments soutenant cette hypothèse sont la diminution de la prévalence de la PE chez les femmes ayant reçu des transfusions sanguines hétérologues³⁷ ainsi que l'observation de changements vasculaires au sein du placenta similaires à ceux rencontrés dans les rejets d'allogreffe.²

1.3.2.3- Prédisposition génétique et PE

Des études familiales ont démontré la présence d'une composante héréditaire de la susceptibilité à l'HG et à la PE.^{1,44-47} En ce sens, différents auteurs s'entendent pour émettre l'idée qu'il existe une prédisposition génétiquement programmée à la PE et que celle-ci pourrait impliquer à la fois une contribution des bagages génétiques de la mère et du fœtus,⁴⁷ voire du père.⁴⁸ Pour tout dire, certains rapportent un risque de PE quatre fois plus élevé chez les femmes primigestes qui ont une histoire familiale de PE ou d'éclampsie⁴⁹ alors que d'autres rapportent que les filles de femmes éclamptiques présentent un risque évalué à 3% de développer l'éclampsie et à 25% de développer la PE.¹ De plus, récemment, la variation génétique à certains locus a été mise en cause (réponse immunitaire, régulation de la tension artérielle, thrombophilie, métabolisme des lipides) mais les résultats sont contradictoires. Par ailleurs, d'aucuns suspectent un gène d'origine paternelle pour expliquer l'augmentation du risque de PE chez la femme multipare qui change de partenaire.^{3,31}

Cela étant, Cooper et Liston avaient d'abord proposé l'hypothèse d'un gène récessif maternel⁵⁰ pouvant expliquer la prédisposition familiale à l'éclampsie puis ils ont repris cette hypothèse en lui associant la possibilité que le génotype du fœtus puisse également contribuer au risque d'éclampsie chez ces femmes⁵¹ ; cette hypothèse impliquant un gène récessif est toutefois incompatible avec les données recueillies dans d'autres études.³¹ Par

la suite, Roberts rapporte que d'autres suggéraient pour leur part qu'un gène cette fois-ci dominant à pénétrance incomplète pourrait être en cause chez les femmes prééclampsiques.³¹

La position prépondérante actuelle serait que la prédisposition génétique à la PE réside probablement dans une combinaison de facteurs génétiques et épigénétiques impliquant plusieurs gènes différents avec des effets modestes pour chacun d'eux.²³

1.3.3- Facteurs de risque de la prééclampsie

Certaines femmes enceintes sont plus à risque de PE ; parmi les facteurs de risque on compte la nulliparité⁴, les antécédents personnels ou familiaux d'HG ou de PE⁴ (18 % de risque de PE pour une multipare avec antécédents personnels positifs versus 5 % pour une femme nullipare⁵²) ou une élévation de la pression artérielle avant la conception (HTA chronique), l'âge > 35 ans, le diabète,⁴ la résistance à l'insuline, la race Afro-américaine ainsi qu'un indice de masse corporel élevé. Notons également que les femmes avec thrombophilie⁴ ou encore un syndrome d'anticorps antiphospholipides,⁴ celles ayant une collagénose ou une maladie rénale⁴ sous-jacente ainsi que les mères avec grossesse gémellaire ou multiple⁴ ou porteuses d'une môle hydatiforme ont également un risque augmenté de maladie.^{2,26,31,53}

Figure 4 : Facteurs de risque de prééclampsie (tiré de Gabbe⁴)

FACTEURS DE RISQUE DE LA PE
Nulliparité
Histoire familiale de PE
Antécédent personnel de PE
Obésité
Issue défavorable lors de grossesse antérieure
retard de croissance intra-utérin
mort foetale
Antécédents personnels de :
HTA chronique
Maladie rénale
Diabète mellitus
Thrombophilie
Syndrome antiphospholipides
Déficit en protéines C ou S
Facteur V Leiden

1.3.4- Incidence et répercussion de la prééclampsie

L'incidence de cette maladie compte pour environ 3 à 7% des grossesses aux États-Unis^{4,23,31} (pouvant même atteindre 7 à 10% selon d'autres études⁹) et est beaucoup plus élevée dans les pays en voie de développement : on rapporte près de 8 370 000 cas de PE annuellement à travers le monde.²⁴ La PE survient surtout chez les jeunes femmes primigestes et habituellement au troisième trimestre (après la 20^e semaine de grossesse).⁶ Pour ce qui est du risque de récurrence de la PE, 18 à 65% des femmes avec antécédents personnels récidivent lors de grossesses subséquentes selon diverses études.^{52,54,55}

La PE est en cause dans 90 % des cas de complication maternelle²⁴ en cours de grossesse dans les pays développés alors qu'elle multiplie par 5 fois la mortalité périnatale.²³ Pour ce qui est de l'éclampsie proprement dite, son incidence varie entre 0,05 % à 0,2 % de tous les accouchements.¹ Les répercussions de la PE affectent à la fois la mère, atteinte des organes cibles, tout comme le fœtus, l'insuffisance placentaire menant dans 30% des cas à un retard de croissance intra-utérin.³

Les tableaux qui suivent tirés une fois de plus de Paruk¹ soulignent le spectre de ces conséquences pour la patiente et son fœtus.

Figure 5 : Conséquences de la PE sur la mère

COMPLICATIONS MATERNELLES DE LA PE ¹
Hypertension incontrôlable
<i>Abruptio placentae</i> avec hémorragie
Oedème pulmonaire
Thrombocytopénie
Dysfonctionnement rénal
Accidents cérébrovasculaires
Coagulation intravasculaire disséminée
Syndrome d'aspiration
Thrombose
HELLP syndrome
Éclampsie
Interventions
induire le travail
incision de césarienne
médication
Conséquences psychologiques
Mortalité
Récurrence

Figure 6 : Conséquences de la PE sur le fœtus

COMPLICATIONS FETALES DE LA PE ¹
Retard de croissance intra-utérin
<i>Abruptio placentae</i>
Prématurité avec complications associées
respiratoires
neurologiques
intervention ~ pneumothorax
Hémorragie cérébrale
Neurodéveloppement
Mortalité périnatale/néonatale

1.3.5- Dépistage et prévention de la prééclampsie

1.3.5.1- Marqueurs biologiques précoces de la maladie

Des efforts ont été réalisés par le passé afin de tenter de développer des marqueurs précoces de risque de PE dans un but de prévention des complications par une détection rapide. Parmi ceux évalués notons : la pression artérielle mesurée à la 20^e semaine, le monitoring ambulatoire de la pression artérielle, les niveaux sériques de l'hormone β -HCG, l'excrétion urinaire de calcium, les concentrations urinaires de kallikréine, l'échographie Doppler de l'artère utérine, les niveaux plasmatiques de fibronectine ainsi que l'activation plaquettaire ont tous démontré une validité statistiquement significative en tant que marqueurs précoces de la maladie mais aucun ne présentait de valeur prédictive positive significative ou d'utilité pratique suffisante pour les patientes.²

1.3.5.2- Essais thérapeutiques préventifs

Les moyens thérapeutiques mis de l'avant dans le but de prévenir l'apparition des symptômes cliniques de la PE souffrent du manque de connaissances en ce qui a trait à l'étiologie de la maladie. Ceux employés dans le passé se fondaient sur l'identification de femmes à haut risque ainsi que sur certains marqueurs biologiques comme la diminution de l'excrétion urinaire de calcium ou encore le dosage de marqueurs du stress oxydatif. Nous présentons brièvement trois avenues préventives évaluées dans diverses études.

A- Suppléments calciques

Certains essais randomisés ont déjà démontré que la supplémentation en calcium chez les femmes nullipares à haut risque de PE permettait de réduire l'incidence de la maladie.² Néanmoins, ces résultats n'ont pas pu être reproduits lors d'une étude américaine d'envergure menée par le NIH auprès de 4589 femmes nullipares réparties aléatoirement en deux groupes entre la 13^e et la 21^e semaine de grossesse ; le premier groupe recevant un placebo et l'autre, deux (2) grammes de calcium élémentaire (recommandation quotidienne habituelle : 1g). Les résultats peu concluants de cette étude montraient que la supplémentation en calcium n'avait aucun impact ni sur l'incidence, ni sur la sévérité, ni sur le moment de survenue de la PE.²

B- Faibles doses d'aspirine

Les premières études prospectives menées sur le sujet laissaient entrevoir que l'administration de faibles doses d'aspirine réduisait l'incidence de la PE. En fait, cette opinion se basait sur les données publiées dans huit (8) études différentes menées auprès de diverses populations de femmes à travers le monde. Au total, ces études recensent plus de 27 000 patientes et montrent des résultats allant d'aucun effet à une réduction minimale de l'incidence de la PE.²

Une fois de plus, une étude menée par le NIH et regroupant 2539 femmes à haut risque de PE n'a pas pu mettre en évidence quelque effet bénéfique de la prophylaxie avec l'aspirine : l'incidence de la maladie, la mortalité périnatale, le retard de croissance intra-utérin ainsi que la prématurité fœtale ne présentaient pas de différence significative entre les groupes à l'étude.²

C- Suppléments en vitamines C et E

Il a été démontré dans le passé que les femmes avec PE présentaient des apports ainsi que des dosages sériques abaissés de vitamine C^{56,57} et E⁸. Deux études menées par Chappell tendent à démontrer un effet bénéfique de la supplémentation en vitamines C (1000 mg die) et E (400 UI die) chez les femmes à haut risque de PE et notent une diminution des marqueurs du stress oxydatif.^{14,15} D'autres études dont une pancanadienne sont en cours

actuellement et tentent de valider cette association. Nous reviendrons plus loin dans ce mémoire sur l'association entre la PE et le stress oxydatif.

1.3.6- Traitement de la prééclampsie

Le seul traitement efficace connu à ce jour demeure l'accouchement. Parmi les indications de procéder à l'accouchement de la femme enceinte avec PE soulignons le retard de croissance intra-utérin sévère et l'oligohydramnios du côté du fœtus alors que du côté maternel, les auteurs mentionnent l'âge gestationnel > 38 semaines, une thrombocytopénie avec < 100 000 plaquettes / mm,³ la détérioration progressive des fonctions rénales et hépatiques, la suspicion d'un *abruptio placentae* ainsi que des symptômes persistants et sévères de céphalées, nausées, vomissements, douleur épigastrique et changements visuels.²

Chapitre 4- Prééclampsie et stress oxydatif

1.4.1- Lien entre la prééclampsie et le stress oxydatif

1.4.1.1- Déséquilibre entre pro-oxydants et antioxydants et PE

Considérant l'état actuel de nos connaissances sur la maladie, la plupart des auteurs s'entendent pour dire que la physiopathologie de la PE impliquerait à la fois des facteurs génétiques, immunologiques et environnementaux. En ce sens, plusieurs études publiées dans la littérature récemment tendent à associer à la PE le développement d'un stress oxydatif, résultat d'une ischémie placentaire productrice de radicaux libres oxydants.³⁶ *À priori*, deux raisons expliqueraient le déséquilibre entre les facteurs oxydants et les antioxydants responsable de la dysfonction endothéliale traitée plus tôt : il surviendrait à la fois une augmentation du stress oxydatif (formation accrue de radicaux libres et donc de la peroxydation des lipides⁵⁸), à laquelle s'ajouterait une diminution de l'activité des enzymes et des vitamines responsables de la neutralisation desdits radicaux.^{4,9}

Nombre d'études portant sur la PE associent le stress oxydatif au développement de la PE, où les pro-oxydants surpassent les capacités détoxifiantes des antioxydants^{6,9,59} *À fortiori*, les marqueurs du stress oxydatif ont d'ores et déjà été détectés dans le sang des femmes prééclampsiques.³¹

1.4.1.2- Indices du stress oxydatif dans la PE

A- Marqueurs sanguins et placentaires

Parmi les marqueurs du stress oxydatif mesurés chez les femmes enceintes avec PE, on note les LDL oxydés et le malondialdéhyde,²³ les résidus de nitrotyrosine, lesquels résidus signent la formation des peroxynitrites, de puissants oxydants formés par la réaction entre les radicaux libres de l'oxygène et le monoxyde d'azote (NO). Ceux-ci sont augmentés chez les femmes avec PE par rapport aux contrôles.⁷ Les isoprostanes (*cf. 1.2.2.1*) mesurés au niveau plasmatique et au sein du placenta sont également significativement plus élevés lors des grossesses compliquées d'une PE que chez les contrôles^{23,60,61} et il en est de même pour l'élévation de la fibronectine, un autre marqueur de l'atteinte endothéliale.⁶² Finalement, dans son étude voulant vérifier l'impact des vitamines antioxydantes sur les marqueurs du stress oxydatif, Chappell a pour sa part démontré l'utilité des dosages de

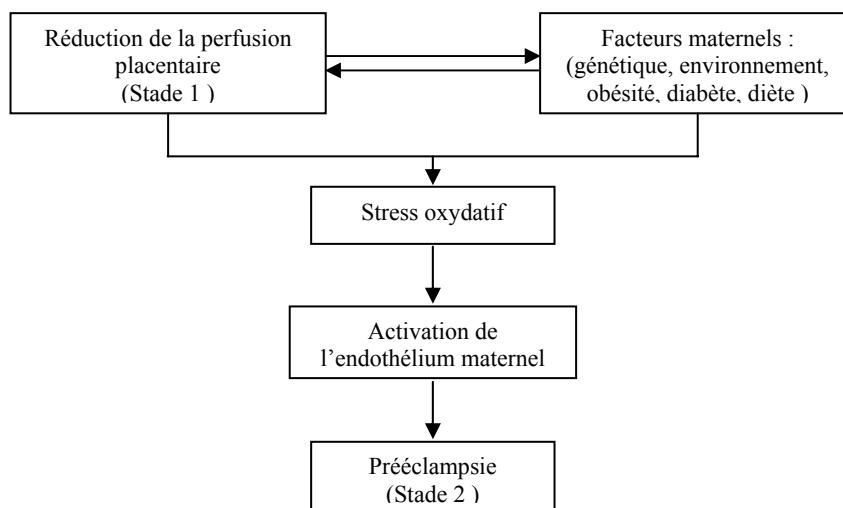
PAI-1 et PAI-2 comme indices de la dysfonction endothéliale, de l'acide ascorbique et de l' α -tocophérol comme indices du stress oxydatif ainsi que de l'isoprostane 8-epi-prostaglandine F_{2 α} comme marqueur de la peroxydation lipidique.¹⁵ D'autres encore ont mesuré les niveaux plasmatiques des TBARs (*thiobarbituric acid reactive-substances*), un autre marqueur de la peroxydation des lipides, lesquels étaient significativement augmentés chez les femmes avec PE par rapport aux contrôles ($p < 0,05$).⁵⁹

B- Marqueurs respiratoires

Moretti *et coll.* ont mis au point une autre méthode cette fois-ci respiratoire pour mettre en évidence l'importance du stress oxydatif dans la PE en utilisant comme marqueurs les VOCs (*volatile organic compounds*) issus de la peroxydation des acides gras polyinsaturés membranaires qui génère certains alcanes tels que le pentane et l'éthane excrétés par les voies respiratoires. La mesure des VOCs a confirmé la hausse significative du stress oxydatif chez les femmes avec PE par rapport aux grossesses normales ($p < 0,03$).⁶³

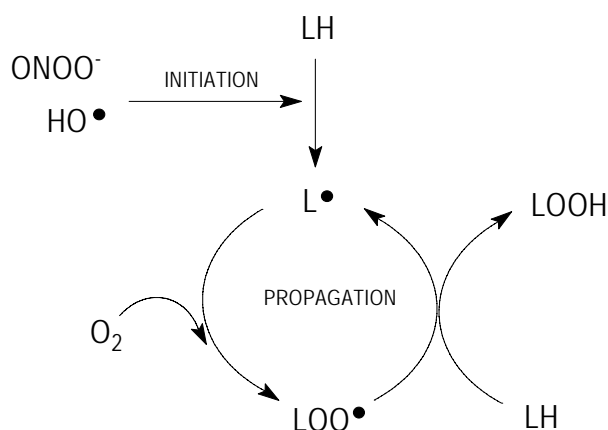
1.4.1.3- Radicaux libres et peroxydation des lipides

Tel qu'énoncé précédemment, la PE serait la conséquence d'une ischémie placentaire, laquelle lorsque suivie d'une reperfusion devient l'une des principales voies de production des radicaux libres issus de la respiration mitochondriale, des xanthines oxydases et des cyclooxygénases.¹⁰ À ce titre, une publication parue dans *The Lancet*²⁶ suggère que la maladie puisse se développer selon un modèle en deux étapes : premièrement, on retrouve une fois de plus la réduction de la perfusion placentaire due à une implantation anormale comme étant l'élément déclencheur, puis, en second lieu, la production d'une réponse maternelle influencée par différents facteurs (génétiques, environnementaux, comportementaux).^{3,26,31} La figure 7 illustre ce modèle.

Figure 7 : Physiopathologie de la prééclampsie en deux stades

Tiré de Roberts et Hubel²⁶

En effet, tel que nous en avons déjà discuté, la dysfonction endothéliale jouerait un rôle primordial dans la pathophysiologie de la PE et de plus en plus d'études tendent à démontrer que les dommages subis par l'endothélium des femmes atteintes de la maladie seraient causés par la peroxydation des lipides occasionnée par les radicaux libres tel qu'illustré par le schéma 8. Ainsi, la formation accrue de radicaux libres dans le contexte d'épisodes d'ischémie/hypoxie favorise d'autant plus l'accumulation de radicaux lipidiques délétères pour l'endothélium.

Figure 8 : Mécanisme de peroxydation des lipides par les radicaux libres

La peroxydation est initiée lorsqu'un radical libre de l'oxygène oxyde un acide gras insaturé (LH), formant un radical lipidique (L•). Ce dernier réagit avec une molécule de dioxygène pour former un radical peroxy (LOO•). Celui-ci attaque un autre lipide insaturé formant un radical lipidique ainsi qu'un groupement hydroperoxyde (LOOH)

1.4.1.4- Les antioxydants et la prééclampsie

D'un autre côté, on note parmi les antioxydants diverses voies enzymatiques (superoxyde dismutase (SOD), catalase et glutathion peroxydase), certaines vitamines (vitamine A, C, E) de même que quelques protéines de liaison comme la transferrine, la ferritine ainsi que la céruloplasmine qui réduisent la formation des radicaux libres en chélatant les métaux de transitions libres comme le fer. Déjà, il fut démontré que certains d'entre eux sont significativement diminués chez les femmes prééclampsiques comparativement aux femmes avec grossesse normale.

À vrai dire, devant cet état de faits, divers groupes de recherche ont comparé les niveaux plasmatiques des vitamines C et/ou E, facilement mesurables, chez les patientes avec PE versus celles non atteintes. Leurs résultats montrent effectivement une association entre la déficience en antioxydants et le risque de PE : les patientes qui développent la maladie présentent des dosages inférieurs de ces vitamines.⁶⁴⁻⁶⁸ Également, il a été démontré que les femmes avec PE présentaient une diminution significative des concentrations plasmatiques et placentaires de l'enzyme glutathion (GST)⁶⁹ tout comme celles de β -carotène, deux autres antioxydants d'importance, comparativement aux femmes avec grossesse normale.⁵⁸ Par ailleurs, l'effet bénéfique et l'efficacité de ces vitamines antioxydantes a aussi été évoqué dans l'étude d'autres pathologies périnatales impliquant possiblement un stress oxydatif.^{70,71}

A- Fondement de la supplémentation en vitamines C et E

Nous avons déjà abordé cette alternative prophylactique au chapitre 1.3.5.2 du présent mémoire, mais il est particulièrement intéressant de rappeler ici les résultats de l'étude menée par Chappell concernant l'effet des antioxydants sur l'incidence de la PE. Afin de soutenir l'implication du stress oxydatif dans la physiopathologie de la maladie, les investigateurs vérifièrent l'effet d'un traitement à la vitamine C et E durant la deuxième moitié de la grossesse (semaines 16 à 22) chez des patientes jugées fortement à risque.¹⁴ Ils démontrèrent que celui-ci pouvait être bénéfique dans la prévention de la PE via la diminution du stress oxydatif.¹⁵ Toutefois, l'administration des ces mêmes antioxydants une fois la maladie installée est sans effet bénéfique.^{72,73}

Chapitre 5- Prééclampsie et maladies cardiovasculaires

Après avoir énoncé la plus récente hypothèse émise concernant la physiopathologie de la PE, il convient maintenant de souligner les évidences nous permettant de relier cette pathologie aux maladies cardiovasculaires (MCV) à plus long terme. À cet effet, rappelons qu'au point de vue étiologique, le stress oxydatif (lié à la physiopathologie de la PE précédemment) a été également associé par le passé au développement de l'athérosclérose et des MCV via l'oxydation des lipoprotéines de faible densité (*LDL*) en *oxLDL*.⁷⁴

Certains auteurs ont donc établi dans le passé un lien entre la PE et le risque pour la patiente d'être atteinte d'hypertension ou encore de MCV à long terme.⁷⁵⁻⁷⁷ Ainsi donc, des études menées récemment rapportaient que le fait pour une mère de développer une PE lors de sa première grossesse lui conférait un risque deux fois plus élevé (IC 95% [1,5-2,5]) que la normale d'être admise en milieu hospitalier suite à une MCV et ce, pour les 15 à 19 années suivant le diagnostic de PE.⁷⁶

Qui plus est, une autre étude menée récemment rapportait une forte association entre le risque de MCV des parents de premier degré d'une femme et son propre risque de PE. En effet, selon cette analyse, le fait d'avoir deux membres ou plus de sa famille présentant des facteurs de risque de MCV (hypertension, diabète, histoire d'AVC) versus aucun membre, fait augmenter les probabilités de développer une PE (RC 1,9 IC 95% [1,1-3,2]) ou une hypertension gestationnelle transitoire (RC 1,7 IC 95% [1,1-2,6])⁷⁸ D'autres ont également rapporté des résultats similaires soulignant la prévalence du diabète et de l'hypertension dans la famille des femmes avec PE.⁷⁹

Ce lien entre la PE et le risque de MCV nous apparaît encore plus plausible lorsque nous considérons différents facteurs de risque communs aux deux maladies qui ont été identifiés.³⁸ D'abord, rappelons en ce sens ceux que plusieurs reconnaissent comme étant des facteurs prédisposant à l'HG avec ou sans protéinurie : l'hypertension chronique, le diabète mellitus et la résistance à l'insuline, la dyslipidémie, l'obésité.^{10,23,31} ainsi que l'hyperhomocystéinémie et la race Afro-Américaine.²³ Force nous est de constater que chacun d'eux est aussi associé aux MCV plus tard dans la vie²³ et c'est pourquoi des chercheurs du CRSFA ont décidé de se pencher sur les liens pouvant exister entre la prédisposition à la PE et les MCV chez les Canadiennes françaises.

Chapitre 6- Pertinence et objectifs

Tel que nous l'avons énoncé en introduction à ce travail, de nombreuses avenues sont explorées actuellement dans diverses études pour expliquer l'étiopathogénèse de l'HG/PE ; parmi celles-ci, la dysfonction endothéliale causée par un stress oxydatif au niveau de la membrane vasculaire semble susciter l'intérêt des chercheurs, puisque souvent considérée comme ayant un rôle important à jouer dans le développement et l'évolution de la maladie.

Par ailleurs, de plus en plus d'évidences suggèrent que les femmes ayant souffert d'HG avec ou sans protéinurie plus tôt au cours de leur existence aient un risque augmenté de MCV à long terme, que nous pouvons supposer être la conséquence d'une susceptibilité accrue audit stress oxydatif ainsi qu'à la dysfonction endothéliale.

Finalement, force nous est de souligner que la population canadienne française est génétiquement bien définie et issue d'un nombre restreint de fondateurs. Elle représente donc un outil de choix pour la recherche des gènes de susceptibilité aux maladies complexes telle l'HG, et le risque d'association artéfactuelle due à la stratification génétique y est moins élevé que dans les populations cosmopolites.

1.6.1- Hypothèse

Cela étant, nous supposons dans un premier temps que des polymorphismes de gènes impliqués dans la biotransformation des composantes oxydantes constituent des marqueurs de susceptibilité à l'HG compliquée ou non de PE.

En second lieu, considérant les prémices, nous savons déjà que les femmes ayant souffert d'HG avec ou sans protéinurie sont à risque de MCV à long terme ; pour notre part, nous postulons que les deux entités sont liées génétiquement via certains loci d'enzymes impliquées dans le métabolisme de substances oxydantes endogènes et xénobiotiques.

1.6.2- Objectif général

Étudier chez une cohorte cas-témoins recrutée de façon prospective, l'implication potentielle de la variation génétique de gènes impliqués dans le métabolisme de substances

oxydantes toxiques endogènes et xénobiotiques sur le risque d'HG avec ou sans protéinurie et secondairement leur risque de MCV à long terme.

1.6.2.1- Objectifs spécifiques du travail de maîtrise

- Se familiariser davantage avec l'établissement du génotype d'un individu et avec l'analyse génétique des populations au moyen de la technique d'ASO-PCR (*Allele-specific oligonucleotide polymerase chain reaction*) afin de procéder à :
 - Mise au point finale en ASO-PCR du polymorphisme GST π A³¹³G (Ile105Val) du gène de la glutathion-S transférase (GST) P1.
 - Mise au point finale en ASO-PCR du polymorphisme GST π C³⁴¹T (Ala114Val) du gène de la glutathion-S transférase (GST) P1.
 - Mise au point finale en ASO-PCR du polymorphisme de délétion du gène GST-M1 (GST μ)
 - Mise au point finale en ASO-PCR du polymorphisme de délétion du gène GST-T1 (GST τ)
 - Mise au point finale en ASO-PCR du polymorphisme CYP1A1 A⁴⁸⁸⁹G (Ile462Val) du gène du cytochrome P450 (CYP) 1A1
 - Mise au point finale en ASO-PCR du polymorphisme EPXH A⁶¹²G (Tyr113His) du gène de l'époxyde hydrolase (EPXH)
 - Mise au point finale en ASO-PCR du polymorphisme His139Arg du gène de l'époxyde hydrolase (EPXH)
 - Mise au point finale en ASO-PCR du polymorphisme G⁸⁹⁴T (Glu298Asp) du gène de la NO-synthase endothéliale (eNOS)
 - Mise au point finale en ASO-PCR du polymorphisme C⁻⁸⁴⁴T du gène de la catalase (CAT)
 - Mise au point finale en ASO-PCR du polymorphisme C⁴⁷T (Ala16Val) du gène de la superoxyde dismutase mitochondriale (MnSOD)
- Procéder au génotypage d'une cohorte de 168 sujets avec antécédents (6 à 12 ans) d'HG avec ou sans protéinurie ainsi que de leurs 168 contrôles pour chacun des polymorphismes énumérés ci haut
- Procéder aux analyses statistiques en établissant les rapports de cote et les analyses du chi carré ou du test de Fisher lorsque nécessaire en comparant les cas (HG et PE ; HG seule ; PE seule) à leurs témoins (grossesse normale)
- Mener des analyses statistiques en établissant des combinaisons d'allèles indépendants
- Discuter les associations positives ainsi que le(s) lien(s) potentiel(s) pouvant être établi(s) entre l'HG/PE et le risque de MCV à long terme chez la femme

Chapitre 7- Description de chacun des gènes candidats

Cette section présente chacune des enzymes qui ont fait l'objet de notre étude eu égard à leur implication dans la détoxification des xénobiotiques endogènes et exogènes et leur association, pour certaines, avec l'HTA ou encore la PE par le passé. Nous y présentons donc les polymorphismes d'intérêt retenus sur chaque gène en indiquant la fréquence au sein de la population ainsi que l'impact au point de vue fonctionnel de la mutation impliquée lorsque des études de cinétique sont disponibles.

Néanmoins, avant tout, rappelons que le métabolisme des toxines endogènes se fait habituellement selon deux phases enzymatiques séquentielles. D'abord, la phase I impliquant un métabolisme oxydatif⁸⁰ où lesdites toxines sont modifiées entre autres par les enzymes de la famille du cytochrome p450 (CYP450). D'autres enzymes métaboliques font également partie de la phase I mais ne seront pas abordées dans ce travail : ce sont les *flavin-containing monooxygenases* (FMO1-6) ainsi que les enzymes alcool déshydrogénases (ADH1-3).⁸⁰

Par la suite, la phase II implique certaines enzymes telles que la glutathion S-transférase (GST), l'époxyde hydrolase (EPXH), les *N*-acétyltransférases (NAT), lesquelles catalysent les réactions de conjugaison nécessaires pour inhiber et faciliter l'élimination de composantes toxiques.⁸¹ Notons par ailleurs que les produits intermédiaires formés lors de la phase I sont souvent très réactifs et peuvent eux aussi endommager les cellules s'ils ne sont pas rapidement conjugués par la phase II.

1.7.1- Glutathion S-transférase

Les glutathion S-transférases constituent une famille de protéines jouant un rôle clé dans la détoxification de plusieurs composés hydrophobes et électrophiles endogènes. Tous les eucaryotes expriment plusieurs isoenzymes cytosoliques et membranaires.⁸² Elles constituent des enzymes métaboliques de phase II, puisqu'elles catalysent la conjugaison de leurs substrats, et particulièrement les hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP), à un groupement glutathion réduit^{83,84} menant à la formation de métabolites hydrophiles excrétables.^{85,86} Cette réaction de "détoxification" sert à la protection des cellules contre

les agents cytotoxiques, différents polluants environnementaux, les produits du stress oxydatif et divers carcinogènes.^{82,83} *In vivo*, les groupes réactifs de l'oxygène ou reactive oxygen species – ROS – constitueraient les principaux inducteurs de ces enzymes.⁸² Toutefois, il est rapporté dans certains cas que la conjugaison au groupe glutathion peut entraîner la formation de produits intermédiaires réactifs.⁸³

Par ailleurs, ces enzymes sont subdivisées en six (6) classes selon leurs propriétés structurales, biochimiques et immunologiques ; on distinguera ainsi les classes alpha (α), kappa (κ), mu (μ) pi (π), sigma (σ) et thêta (τ).^{82,87} Dans le cadre de nos travaux de recherche, 4 polymorphismes au total ont été étudiés : deux au sein de la classe pi du gène et un dans chacune des classes mu et thêta.

L'activité de l'enzyme glutathion S-transférase au sein du placenta et chez les femmes avec PE a fait l'objet de récentes études fonctionnelles.⁶⁹

1.7.2- Glutathion S-transférase pi

D'entrée de jeu, mentionnons que le gène glutathion S-transférase classe pi (*GST π* ou *GSTP1*), aussi répertorié dans la littérature sous l'appellation GST3, se retrouve au sein du chromosome 11q13^{88,89} et compte 7 exons tel qu'établi par Morrow *et al.*⁹⁰ *GST π* est exprimé dans toutes les cellules et tissus humains à l'exception des érythrocytes.⁹¹ Cette isoforme de l'enzyme compte pour 36% de l'activité totale de conjugaison de GST au sein du placenta.⁶⁹ Par ailleurs, deux polymorphismes ont été mis en évidence sur l'ADN du gène résultant en une transition d'une adénine pour une guanine et d'une cytosine pour une thymine au niveau des nucléotides 313 (A³¹³G) et 341 (C³⁴¹T) respectivement.^{83,92,93}

L'étude de del Carmen Terrones Saldivar a également étudié la cinétique de GST pi chez les femmes prééclampsiques comparativement à d'autres avec grossesse normale. Ses travaux démontrent une diminution de la concentration de cette enzyme au sein du placenta chez les patientes atteintes de PE sévère.⁶⁹

1.7.2.1- *GST π A³¹³G*

Le premier des deux polymorphismes se retrouve dans l'exon 5 et provoque une permutation de l'acide aminé isoleucine (ATC) pour une valine (GTC) au codon 105

(Ile105Val).⁹²⁻⁹⁴ Selon diverses études, la fréquence allélique A/G serait d'environ 0,70 / 0,30 chez les Caucasiens.⁹⁵ Par ailleurs, cette transformation du peptide GST π diminue son activité catalytique de conjugaison, laquelle serait abaissée de 30% par rapport à son niveau de base.^{92,94,96} On a démontré par la suite que l'acide aminé valine altère la stabilité de l'enzyme à la chaleur expliquant ainsi son activité spécifique diminuée par rapport à celle que lui confère habituellement son isoforme.^{92,97} Pour cela, cette mutation ponctuelle a d'ores et déjà été étudiée dans le contexte de prédisposition au cancer ou encore dans le cadre de la résistance aux médicaments antinéoplasiques.^{95,98,99}

Dans un même ordre d'idées, deux études similaires à la nôtre évaluant l'impact de cette mutation sur GST π lors de la grossesse ont déjà été recensées dans la littérature. En effet, Ohta¹⁰⁰ a déjà associé ce polymorphisme à l'HG chez les femmes Japonaises alors que Zusterzeel¹⁰¹ en faisait autant chez les femmes Néerlandaises prééclampsiques.

L'étude nipponne, menée auprès de 241 patientes avec antécédents d'HG et 327 témoins ne démontrait pas à priori de différences significatives dans la distribution des génotypes AG³¹³ et GG³¹³ chez les cas (26%) versus les contrôles (28%).¹⁰⁰ Toutefois, après des analyses multivariées, Ohta concluait en suggérant une augmentation du risque d'HG sévère pour les femmes primipares de plus de 35 ans porteuses d'un ou deux allèles G puisque dans ce sous-groupe de patientes, les cas d'HG sévère présentaient une fréquence augmentée de l'allèle en question : 63% versus 18% des témoins ($p < 0,05$).¹⁰⁰ Zusterzeel de son côté publiait en 2000 une étude portant sur 170 cas de PE et 109 contrôles où 14% des cas étaient homozygotes GG³¹³ comparativement à 5% des témoins (RC 3,4 IC 95% [1,2-10,6] $p = 0,02$).¹⁰¹ Il en concluait que les femmes homozygotes GG³¹³ présenteraient une plus grande susceptibilité à la PE et pour soutenir ses observations, il supposait que la perte d'activité catalytique de conjugaison de GSTP1 chez les porteurs d'un ou, pire encore, deux allèles G favorisait le développement du stress oxydatif.

À titre d'exemple, la figure ci-dessous reprend une partie de la séquence nucléotidique du chromosome 11q13 et encadre la première mutation étudiée sur le gène GST π soit A³¹³G :

Figure 9 : Mutation A313G du chromosome 11q13

```

5' CCACCTGAGGGGTAAGGGGGGTGAGGGCACAAGAAGCCCCTTTCTTTGTTTCAGCCCCCAGTGCCCAACC
CTGGGTGCAGATGCTCACATAGTTGGTGTAGATGAGGGAGA T GTATTTCAGCGGAGGTCCTCCACGCCGT
ATTACCATGTCCACCAGGGCTGCCTCCTGCTGG TCCTTCCCATAGAGCCCTGGGGTTGGGTGGAGGGG 3'

```

Rappelons qu'il s'agit ici du brin d'ADN complémentaire et qu'il faut donc rechercher la mutation T³¹³C, c'est-à-dire la thymine en caractères gras remplacée par une cytosine si l'individu est porteur de l'allèle muté.

1.7.2.2- *GSTπ C³⁴¹T*

Le second polymorphisme à l'étude sur *GSTπ*, C³⁴¹T, se situe au niveau de l'exon 6.⁸⁷ Cette autre mutation ponctuelle amène également une modification dans la séquence des acides aminés allant d'une alanine vers une valine cette fois-ci au codon 114 (Ala114Val) ayant pour impact fonctionnel une diminution de l'activité enzymatique de conjugaison chez les porteurs d'une valine^{87,92} d'environ 20% du niveau de base.⁸³ Selon la littérature, la fréquence de l'allèle T (Val) serait de 5 % chez les Afro-Américains et de 9 % chez les Américains d'origine européenne.⁸³

Néanmoins, d'autres études fonctionnelles menées sur les variantes alléliques de *GSTπ* tendent à démontrer que l'activité différentielle de l'enzyme varie selon le substrat employé, pouvant parfois conférer aux porteurs d'une valine au codon 105 et/ou 114 une efficacité métabolique supérieure.^{83,96,102} Ainsi, d'autres rapportent une activité catalytique des époxydes accrue pour les porteurs Val105.¹⁰³

1.7.3- Glutathion S-transférase mu

Cinq (5) gènes différents codant pour l'enzyme glutathion S-transférase mu (*GSTμ* ou *GSTM*) ont été identifiés (*GSTM1-5*).^{95,104} Tout comme les autres représentants de cette famille d'enzymes, *GSTμ* est impliquée dans la détoxification de divers ROS et plus particulièrement, les *HAP*.^{82,105} Toutefois, l'enzyme *GSTμ* est inactive chez plus de 50% des individus^{105,106} allant de 45 à 58% selon diverses études menées sur des populations européennes et colligées par Ada.¹⁰⁷ Ceci fut associé à une délétion de 15 kilo-bases du

gène GSTM1, localisé au chromosome 1p13.3, qui inactive l'enzyme et que l'on retrouve chez 40 à 50 % des Caucasiens.^{84,86,87,95,103,108,109}

La littérature abonde en études rapportant que l'exposition accrue aux toxiques et au stress oxydatif associée à une perte d'activité de l'enzyme en question mène à un risque élevé de maladies liées à l'environnement telles que le cancer et les MCV via leur association avec le tabagisme.^{84,95,109-114} Une étude de Zusterzeel en 2000 n'a pas permis d'établir de lien entre la perte d'activité de GST μ et le risque de PE¹⁰¹.

1.7.4- Glutathion S-transférase thêta

Chez l'homme, on retrouve l'enzyme glutathion S-transférase thêta (GST τ ou GSTT1) en majeure partie dans les globules rouges,¹¹⁵ mais elle pourrait être induite dans les autres tissus. Selon les études fonctionnelles, GST τ catalyserait la conjugaison de substances toxiques environnementales et de composés électrophiliques mutagènes (différentes classes de ROS) comme l'oxyde d'éthylène, le bromure de méthylène, différents alcanes halogénés et époxydes.^{85,87,116} Par ailleurs, on a initialement observé dans la population que 60% des individus seulement conjuguait les halométhanés (un autre substrat spécifique à GST τ) alors que 40% ne le faisaient pas.⁸⁷

Sur ce, on a pu établir que la variabilité dans le métabolisme du chlorure de méthylène dans le sang humain était attribuable à un polymorphisme génétique au sein de *GSTT1*^{116,117}, lequel gène est encodé au locus 22q11.2¹¹⁸ Une délétion partielle de 54 251 paires de bases du gène *GSTT1* a été mise en évidence⁸⁵ et confère trois phénotypes distincts (“*nonconjugators*, *low conjugators* et *high conjugators*”) selon que deux, un seul ou aucun des deux allèles soit délété.¹¹⁶

En ce qui concerne la fréquence de ce polymorphisme, on rapporte qu'entre 15 à 20 % des Caucasiens de descendance européenne sont *GSTT*0* (donc homozygotes délétés sans activité de l'enzyme).^{97,103,107,114,119,120} Enfin, des études ont été réalisées dans le passé, tentant d'associer le polymorphisme en question au risque de cancer^{86,114,119} ou encore au risque de faible poids à la naissance chez les bébés de mères fumeuses.¹²¹ Les résultats demeurent controversés.¹¹⁴ Par ailleurs, une seule autre étude a voulu évaluer le risque de

PE selon le génotype pour GST τ : les résultats pour ce polymorphisme n'étaient pas significatifs.¹⁰¹

1.7.5- Cytochrome P450 1A1

Le gène du cytochrome P450 1A1 (*CYP1A1*) se retrouve au sein du chromosome 15q22-q24. CYP1A1 catalyse une autre importante voie métabolique oxydative (phase I) visant la détoxification de toxines endogènes et exogènes, comprenant entre autres, les HAP.¹²²

Parmi les polymorphismes décrits dans la littérature, nous en avons retenu un localisé dans l'exon 7 ; il s'agit d'une mutation ponctuelle d'une adénine pour une guanine identifiée A⁴⁸⁸⁹G.^{122,123} Selon les résultats présentés dans la littérature, la fréquence de l'allèle rare G varie de 1,1% à 4,9% au sein des populations européennes caucasiennes,¹⁰⁷ mais elle atteindrait 16% dans une autre étude menée auprès des Néerlandaises.¹⁰¹ Il a été établi que cette variation allélique occasionnait une substitution de l'acide aminé isoleucine pour une valine au codon 462 de la protéine (Ile462Val)^{107,123} et qu'elle induisait, au niveau fonctionnel, une expression accrue de l'enzyme en cause¹²⁴ conférant ainsi à la protéine pour un porteur Val462Val une activité enzymatique atteignant le triple de celle observée chez les homozygotes Ile462Ile.¹²⁴

Ce polymorphisme a été associé dans la littérature au risque de cancers et de MCV liés à la toxicité de substances exogènes telles que les produits du tabac.^{125,126} Il a également déjà été étudié en association avec la PE par Zusterzeel en 2000 ; dans son étude, 12% des patientes avec antécédent de PE étaient hétérozygotes AG⁴⁸⁸⁹ comparativement à 19% des témoins et 2% des cas étaient homozygotes GG⁴⁸⁸⁹ versus 6% des témoins.

1.7.6- Époxyde hydrolase

Le gène codant pour l'enzyme époxyde hydrolase (EPXH) pour sa part a été localisé sur le chromosome 1q42.1¹²⁷ et constitue une autre importante enzyme impliquée dans le métabolisme de toxines endogènes et exogènes. Nous avons porté notre attention cette fois-ci sur deux polymorphismes qui avaient déjà été associés dans le passé à une susceptibilité accrue de développer la PE.¹²⁸

1.7.6.1- *EPXH A⁶¹²G*

Le premier polymorphisme, occasionné une fois de plus par la transition ponctuelle d'une adénine pour une guanine au nucléotide 612 (A⁶¹²G) se retrouve au niveau de l'exon 3 et provoque la substitution d'une tyrosine par une histidine au sein du codon 113 (Tyr113His).^{129,130} On rapporte une fréquence pour His113 allant de 30 à 40% selon quatre (4) études réalisées au sein de populations caucasiennes.¹²⁸ Celle-ci entraîne une chute de 40 % de l'activité de l'enzyme en question chez les porteurs homozygotes His113His.¹³¹

1.7.6.2- *EPXH His139Arg*

La seconde mutation ponctuelle se retrouve quant à elle à l'intérieur de l'exon 4 où un changement nucléotidique C-T^{129,130} a été observé menant dans ce cas-ci à la transition d'une histidine par une arginine au codon 139 (His139Arg), laquelle transition est responsable d'une hausse de l'activité enzymatique détoxifiante de la protéine.^{128,131} L'acide aminé Arg139 aurait une prévalence entre 12 et 24% chez les Caucasiens.¹²⁸

1.7.7- NO-synthase endothéliale

Le monoxyde d'azote (NO), un puissant vasodilatateur, est synthétisé à partir de l'acide aminé L-arginine. L'enzyme NO-synthase endothéliale (eNOS ou NOS3) catalyse cette réaction d'oxydation au niveau vasculaire.¹³² Deux autres enzymes NOS sont décrites : la NO-synthase inductible (iNOS ou NOS2) et neuronale (nNOS ou NOS1).^{132,133} Le gène de la eNOS (*NOS3*) a été localisé au locus 7q36.⁸⁷ D'un point de vue fonctionnel, le NO est impliqué directement chez l'homme dans l'homéostasie du tonus vasculaire et la régulation des plaquettes sanguines en plus de son rôle dans la relaxation des muscles lisses gastro-intestinaux et la réponse immunitaire.¹³⁴ Lorsque le NO réagit avec l'anion superoxyde (O₂⁻), il y a formation de peroxynitrite (ONOO⁻), un agent oxydant potentiel.¹³⁴

Par ailleurs, de par sa fonction vasodilatatrice cruciale, son effet sur le tonus vasculaire et le rôle clé qu'il pourrait jouer dans la dysfonction endothéliale,¹³⁵ nombre d'auteurs ont étudié l'association entre l'oxyde nitrique et les MCV, l'hypertension essentielle et même la PE ; toutefois, certains résultats demeurent contradictoires.¹³⁵⁻¹⁴⁴ Malgré tout, deux études ont pu mettre en évidence un locus de susceptibilité à l'HG avec ou sans protéinurie localisé au chromosome 7q36, lequel encode le gène eNOS comme nous le mentionnions

précédemment.^{144,145} Un polymorphisme d'intérêt fut donc identifié au cœur de l'exon 7, nucléotide G⁸⁹⁴T, sur le gène NOS3 menant à une permutation d'une glutamine pour une asparagine au codon 298 (Glu298Asp) du peptide eNOS.¹³⁹ Trois études fonctionnelles ont pu être répertoriées dans la littérature et suivant ces résultats, il n'existerait pas de différence significative dans la production de NO entre les deux variantes alléliques.¹⁴⁶ La fréquence de l'allèle Asp298 selon les études est plus fréquente chez les Caucasiens (34.5%) que chez les Afro-Américains (15.5%) et les Asiatiques (8.6%).¹⁴⁷ Des études menées chez les Japonais ont associé une présence significativement augmentée de l'allèle Asp298 chez les patients hypertendus comparativement à ceux normotendus.^{137,141}

Dans la même veine, les niveaux circulants de nitrites ont été démontrés significativement abaissés chez les femmes prééclamptiques.¹⁴⁸ Également, des études menées chez la rate gestante ont démontré que l'administration d'un inhibiteur de la NO-synthase pendant la grossesse reproduisait les éléments cardinaux de la PE.^{149,150} Ces évidences soutiennent la place prépondérante qu'occupe l'étude de eNOS, principal producteur d'oxyde nitrique, dans la physiopathologie de l'HG/PE.

1.7.8- Catalase

La catalase (CAT), une enzyme ubiquitaire tétramérique encodée sur le locus 11p13, est un important facteur antioxydant de l'organisme humain et se retrouve en abondance dans le foie, les reins et les érythrocytes.^{103,151} Elle catalyse la réaction de réduction de la molécule de peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) en molécules d'oxygène (O₂) et d'eau (H₂O).^{152,153} Elle permet donc de limiter l'effet délétère du H₂O₂ (un important groupe réactif de l'oxygène associé aux maladies dégénératives et au vieillissement¹⁵³) dans l'endothélium vasculaire. Sur ce point, la catalase, de concert avec les enzymes superoxydes dismutases et glutathion peroxydases, constitue donc la première ligne de défense de l'organisme face au stress oxydatif.¹⁵¹

Des études menées récemment ont démontré une association entre les taux sériques de peroxyde d'hydrogène et l'HTA. En effet, les patients hypertendus auraient des taux plasmatiques d'H₂O₂ significativement augmentés comparativement aux patients normotendus.¹⁵⁴ Cette assertion soutient indirectement une implication potentielle de

l'activité catalytique de la catalase dans la physiopathologie de l'HTA et a mené à l'étude de Jiang.¹⁵² Le polymorphisme retenu se retrouve à 844 paires de bases en amont du codon de départ du gène en question.¹⁵² Cette mutation ponctuelle C vers T (C-844T) a été associée à une pression artérielle systolique statistiquement augmentée chez les homozygotes TT au sein de la population japonaise où la proportion des allèles C/T est de 0,684 / 0,316.¹⁵² Aucune autre étude concernant ce polymorphisme n'a été menée à ce jour et nous ne disposons d'aucune donnée se rapportant à sa distribution dans la population caucasienne.

1.7.9- Superoxyde dismutase mitochondriale

Les superoxydes dismutases (SODs) constituent une famille de métallo-enzymes qui catalysent la conversion des anions superoxydes (O_2^-) en peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) et en oxygène (O_2).^{153,155} Il existe trois formes différentes de cette enzyme : cytosolique (CuZnSOD), extracellulaire (également notée CuZnSOD) et mitochondriale (MnSOD).¹⁵³ L'enzyme superoxyde dismutase intramitochondriale est une indophénoloxydase tétramérique ayant pour principal co-facteur le manganèse (MnSOD, aussi répertoriée SOD2) ; elle constitue, à l'instar de la catalase, une première ligne de défense de notre organisme contre le stress oxydatif.⁸⁷ MnSOD est de toute première importance sachant que ce sont les mitochondries qui consomment près de 90% de l'oxygène au niveau cellulaire et elles sont donc les principales productrices de ROS.¹⁰³ Physiologiquement, il s'agit d'un agent complexant les radicaux libres de l'oxygène, protégeant ainsi les autres enzymes mitochondriales des effets délétères des superoxydes. *À fortiori*, ces mêmes superoxydes sont augmentés dans le tissu placentaires des femmes prééclamptiques¹⁵⁶⁻¹⁵⁸. Par ailleurs, il fut établi qu'une élévation des ROS mitochondriaux chez les souris SOD2 -/- résulte en des aberrations biochimiques d'importance.¹⁵⁹

Rosenblum *et al.* ont découvert une transition C vers T du nucléotide 47 (C⁴⁷T) du gène SOD2 (6q25.3), laquelle transition résulte en un changement GCT (alanine) pour GTT (valine) au codon 16 (Ala16Val) de la protéine aussi désigné Ala-9Val en référence à la position -9 de l'acide aminé en amont du site de clivage de la protéine.¹⁶⁰⁻¹⁶⁴ Il a été suggéré que la présence d'une valine au sein de la protéine altère sa conformation tridimensionnelle (hélice- β au lieu d'une hélice- α en présence d'une alanine) menant à la

chute du transport transmembranaire de l'enzyme et donc, à une perte de 30 à 40 % de son activité.^{155,160,161,165} Chez les Caucasiens, les proportions alléliques C/T sont de 0.44-0.53 / 0.47-0.56^{161,166} alors que chez les Japonais elles seraient de 0.12 / 0.88.¹⁵⁵

Ainsi, chacune des enzymes retenues est largement impliquée dans le métabolisme des substances toxiques endogènes et exogènes et leur dysfonctionnement occuperait donc un rôle primordial dans le développement du stress oxydatif. La plupart des dix (10) polymorphismes à l'étude ont, pour leur part, une influence fonctionnelle majeure sur la protéine concernée ; ces modifications pourraient donc modifier favorablement ou défavorablement le risque des patientes de développer ou non une HG avec ou sans PE ou encore d'autres atteintes telles les MCV ou différents cancers où est également impliqué de plus en plus le stress oxydatif. Nos travaux de maîtrise visent tout particulièrement à établir s'il existe ou non un tel lien avec l'HG et la PE.

Tableau 1 : Présentation des différents polymorphismes étudiés

Gènes	Polymorphisme à l'étude	Changement d'acide aminé	Fréquence de l'allèle rare chez les Caucasiens	Impact de l'allèle rare sur l'activité enzymatique
<i>GSTp</i>	A ³¹³ G	Ile105Val	30% ⁹⁵	baisse ^{92,96} ou hausse ¹⁰²
<i>GSTp</i>	C ³⁴¹ T	Ala114Val	9% ⁸³	baisse ⁹²
<i>GSTm</i>	délétion	---	40-50% ¹⁰⁷	aucune activité
<i>GSTt</i>	délétion	---	15-20% ¹⁰⁷	aucune activité
<i>CYP1A1</i>	A ⁴⁸⁸⁹ G	Ile462Val	1,1-4,9% ¹⁰⁷	hausse ¹²⁴
<i>EPXH</i>	A ⁶¹² G	Tyr113His	30-40% ¹²⁸	baisse ^{128,131}
<i>EPXH</i>	C ¹³⁹ T	His139Arg	12-24% ¹²⁸	hausse ¹³¹
<i>eNOS</i>	G ⁸⁹⁴ T	Glu298Asp	34,5% ¹⁴⁷	activité inchangée ^{146,167,168}
<i>CAT</i>	C ⁸⁴⁴ T	région non codante	31,6% (Japonais) ¹⁵²	indéterminé
<i>MnSOD</i>	T ⁴⁷ C	Ala16Val	44-53% ^{161,166}	baisse ^{155,160,161,165}

Chapitre 8- Méthodologie et matériel

1.8.1- Mise au point et optimisation de chacun des marqueurs

1.8.1.1- Recherche des séquences d'ADN et développement des amorces

La première étape de ce travail consistait en la recherche sur le génome humain de chacun des polymorphismes à l'étude ainsi que des séquences qui leur sont contiguës. Pour cela, nous avons consulté le site Internet du *National Center for Biotechnology Information* (NCBI) sur lequel il est possible de retrouver la séquence génétique de l'être humain. Connaissant la série complète des paires de bases formant les gènes à l'étude ainsi que la localisation des mutations ponctuelles ou des délétions recherchées, nous avons pu procéder au développement des amorces nécessaires aux réactions de PCR pour les délétions et d'ASO-PCR pour les mutations ponctuelles au moyen des logiciels informatiques Oligo 4-S et Primer 5'. Dans chacun des cas, neuf des dix mutations ponctuelles surviennent dans la partie codante du gène en question.

1.8.1.2- Techniques de travail employées

Dans le cadre de ce projet de maîtrise, nous poursuivions, entre autres, l'objectif de nous familiariser davantage avec les techniques d'analyse génétique des populations : la PCR (*polymerase chain reaction*). Nous ne donnerons ici que quelques précisions quant à cette méthode d'analyse employée et nous aborderons aussi l'une de ses variantes : l'ASO-PCR.

A- Description de la méthode PCR

La technique de PCR fut découverte en 1985 et présente de nos jours de multiples applications tant dans le milieu médical (microbiologie clinique, diagnostic prénatal, identification criminelle) qu'en recherche biomédicale. La PCR permet d'amplifier rapidement une portion précise d'ADN sur un chromosome en ciblant précisément un locus particulier.³⁶ Pour cela, nous mettons au point deux amorces d'ADN complémentaires à la séquence du chromosome que nous désirons amplifier, puis nous les faisons réagir en présence d'une enzyme, la Taq polymérase, de dNTP et d'ADN préalablement extrait de leucocytes des sujets de l'étude. La réaction PCR se déroule dans un incubateur

Thermocycler selon une séquence de cycles au cours desquels la température varie suivant le modèle : dénaturation ($\sim 95^{\circ}\text{C}$) – appariement ($\sim 50\text{-}60^{\circ}\text{C}$) – élongation ($\sim 72^{\circ}\text{C}$) qui se répètent une trentaine de fois. L'interprétation des amplicons (fragments amplifiés) se fait par électrophorèse sur gel d'agarose (1 à 2,5%). C'est cette méthode qui fut employée pour l'analyse des polymorphismes de délétion des gènes codant pour les protéines GST μ et GST τ .

B- Description de l'ASO-PCR

Dans l'ASO-PCR, deux réactions (i.e une pour chaque allèle) sont effectuées en même temps : dans chacune d'elles, nous utilisons une amorce commune alors que l'autre amorce employée diffère légèrement d'une réaction à l'autre, car l'une est spécifique à la séquence nucléotidique fréquente alors que l'autre l'est pour l'allèle rare. Ainsi, deux réactions PCR sont réalisées pour chaque individu : s'il y a amplification dans chacune d'elles, cela signifie que ce dernier est porteur des deux allèles alors que si nous n'obtenons un signal que dans une seule réaction, nous pouvons conclure que cette personne est homozygote pour l'allèle en question. Ce modèle est illustré en appendice à la fin du présent ouvrage. Nous avons utilisé l'ASO-PCR pour analyser les mutations ponctuelles sur tous les autres allèles à l'étude hormis GST μ et GST τ .

C- Réactifs et ADN

Par ailleurs, chacun des réactifs nécessaires aux réactions PCR (Taq polymérase, tampon 10 X, solution Q, solutions de MgCl₂ et les dNTPs) furent tous achetés de la compagnie Qiagen. Pour ce qui est de l'ADN utilisé, nous avons travaillé avec deux groupes distincts : le premier avait été extrait des leucocytes d'échantillons sanguins anonymes fournis par les laboratoires d'hématologie de l'hôpital et nous servait à mettre au point nos réactions PCR et estimer les fréquences relatives de chacun des allèles d'un polymorphisme donné ; le second avait été extrait des leucocytes de patientes avec antécédents d'HG / PE et issues de la cohorte à l'étude. Concernant notre étude cas témoins, notons que nous disposons d'un échantillon de 168 cas et de 168 témoins pour lesquels des informations cliniques et biologiques pertinentes ont été collectées et desquels l'ADN a pu être extrait et analysé.

1.8.2- Génotypage de la cohorte et analyses statistiques

1.8.2.1- Démarche expérimentale

Nous suivions toujours une même démarche quel que soit le polymorphisme à l'étude. Nous commençons d'abord par le développement des amorces nécessaires à l'amplification de chacune des variations alléliques, puis nous déterminions leur température optimale d'appariement dans un deuxième temps ; finalement, nous procédions à l'optimisation du rendement de nos réactions PCR en modifiant les concentrations des différents réactifs cités plus haut.

Tel que nous le mentionnions précédemment, nous commençons toujours par établir les conditions de température optimales d'appariement d'une série d'amorces pour l'ASO-PCR, c'est-à-dire la température d'amplification la plus élevée sans diminution appréciable du rendement. Pour ce faire, nous procédions par gradient de températures (intervalles de 6-8°C) en nous inspirant des valeurs calculées par le logiciel informatique *Primer 5'* selon les pourcentages de liens AT et GC.

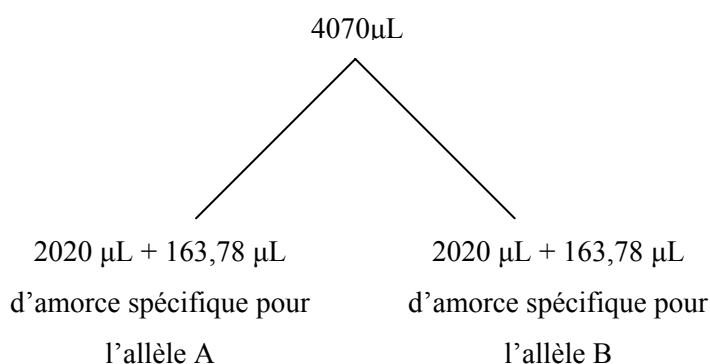
Sur ce, une fois la température optimale d'amplification trouvée, nous pouvions alors déterminer le génotype des 96 individus de la plaque test puisque celle-ci nous permettait d'évaluer les fréquences de chacun des allèles en plus de nous permettre d'apprécier les rendements de nos amplifications.

A- Exemple d'un protocole de réaction d'ASO-PCR

Le tableau qui suit illustre le protocole suivi pour analyser le génotype de chacune des patientes, leur ADN étant regroupé sur des plaques de 96 puits. Nous procédions dans un premier temps à l'addition des différents réactifs selon les concentrations illustrées ci-dessous. Puis la deuxième étape consistait en la séparation de cette solution de départ en deux quantités identiques auxquelles nous ajoutions les amorces spécifiques pour l'allèle normal ainsi que pour celui muté.

Tableau 2 : Tableau illustrant un protocole type de réaction PCR

Réactifs	Concentration initiale	Quantité pour une réaction PCR	Concentration finale	Volume pour 220 réactions
10X buffer	10 X	2.5 µl	1 X	550 µL
5X Solution Q	5 X	5.0 µL	1 X	1100 µL
dNTPs	2.5 mM	2.0 µL	200 µM	440 µL
Amorce commune	8.33 µM	1.5 µL	0.5 µM (12.5 pmol)	330 µL
H ₂ O	-	7.42 µL	-	1632 µL
Taq	5 U/µL	0.08 µL	0.04 U	17.6 µL
Total	-	18.5 µL	-	4070 µL



Par la suite, nous aliquotons 20 µL de ces solutions dans chacun des micro tubes de deux plaques PCR (la moitié de chacune des deux plaques pour l'allèle A et l'autre pour l'allèle B) et nous ajoutons finalement 5 µl d'ADN par puits pour un total de 25 µL par réaction PCR. Notons que nous avons pu utiliser ce prototype pour chacun des marqueurs présentant en guise de polymorphisme une mutation ponctuelle, mais que nous n'avons pas besoin d'amplifier deux allèles dans le cas de GST τ et GST μ étant donné qu'il s'agissait de polymorphismes de délétion.

1.8.2.2- *Équilibre de Hardy-Weinberg*

À ce stade, force nous est de revenir sur un concept ignoré jusqu'ici dans ce travail et rencontré fréquemment dans l'analyse de données génétiques : l'équilibre de Hardy-Weinberg (HW), une loi mathématique et statistique appliquée dans le contexte génétique d'une mutation ponctuelle. Il convient donc de définir cet équilibre avant d'entreprendre la présentation et la discussion de nos données.

Dans une population en équilibre de HW, il est possible de prédire les fréquences espérées des différents génotypes à partir des seules fréquences alléliques. Mentionnons au passage que la fréquence allélique est établie en comptabilisant 1 allèle A pour les individus hétérozygotes (génotype Aa) et 2 allèles pour ceux homozygotes (génotype AA) que nous divisons par le nombre total d'allèles étudiés (2 par individu soit 10 allèles au total dans une étude comptant 5 individus par exemple). L'équilibre qui existe entre les fréquences génotypiques observées et les fréquences attendues dans une population avec un système à 1 locus et 2 allèles A et a, possédant respectivement des fréquences p et $q = 1-p$, permet de dire que : les fréquences génotypiques attendues dans une population dite en équilibre de HW sont données par :

$$\begin{array}{ccc} \text{AA} & \text{Aa} & \text{aa} \\ p^2 & 2pq & q^2 \end{array}$$

Ainsi, tous nos résultats présentés dans les tableaux de contingence de la section suivante sont en équilibre de HW ce qui, en clair, nous confirme que les valeurs obtenues respectent cette loi mathématique et qu'elles n'étaient pas, par conséquent, entachées d'une erreur d'interprétation suite à la réaction PCR ou encore d'une mauvaise transcription dans le logiciel informatique d'analyse.

1.8.2.3- *Analyses statistiques*

Dans le cadre de cette étude exploratoire où les associations devront être validées, la valeur $p < 0,05$ après correction de Yates est considérée comme étant significative alors qu'une valeur $0,05 < p < 0,1$ marque une tendance. Par ailleurs, en ce qui concerne l'analyse statistique des variables quantitatives, nous avons procédé grâce à la comparaison des moyennes +/- écart type et leur avons fait subir un test de Student. Pour ce qui est des variables catégorielles étudiées, le test de chi carré (χ^2) ou le test exact de Fisher ont été employés lorsque approprié.

Qui plus est, nous avons appliqué un test de proportions afin d'exprimer le risque d'HG/PE associé à chaque polymorphisme étudié [rapport de cote (RC) avec intervalle de confiance à 95% (IC 95)]. Chacune des associations a été testée par comparaison à la fois pour le génotype et pour la fréquence allélique dans les deux groupes. Pour les calculs statistiques,

la référence 1,00 a été arbitrairement attribuée aux patientes porteuses du génotype et de l'allèle fréquents.

Finalement, sachant que la prévalence de la plupart des polymorphismes à l'étude se situe au-delà de 15% pour l'allèle rare et considérant une puissance de 80% (1-bêta) ainsi qu'une erreur $\alpha < 0,05$, nous serons en mesure de détecter une association statistiquement significative (effet délétère / protecteur) si le RC = 2,14 / 0,35 dans le groupe d'HG et de PE combinées (168 cas et 168 témoins) et RC = 2,54 / 0,25 ou 3,19 / 0,13 pour les sous-groupes d'HG et de PE pris séparément. Lorsque la prévalence du polymorphisme est supérieure à 0,15, la puissance de l'étude augmente (*e.g.* pour une fréquence de 40% de l'allèle rare et en conservant une erreur α et β similaires, RC = 1,85 / 0,52 pour le groupe HG et PE combinées).

PARTIE 2- RÉSULTATS

Chaque progrès donne un nouvel espoir, suspendu à la solution d'une nouvelle difficulté. Le dossier n'est jamais clos.

Claude Lévi-Strauss

Dans cette partie du mémoire, nous porterons notre attention sur les résultats obtenus lors du génotypage de notre cohorte cas témoins et sur les analyses statistiques qui ont suivi. Nous présenterons, dans un premier temps, les données pour chacun des polymorphismes pris isolément avec leur impact sur le risque d'HG avec ou sans PE ; des tableaux reprenant le texte faciliteront la lecture de cette section. En second lieu, nous verrons l'implication des combinaisons d'allèles indépendants sur le risque de la maladie. La discussion des ces résultats suivra dans une autre section du travail. Avant tout cependant, le tableau qui suit résume les principales caractéristiques de la population à l'étude.

Tableau 3 : Caractéristiques des deux groupes à l'étude

Variables	Contrôles (n=168)	Cas* (n=168)	Valeur p^1
² Tension artérielle (mmHG)			
Systolique			
9 ^e – 12 ^e semaine	113,2 ± 8,2	119,8 ± 9,9	< 0,0001
14 ^e – 18 ^e	112,7 ± 8,4	118,8 ± 11,0	< 0,0001
26 ^e – 28 ^e	115,0 ± 8,0	121,6 ± 9,3	< 0,0001
Diastolique			
9 ^e – 12 ^e semaine	64,9 ± 6,7	66,9 ± 9,3	0,1
14 ^e – 18 ^e	61,9 ± 7,3	65,4 ± 7,9	0,002
26 ^e – 28 ^e	64,5 ± 7,6	67,3 ± 9,0	0,03
² Âge à l'accouchement	27 ± 4	27 ± 4	0,9
² Semaines de gestation	39,3 ± 2,1	38,8 ± 2,3	0,05
³ Histoire familiale de PE	7,1	10,0	0,3
³ Histoire familiale d'HTA	31,4	50,3	0,0004

* Parmi les cas, on comptait 105 patientes avec HG et 63 avec PE

¹ variables quantitatives : test de Student ; variables catégorielles : test de χ^2

² variable exprimée par sa moyenne +/- écart type

³ variable exprimée par le pourcentage

2.1.1- GST π A³¹³G

Tout d'abord, rappelons que la fréquence théorique de l'allèle G correspondant à l'acide aminé valine au sein de la population caucasienne est évaluée à environ 30%.⁹⁵ Pour notre part, nous avons obtenu une fréquence pour cet allèle de 37,1% et ce, suivant le génotype des 336 patientes de la cohorte cas témoins. Dans l'ensemble cas témoins, l'équilibre de HW est respecté ($p=0,07$). Également, afin de nous assurer de la validité des résultats, les génotypes obtenus par ASO-PCR ont été validés par PCR suivi d'une digestion spécifique par *BsmA1*.

Pratiquement, nous avons pu observer une forte association entre ce polymorphisme et le risque d'HG avec ou sans protéinurie : les individus homozygotes pour l'allèle rare GG³¹³ (Val105Val) présentant un risque nettement plus bas d'HG et de PE que leurs témoins homozygotes AA (Ile105Ile) et ce, avec des rapports de cote significativement abaissés pour un seuil de signification fixé à 0,05 : RC = 0,42 ; IC 95% [0,22-0,80] avec $p= 0,01$ après correction de Yates. (*cf.* tableau 4)

Également, lorsque les groupes HG et PE sont séparés en sous-groupes de 105 (HG) et 63 (PE) cas, des résultats similaires persistent avec un risque de 0,43 IC 95% [0,20-0,94] et de 0,39 IC 95% [0,16-0,97] de développer respectivement, une HG simple ou une PE. (*cf.* tableaux 5 et 6)

Les tableaux de contingence qui suivent présentent les analyses statistiques pour le polymorphisme du gène *glutathion S-transférase pi* et ce, pour tous les génotypes dans chacun des trois sous-groupes que nous pouvons extraire de notre cohorte : tous les cas (HG + PE), cas de HG ou cas de PE pris isolément versus leurs témoins. Les tableaux présentent également la distribution de chacun des deux allèles entre les cas et les témoins.

Tableau 4 : Risque combiné d'HG et de PE pour $GST\pi A^{313}G$

Représentation des génotypes sur $GST\pi A^{313}G$ et le risque combiné d'HG et de PE suivie de la distribution des deux allèles chez les témoins par rapport aux cas

	Témoins	Cas	Total	RC [IC 95%]	
Génotypes					
AA	64	77	141	1,00	Correction de Yates $\chi^2 = 0,13$ $p = 0,72$ $\chi^2 = 6,25$ $p = 0,01$ df = 1
AG	68	73	141	0,89 [0,56-1,42]	
GG	36	18	54	0,42 [0,22-0,80]	
Total	168	168	336		
Fréquence allélique (%)					
Allèles	Témoins	Cas		RC [IC 95%]	Correction de Yates $\chi^2 = 5,74$ $p = 0,01$
A	58,3	67,6		1,00	
G	41,7	32,4		0,67 [0,49-0,92]	

Tableau 5 : Risque d'HG pour $GST\pi A^{313}G$

Représentation des génotypes sur $GST\pi A^{313}G$ et le risque d'HG suivie de la distribution des deux allèles chez les témoins par rapport aux cas

	Témoins	Cas HG	Total	RC [IC 95%]	
Génotypes					
AA	64	45	109	1,00	Correction de Yates $\chi^2 = 0,00$ $p = 0,96$ $\chi^2 = 3,82$ $p = 0,05$ df = 1
AG	68	49	117	1,02 [0,60-1,74]	
GG	36	11	47	0,43 [0,20-0,94]	
Total	168	105	273		
Fréquence allélique (%)					
Allèles	Témoins	Cas HG		RC [IC 95%]	Correction de Yates $\chi^2 = 3,04$ $p = 0,08$
A	58,3	66,2		1,00	
G	41,7	33,8		0,72 [0,50-1,02]	

Tableau 6 : Risque de PE pour $GST\pi A^{313}G$

Représentation des génotypes sur $GST\pi A^{313}G$ et le risque de PE suivie de la distribution des deux allèles chez les témoins par rapport aux cas

	Témoins	Cas PE	Total	RC [IC 95%]
Génotypes				
AA	64	32	96	1,00
AG	68	24	92	0,71 [0,38-1,33]
GG	36	7	43	0,39 [0,16-0,97]
Total	168	63	231	

Correction de Yates
 $\chi^2 = 0,86$ $p = 0,35$
 $\chi^2 = 3,48$ $p = 0,06$
df = 1

Fréquence allélique (%)				
Allèles	Témoins	Cas PE		RC [IC 95%]
A	58,3	69,8		1,00
G	41,7	30,2		0,60 [0,39-0,94]

Correction de Yates
 $\chi^2 = 4,65$ $p = 0,03$

Nos résultats soulignent donc une distribution prépondérante de l'allèle G parmi les témoins ($p = 0,01$ après correction de Yates dans le groupe HG et PE combinées) tout en démontrant que le fait de porter deux allèles mutés au lieu d'un seul confère un effet protecteur significatif : les homozygotes GG^{313} ont un risque moindre statistiquement significatif d'HG/PE ainsi que d'HG que les hétérozygotes (AG^{313}) selon notre étude après correction de Yates, suggérant ainsi un effet dose de l'allèle.

2.1.2- $GST\pi C^{341}T$

Une fois encore, commençons par souligner que nous retrouvons en théorie une thymine en position 341 (T^{341}) du gène codant pour $GST\pi$ chez environ 9% de la population caucasienne⁸³. Selon les tableaux présentés ci-après, nous avons trouvé pour notre part une fréquence sensiblement égale pour cet allèle muté de 8,6% et ce, chez 330 patientes cas et témoins génotypées. Les résultats de génotypage obtenus sont en équilibre de HW ($p = 0,707$).

Somme toute, en nous référant aux tableaux 7 à 9, les analyses statistiques de nos données ne nous permettent pas de mettre en évidence de différence du risque d'HG avec ou sans protéinurie pour les porteuses de la mutation 341Val (RC=1,22 IC 95% [0,67-2,22]) dans le cas des hétérozygotes. Les tableaux qui suivent montrent la distribution des génotypes

ainsi que des allèles et les analyses statistiques pour les témoins et les cas de chacun de nos sous-groupes de patientes.

Tableau 7 : Risque combiné d'HG et de PE pour $GST\pi C^{341}T$

Représentation des génotypes sur $GST\pi C^{341}T$ et le risque combiné d'HG et de PE suivie de la distribution des deux allèles chez les témoins par rapport aux cas				
	Témoins	Cas	Total	RC [IC 95%]
Génotypes				
CC	138	138	276	1,00
CT	23	28	51	1,22 [0,67-2,22]
TT	2	1	3	0,50 [0,04-5,58]
Total	163	167	330	
Fréquence allélique (%)				
Allèles	Témoins	Cas	RC [IC 95%]	
C	0,92	0,91	1,00	
T	0,08	0,09	1,09 [0,63-1,88]	

Correction de Yates
 $\chi^2 = 0,24$ $p = 0,62$
 $\chi^2 = 0,00$ $p = 0,99$
df = 1

Correction de Yates
 $\chi^2 = 0,03$ $p = 0,86$

Tableau 8 : Risque d'HG pour $GST\pi C^{341}T$

Représentation des génotypes sur $GST\pi C^{341}T$ et le risque d'HG suivie de la distribution des deux allèles chez les témoins par rapport aux cas				
	Témoins	Cas HG	Total	RC [IC 95%]
Génotypes				
CC	138	83	221	1,00
CT	23	21	44	1,52 [0,79-2,91]
TT	2	1	3	0,83 [0,07-9,31]
Total	163	105	268	
Fréquence allélique				
Allèles	Témoins	Cas HG	RC [IC 95%]	
C	0,92	0,89	1,00	
T	0,08	0,11	1,36 [0,76-2,45]	

Correction de Yates
 $\chi^2 = 1,19$ $p = 0,27$
 $\chi^2 = 0,20$ $p = 0,65$
df = 1

Correction de Yates
 $\chi^2 = 0,78$ $p = 0,37$

Tableau 9 : Risque de PE pour $GST\pi C^{341}T$

Représentation des génotypes sur $GST\pi C^{341}T$ et le risque de PE suivie de la distribution des deux allèles chez les témoins par rapport aux cas

	Témoins	Cas PE	Total	RC [IC 95%]	
Génotypes					
CC	138	55	193	1,00	<div style="border: 1px solid black; padding: 5px;"> Correction de Yates $\chi^2 = 0,14$ $p = 0,71$ $\chi^2 = \text{-----}$ $p = \text{-----}$ df = 1 </div>
CT	23	7	30	0,76 [0,31-1,88]	
TT	2	0	2	-----	
Total	163	62	225		
Fréquence allélique					
Allèles	Témoins	Cas PE		RC [IC 95%]	
C	0,92	0,94		1,00	<div style="border: 1px solid black; padding: 5px;"> Correction de Yates $\chi^2 = 0,56$ $p = 0,46$ </div>
T	0,08	0,06		0,66 [0,28-1,56]	

Finalement, la combinaison des deux polymorphismes étudiés sur le gène $GST\pi$ n'aurait pas d'impact significatif sur le risque d'HG avec ou sans protéinurie selon l'analyse de nos résultats (non illustré).

2.1.3- $GST\mu$ délétion

Les individus ne présentant aucune activité spécifique de la protéine $GSTM1$ représenteraient 58,4% de la population canadienne française en regard de nos résultats. Cette valeur est un tant soit peu plus élevée que la moyenne rapportée chez les Caucasiens qui s'étend généralement de 40 à 50% de la population dans la littérature.¹⁰⁷ Néanmoins, les résultats obtenus respectent l'équilibre de HW ($p = 0,74$). Comme dans le cas de $GST\pi A^{313}G$, nous pouvons observer des $RC < 1,0$ associés à la délétion, mais sans pour autant cette fois-ci être significatifs lorsque testés dans l'ensemble de notre cohorte. Toutefois, en vérifiant la prévalence des homozygotes délétés dans le sous-groupe de patientes avec PE, nous observons que celles-ci ont un RC de 0,26 par rapport aux témoins non-délétés, avec un intervalle de confiance à 95% de [0,07-0,91].

Tableau 10 : Risque combiné d'HG et de PE pour $GST\mu^{del}$

Représentation des génotypes sur $GST\mu^{del}$ et le risque combiné d'HG et de PE suivie de la distribution des deux allèles chez les témoins par rapport aux cas

	Témoins	Cas	Total	RC [IC 95%]	
Génotypes					
+/+	5	12	17	1,00	Correction de Yates $\chi^2 = 1,38$ $p = 0,24$ $\chi^2 = 2,49$ $p = 0,11$ $df = 1$
+/-	58	63	121	0,45 [0,15-1,36]	
-/-	102	92	194	0,38 [0,13-1,11]	
Total	165	167	332		
Fréquence allélique					
Allèles	Témoins	Cas		RC [IC 95%]	
+	0,21	0,26		1,00	Correction de Yates $\chi^2 = 2,45$ $p = 0,12$
-	0,79	0,74		0,74 [0,51-1,06]	

Tableau 11 : Risque d'HG pour $GST\mu^{del}$

Représentation des génotypes sur $GST\mu^{del}$ et le risque d'HG suivie de la distribution des deux allèles chez les témoins par rapport aux cas

	Témoins	Cas HG	Total	RC [IC 95%]	
Génotypes					
+/+	5	6	11	1,00	Correction de Yates $\chi^2 = 0,40$ $p = 0,52$ $\chi^2 = 0,70$ $p = 0,40$ $df = 1$
+/-	58	38	96	0,55 [0,16-1,92]	
-/-	102	60	162	0,49 [0,14-1,68]	
Total	165	104	269		
Fréquence allélique					
Allèles	Témoins	Cas HG		RC [IC 95%]	
+	0,21	0,24		1,00	Correction de Yates $\chi^2 = 1,15$ $p = 0,28$
-	0,79	0,76		0,78 [0,51-1,18]	

Tableau 12 : Risque de PE pour $GST\mu^{del}$

Représentation des génotypes sur $GST\mu^{del}$ et le risque de PE suivie de la distribution des deux allèles chez les témoins par rapport aux cas

	Témoins	Cas PE	Total	RC [IC 95%]
Génotypes				
+/+	5	6	11	1,00
+/-	58	25	83	0,36 [0,10-1,29]
-/-	102	32	134	0,26 [0,07-0,91]
Total	165	63	228	

Correction de Yates
 $\chi^2 = 1,63$ **p = 0,20**
 $\chi^2 = 3,48$ **p = 0,06**
df = 1

Fréquence allélique				
Allèles	Témoins	Cas PE	RC [IC 95%]	
+	0,21	0,29	1,00	
-	0,79	0,71	0,62 [0,39-1,00]	

Correction de Yates
 $\chi^2 = 3,47$ **p = 0,06**

2.1.4- GST τ délétion

Dans le cas du polymorphisme de délétion retrouvé sur GST τ , 18,3% des patientes génotypées présentaient deux allèles a fonctionnels du gène. Ainsi, nous pouvons d'abord conclure que la fréquence des homozygotes délétés pour GSTT1 au sein de la population canadienne française est similaire à celle rapportée dans la littérature pour les Caucasiens (15-20%)¹⁰⁷. Étant donné que la technique PCR utilisée ne nous permettait pas de distinguer les hétérozygotes, il va de soit que pour ce polymorphisme, l'équilibre de HW n'a pu être testé.

Après analyse de nos données, nous obtenons un rapport de cote montrant que les patientes dont l'activité GST τ est nulle auraient un risque augmenté à environ 1,5 fois de développer respectivement une HG et/ou une PE. Bien que nous puissions croire à une légère hausse du risque de PE chez les sujets délétés, il faut dire que ces résultats sont une fois de plus statistiquement non significatifs.

Tableau 13 : Risque combiné d'HG et de PE pour $GST\tau^{del}$

Représentation des génotypes sur $GST\tau^{del}$ et le risque combiné d'HG et de PE suivie de la distribution des deux allèles chez les témoins par rapport aux cas

	Témoins	Cas	Total	RC [IC 95%]	
Génotypes					
+/+	142	131	273	1,00	Correction de Yates $\chi^2 = 1,40$ p = 0,23 df = 1
-/-	26	35	61	1,46 [0,83-2,56]	
Total	168	166	334		

Fréquence allélique

Allèles	Témoins	Cas	RC [IC 95%]	
+	0,84	0,79	1,00	Correction de Yates $\chi^2 = 3,15$ p = 0,07
-	0,16	0,21	1,46 [0,98-2,17]	

Tableau 14 : Risque d'HG pour $GST\tau^{del}$

Représentation des génotypes sur $GST\tau^{del}$ et le risque d'HG suivie de la distribution des deux allèles chez les témoins par rapport aux cas

	Témoins	Cas HG	Total	RC [IC 95%]	
Génotypes					
+/+	142	83	225	1,00	Correction de Yates $\chi^2 = 0,99$ p = 0,32 df = 1
-/-	26	22	48	1,45 [0,77-2,72]	
Total	168	105	273		

Fréquence allélique

Allèles	Témoins	Cas HG	RC [IC 95%]	
+	0,84	0,79	1,00	Correction de Yates $\chi^2 = 2,31$ p = 0,12
-	0,16	0,21	1,45 [0,93-2,26]	

Tableau 15 : Risque de PE pour $GST\tau^{del}$

Représentation des génotypes sur $GST\tau^{del}$ et le risque t de PE suivie de la distribution des deux allèles chez les témoins par rapport aux cas

	Témoins	Cas PE	Total	RC [IC 95%]	
Génotypes					
+/+	142	48	190	1,00	<div style="border: 1px solid black; padding: 5px;"> Correction de Yates $\chi^2 = 0,70$ $p = 0,40$ df = 1 </div>
-/-	26	13	39	1,48 [0,70-3,11]	
Total	168	61	229		
Fréquence allélique					
Allèles	Témoins	Cas PE		RC [IC 95%]	
+	0,84	0,79		1,00	<div style="border: 1px solid black; padding: 5px;"> Correction de Yates $\chi^2 = 1,76$ $p = 0,18$ </div>
-	0,16	0,21		1,48 [0,88-2,50]	

2.1.5- CYP1A1 A⁴⁸⁸⁹G

Dans un même ordre d'idées, nous savions au départ qu'en moyenne, environ 8% de la population présente une mutation ponctuelle où une guanine plutôt qu'une adénine se retrouve en position 4889 du gène codant pour le cytochrome P450 1A1. Toutefois, pour ce qui est de la présence de cet allèle au sein de la cohorte de 332 patientes génotypées, nous obtenons une fréquence de 4,4%, ce qui est la moitié moins que le nombre attendu et nous n'avons obtenu aucun individu homozygote GG pour ce polymorphisme. Nonobstant cette divergence, nos résultats sont en accord avec la loi de HW.

Une fois de plus, nous n'avons pas obtenu d'association mais une tendance pourrait se dessiner : les cas porteurs d'au moins un allèle G auraient un risque diminué de PE par rapport aux témoins eu égard au RC de 0,57, mais l'intervalle de confiance s'étend en recoupant la valeur de non association allant de [0,26-1,24] ; cette valeur n'est donc pas statistiquement significative.

Tableau 16 : Risque combiné d'HG et de PE pour *CYP1A1 A⁴⁸⁸⁹G*

Représentation des génotypes sur *CYP1A1 A⁴⁸⁸⁹G* et le risque combiné d'HG et de PE suivie de la distribution des deux allèles chez les témoins par rapport aux cas

	Témoins	Cas	Total	RC [IC 95%]	
Génotypes					
AA	146	157	303	1,00	Correction de Yates $\chi^2 = 1,52$ p = 0,21 $\chi^2 = \text{-----}$ p = \text{-----} df = 1
AG	18	11	29	0,57 [0,26-1,24]	
GG	0	0	0	-----	
Total	164	168	332		
Fréquence allélique					
Allèles	Témoins	Cas		RC [IC 95%]	
A	0,95	0,97		1,00	Correction de Yates $\chi^2 = 1,45$ p = 0,23
G	0,05	0,03		0,58 [0,27-1,25]	

Tableau 17 : Risque d'HG pour *CYP1A1 A⁴⁸⁸⁹G*

Représentation des génotypes sur *CYP1A1 A⁴⁸⁸⁹G* et le risque d'HG suivie de la distribution des deux allèles chez les témoins par rapport aux cas

	Témoins	Cas HG	Total	RC [IC 95%]	
Génotypes					
AA	146	99	245	1,00	Correction de Yates $\chi^2 = 1,58$ p = 0,21 $\chi^2 = \text{-----}$ p = \text{-----} df = 1
AG	18	6	24	0,49 [0,19-1,28]	
GG	0	0	0	-----	
Total	164	105	269		
Fréquence allélique					
Allèles	Témoins	Cas HG		RC [IC 95%]	
A	0,95	0,97		1,00	Correction de Yates $\chi^2 = 1,51$ p = 0,21
G	0,05	0,03		0,51 [0,20-1,30]	

Tableau 18 : Risque de PE pour *CYP1A1 A⁴⁸⁸⁹G*

Représentation des génotypes sur *CYP1A1 A⁴⁸⁸⁹G* et le risque de PE suivie de la distribution des deux allèles chez les témoins par rapport aux cas

	Témoins	Cas PE	Total	RC [IC 95%]									
Génotypes													
AA	146	58	204	1,00	<table border="1"> <tr> <td colspan="2">Correction de Yates</td> </tr> <tr> <td>$\chi^2 = 0,19$</td> <td>p = 0,66</td> </tr> <tr> <td>$\chi^2 = \text{-----}$</td> <td>p = \text{-----}</td> </tr> <tr> <td colspan="2">df = 1</td> </tr> </table>	Correction de Yates		$\chi^2 = 0,19$	p = 0,66	$\chi^2 = \text{-----}$	p = \text{-----}	df = 1	
Correction de Yates													
$\chi^2 = 0,19$	p = 0,66												
$\chi^2 = \text{-----}$	p = \text{-----}												
df = 1													
AG	18	5	23	0,70 [0,25-1,97]									
GG	0	0	0	-----									
Total	164	63	227										
Fréquence allélique													
Allèles	Témoins	Cas PE		RC [IC 95%]									
A	0,95	0,96		1,00	<table border="1"> <tr> <td colspan="2">Correction de Yates</td> </tr> <tr> <td>$\chi^2 = 0,18$</td> <td>p = 0,67</td> </tr> </table>	Correction de Yates		$\chi^2 = 0,18$	p = 0,67				
Correction de Yates													
$\chi^2 = 0,18$	p = 0,67												
G	0,05	0,04		0,71 [0,26-1,96]									

2.1.6- EPXH A⁶¹²G

Dans la même optique, après avoir dûment complété la mise au point PCR de cet autre marqueur, nous avons une fois de plus procédé au génotypage de la cohorte de sujets avec antécédents d'HG et nous avons obtenu une fréquence pour l'allèle rare (G) de 28,4% au sein de la population à l'étude alors qu'en théorie, cette fréquence avoisine les 36% chez les Caucasiens selon les données publiées dans d'autres travaux de recherche¹⁰¹.

Si l'on se fie aux valeurs colligées lors de notre étude pour ce polymorphisme, une perte d'activité de l'enzyme époxyde hydrolase chez les porteurs homozygotes de l'allèle G pourrait leur conférer un risque accru d'HG allant de 1,50 à 2,50 fois celui des homozygotes AA selon les tests effectués. Ici encore malheureusement, nous n'obtenons pas de résultats statistiquement significatifs pour cette mutation ponctuelle.

Tableau 19 : Risque combiné d'HG et de PE pour *EPXH A⁶¹²G*

Représentation des génotypes sur *EPXH A⁶¹²G* et le risque combiné d'HG et de PE suivie de la distribution des deux allèles chez les témoins par rapport aux cas

	Témoins	Cas	Total	RC [IC 95%]	
Génotypes					
AA	88	78	166	1,00	Correction de Yates $\chi^2 = 0,70$ $p = 0,40$ $\chi^2 = 0,42$ $p = 0,51$ $df = 1$
AG	71	78	149	1,24 [0,80-1,93]	
GG	9	12	21	1,50 [0,60-3,76]	
Total	168	168	336		
Fréquence allélique					
Allèles	Témoins	Cas		RC [IC 95%]	
A	0,74	0,70		1,00	Correction de Yates $\chi^2 = 1,05$ $p = 0,30$
G	0,26	0,30		1,21 [0,86-1,69]	

Tableau 20 : Risque d'HG pour *EPXH A⁶¹²G*

Représentation des génotypes sur *EPXH A⁶¹²G* et le risque d'HG suivie de la distribution des deux allèles chez les témoins par rapport aux cas

	Témoins	Cas HG	Total	RC [IC 95%]	
Génotypes					
AA	88	53	141	1,00	Correction de Yates $\chi^2 = 0,01$ $p = 0,91$ $\chi^2 = 0,58$ $p = 0,45$ $df = 1$
AG	71	43	114	1,01 [0,60-1,67]	
GG	9	9	18	1,66 [0,62-4,45]	
Total	168	105	273		
Fréquence allélique					
Allèles	Témoins	Cas HG		RC [IC 95%]	
A	0,74	0,71		1,00	Correction de Yates $\chi^2 = 0,31$ $p = 0,58$
G	0,26	0,29		1,14 [0,77-1,67]	

Tableau 21 : Risque de PE pour *EPXH A⁶¹²G*

Représentation des génotypes sur *EPXH A⁶¹²G* et le risque de PE suivie de la distribution des deux allèles chez les témoins par rapport aux cas

	Témoins	Cas PE	Total	RC [IC 95%]									
Génotypes													
AA	88	25	113	1,00	<table border="1"> <tr> <td colspan="2">Correction de Yates</td> </tr> <tr> <td>$\chi^2 = 2,74$</td> <td>p = 0,09</td> </tr> <tr> <td>$\chi^2 = 0,02$</td> <td>p = 0,89</td> </tr> <tr> <td colspan="2">df = 1</td> </tr> </table>	Correction de Yates		$\chi^2 = 2,74$	p = 0,09	$\chi^2 = 0,02$	p = 0,89	df = 1	
Correction de Yates													
$\chi^2 = 2,74$	p = 0,09												
$\chi^2 = 0,02$	p = 0,89												
df = 1													
AG	71	35	106	1,74 [0,95-3,16]									
GG	9	3	12	1,17 [0,30-4,66]									
Total	168	63	231										
Fréquence allélique													
Allèles	Témoins	Cas PE		RC [IC 95%]									
A	0,74	0,67		1,00	<table border="1"> <tr> <td colspan="2">Correction de Yates</td> </tr> <tr> <td>$\chi^2 = 1,37$</td> <td>p = 0,24</td> </tr> </table>	Correction de Yates		$\chi^2 = 1,37$	p = 0,24				
Correction de Yates													
$\chi^2 = 1,37$	p = 0,24												
G	0,26	0,33		1,34 [0,86-2,09]									

2.1.7- *EPXH His139Arg*

Dans le cas présent, nous pouvions nous attendre à trouver une fréquence de l'allèle rare aux environs de 18% en nous référant aux divers résultats publiés antérieurement et qui laissaient voir des variations allant de 12% à 24% selon les populations étudiées.¹⁰¹ La population canadienne française nous apparaît en deçà de ces valeurs avec seulement 14,6% de fréquence pour l'allèle T. La distribution des deux allèles reste toutefois en équilibre de HW.

Une fois de plus, force nous est de dire que les analyses statistiques effectuées ne nous permettent pas de mettre en évidence d'association entre *EPXH His139Arg* et le risque de développer une HG et ce, malgré la stratification faite pour la PE ; RC = 0,77 IC 95% [0,47-1,26] pour le risque d'un hétérozygote *His139Arg* de développer une HG avec ou sans protéinurie par rapport aux témoins *His139His*. Chacune des autres valeurs p testées demeure supérieure à 0,05. Également, en combinant les deux polymorphismes sur *EPXH*, aucun résultat significatif n'a été mis en évidence dans aucun des sous-groupes.

Tableau 22 : Risque combiné d'HG et de PE pour *EPXH His139Arg*

Représentation des génotypes sur *EPXH His139Arg* et le risque combiné d'HG et de PE suivie de la distribution des deux allèles chez les témoins par rapport aux cas

	Témoins	Cas	Total	RC [IC 95%]	
Génotypes					
HH	117	126	243	1,00	Correction de Yates $\chi^2 = 0,83$ $p = 0,36$ $\chi^2 = 0,10$ $p = 0,75$ df = 1
HA	47	39	86	0,77 [0,47-1,26]	
AA	3	3	6	0,93 [0,18-4,69]	
Total	167	168	335		
Fréquence allélique					
Allèles	Témoins	Cas		RC [IC 95%]	
H	0,84	0,87		1,00	Correction de Yates $\chi^2 = 0,64$ $p = 0,43$
A	0,16	0,13		0,82 [0,53-1,26]	

Tableau 23 : Risque d'HG pour *EPXH His139Arg*

Représentation des génotypes sur *EPXH His139Arg* et le risque d'HG suivie de la distribution des deux allèles chez les témoins par rapport aux cas

	Témoins	Cas HG	Total	RC [IC 95%]	
Génotypes					
HH	117	80	197	1,00	Correction de Yates $\chi^2 = 1,30$ $p = 0,25$ $\chi^2 = 0,00$ $p = 0,97$ df = 1
HA	47	22	69	0,68 [0,38-1,22]	
AA	3	3	6	1,46 [0,29-7,43]	
Total	167	105	272		
Fréquence allélique					
Allèles	Témoins	Cas HG		RC [IC 95%]	
H	0,84	0,87		1,00	Correction de Yates $\chi^2 = 0,47$ $p = 0,49$
A	0,16	0,13		0,82 [0,50-1,34]	

Tableau 24 : Risque de PE pour *EPXH His139Arg*

Représentation des génotypes sur *EPXH His139Arg* et le risque de PE suivie de la distribution des deux allèles chez les témoins par rapport aux cas

	Témoins	Cas PE	Total	RC [IC 95%]	
Génotypes					
HH	117	46	163	1,00	<div style="border: 1px solid black; padding: 5px;"> Correction de Yates $\chi^2 = 0,01$ $p = 0,93$ $\chi^2 = \text{----}$ $p = \text{----}$ df = 1 </div>
HA	47	17	64	0,92 [0,48-1,76]	
AA	3	0	3	----	
Total	167	63	230		
Fréquence allélique					
Allèles	Témoins	Cas PE		RC [IC 95%]	
H	0,84	0,87		1,00	<div style="border: 1px solid black; padding: 5px;"> Correction de Yates $\chi^2 = 0,24$ $p = 0,63$ </div>
A	0,16	0,13		0,83 [0,46-1,49]	

2.1.8- eNOS G⁸⁹⁴T

Mentionnons d'abord que 35,9% des patientes de notre cohorte avaient une thymine au nucléotide 894 (T⁸⁹⁴) ce qui est similaire au 34,5% que rapportent d'autres études d'association chez les Caucasiens pour ce polymorphisme. Néanmoins, pour l'ensemble de nos 336 cas témoins, les génotypes sont en équilibre de HW avec un $p = 0,170$.

Par ailleurs nos résultats montrent qu'une perte d'activité de l'enzyme eNOS confère un risque accru d'HG pour les homozygotes TT par rapport à tous les témoins de notre cohorte avec un RC = 2,08 IC 95% [1.01-4.25] ; le risque est d'autant plus important pour les porteurs de deux allèles mutés par rapport aux hétérozygotes qui n'en portent qu'un seul RC = 2,33 IC 95% [1.14-4.78] (non illustré). En redivisant notre cohorte en sous-groupes, nous pouvons dire que les patientes homozygotes TT courent trois (3) fois plus de risque de développer une HG que les témoins hétérozygotes appariés RC = 3,19 IC 95% [1.33-7.67] avec une *valeur p* après correction de Yates à 0,01385 (résultat non illustré).

Tableau 25 : Risque combiné d'HG et de PE pour *eNOS G⁸⁹⁴T*

Représentation des génotypes sur *eNOS G⁸⁹⁴T* et le risque combiné d'HG et de PE suivie de la distribution des deux allèles chez les témoins par rapport aux cas

	Témoins	Cas	Total	RC [IC 95%]	
Génotypes					
GG	72	72	144	1,00	Correction de Yates $\chi^2 = 0,29$ $p = 0,59$ $\chi^2 = 1,43$ $p = 0,23$ df = 1
GT	77	66	143	0,86 [0,54-1,36]	
TT	19	30	49	1,58 [0,82-3,06]	
Total	168	168	336		
Fréquence allélique					
Allèles	Témoins	Cas		RC [IC 95%]	
G	0,66	0,63		1,00	Correction de Yates $\chi^2 = 0,65$ $p = 0,42$
T	0,34	0,37		1,15 [0,84-1,58]	

Tableau 26 : Risque d'HG pour *eNOS G⁸⁹⁴T*

Représentation des génotypes sur *eNOS G⁸⁹⁴T* et le risque d'HG suivie de la distribution des deux allèles chez les témoins par rapport aux cas

	Témoins	Cas HG	Total	RC [IC 95%]	
Génotypes					
GG	72	42	114	1,00	Correction de Yates $\chi^2 = 0,08$ $p = 0,78$ $\chi^2 = 3,35$ $p = 0,06$ df = 1
GT	77	40	117	0,89 [0,52-1,53]	
TT	19	23	42	2,08 [1,01-4,25]	
Total	168	105	273		
Fréquence allélique					
Allèles	Témoins	Cas HG		RC [IC 95%]	
G	0,66	0,59		1,00	Correction de Yates $\chi^2 = 2,23$ $p = 0,14$
T	0,34	0,41		1,33 [0,93-1,90]	

Tableau 27 : Risque de PE pour *eNOS G⁸⁹⁴T*

Représentation des génotypes sur *eNOS G⁸⁹⁴T* et le risque de PE suivie de la distribution des deux allèles chez les témoins par rapport aux cas

	Témoins	Cas PE	Total	RC [IC 95%]									
Génotypes													
GG	72	30	102	1,00	<table border="1"> <tr> <td colspan="2">Correction de Yates</td> </tr> <tr> <td>$\chi^2 = 0,26$</td> <td>p = 0,61</td> </tr> <tr> <td>$\chi^2 = 0,00$</td> <td>p = 0,99</td> </tr> <tr> <td colspan="2">df = 1</td> </tr> </table>	Correction de Yates		$\chi^2 = 0,26$	p = 0,61	$\chi^2 = 0,00$	p = 0,99	df = 1	
Correction de Yates													
$\chi^2 = 0,26$	p = 0,61												
$\chi^2 = 0,00$	p = 0,99												
df = 1													
GT	77	26	103	0,81 [0,4-1,50]									
TT	19	7	26	0,88 [0,34-2,32]									
Total	168	63	231										
Fréquence allélique													
Allèles	Témoins	Cas PE		RC [IC 95%]									
G	0,66	0,68		1,00	<table border="1"> <tr> <td colspan="2">Correction de Yates</td> </tr> <tr> <td>$\chi^2 = 0,15$</td> <td>p = 0,69</td> </tr> </table>	Correction de Yates		$\chi^2 = 0,15$	p = 0,69				
Correction de Yates													
$\chi^2 = 0,15$	p = 0,69												
T	0,34	0,32		0,89 [0,58-1,38]									

2.1.9- CAT C⁻⁸⁴⁴T

La seule étude ayant déjà fait mention de ce polymorphisme avait été menée chez les Japonais et rapportait que les allèles C et T avaient respectivement une fréquence de 68,4% et 31,6% au sein de leur population. Pour notre part, nous pouvons affirmer que la population canadienne française présente des fréquences alléliques similaires avec 65,3% pour le C et 34,7 pour le T toujours en équilibre de HW ($p = 0,679$).

L'analyse de nos données ne nous permet pas de mettre au jour de facteur de risque significatif sauf lorsque nous comparons les témoins au sous-groupe de femmes avec antécédent de PE où les hétérozygotes CT ont un risque quatre fois moindre de PE que les homozygotes TT (RC = 0,24 IC 95% [0,07-0,85] et un χ^2 de 4,03 avec une *valeur p* de 0,04 après correction de Yates) (analyse intermédiaire non représentée dans les tableaux). Sinon, on peut dire qu'en général une patiente porteuse d'un ou deux allèles T n'a pas de risque augmenté de développer une HG avec ou sans protéinurie.

Tableau 28 : Risque combiné d'HG et de PE pour $CAT C^{-844}T$

Représentation des génotypes sur $CAT C^{-844}T$ et le risque combiné d'HG et de PE suivie de la distribution des deux allèles chez les témoins par rapport aux cas

	Témoins	Cas	Total	RC [IC 95%]	
Génotypes					
CC	21	21	42	1,00	Correction de Yates $\chi^2 = 0,20$ $p = 0,66$ $\chi^2 = 0,14$ $p = 0,70$ $df = 1$
CT	82	66	148	0,80 [0,41-1,60]	
TT	65	79	144	1,22 [0,61-2,42]	
Total	168	166	334		
Fréquence allélique					
Allèles	Témoins	Cas		RC [IC 95%]	
C	0,37	0,33		1,00	Correction de Yates $\chi^2 = 1,22$ $p = 0,27$
T	0,63	0,67		1,21 [0,88-1,67]	

Tableau 29 : Risque d'HG pour $CAT C^{-844}T$

Représentation des génotypes sur $CAT C^{-844}T$ et le risque d'HG suivie de la distribution des deux allèles chez les témoins par rapport aux cas

	Témoins	Cas HG	Total	RC [IC 95%]	
Génotypes					
CC	21	11	32	1,00	Correction de Yates $\chi^2 = 0,00$ $p = 0,97$ $\chi^2 = 0,38$ $p = 0,54$ $df = 1$
CT	82	46	128	1,07 [0,47-2,42]	
TT	65	48	113	1,41 [0,62-3,20]	
Total	168	105	273		
Fréquence allélique					
Allèles	Témoins	Cas HG		RC [IC 95%]	
C	0,37	0,32		1,00	Correction de Yates $\chi^2 = 0,97$ $p = 0,32$
T	0,63	0,68		1,22 [0,85-1,76]	

Tableau 30 : Risque de PE pour $CAT C^{844}T$

Représentation des génotypes sur $CAT C^{844}T$ et le risque de PE suivie de la distribution des deux allèles chez les témoins par rapport aux cas

	Témoins	Cas PE	Total	RC [IC 95%]
Génotypes				
CC	21	10	31	1,00
CT	82	20	102	0,51 [0,21-1,26]
TT	65	31	96	1,00 [0,42-2,38]
Total	168	61	229	

Correction de Yates
 $\chi^2 = 1,51$ $p = 0,22$
 $\chi^2 = 0,05$ $p = 0,83$
df = 1

Fréquence allélique				
Allèles	Témoins	Cas PE		RC [IC 95%]
C	0,37	0,33		1,00
T	0,63	0,67		1,20 [0,77-1,86]

Correction de Yates
 $\chi^2 = 0,49$ $p = 0,48$

2.1.10- MnSOD $C^{47}T$

Finalement, pour ce dernier polymorphisme Ala16Val, nous avons pu mettre en évidence une fréquence allélique C/T de 0,48/0,52 dans notre population canadienne française ce qui, somme toute, recoupe les fréquences théoriques de la littérature chez les Caucasiens qui vont de 44 à 53% pour l'allèle C et de 47 à 50% pour l'allèle T. Une fois encore, l'équilibre HW est conservé au sein de notre cohorte.

Malgré tout, nos tests statistiques ne démontrent aucune association significative entre la perte d'activité de la protéine MnSOD et le risque de développer une HG/PE à preuve, un RC = 1,22 IC 95% [0,65-2,29] en comparant les homozygotes CC au homozygotes TT. Il en va de même pour les autres analyses effectuées pour ce polymorphisme dont les intervalles de confiance recourent tous la valeur de non association, soit 1.

Tableau 31 : Risque combiné d'HG et de PE pour *MnSOD C⁴⁷T*

Représentation des génotypes sur *MnSOD C⁴⁷T* et le risque combiné d'HG et de PE suivie de la distribution des deux allèles chez les témoins par rapport aux cas

	Témoins	Cas	Total	RC [IC 95%]	
Génotypes					
TT	42	44	86	1,00	Correction de Yates $\chi^2 = 0,32$ $p = 0,57$ $\chi^2 = 0,22$ $p = 0,64$ df = 1
CT	93	81	174	0,83 [0,50-1,39]	
CC	32	41	73	1,22 [0,65-2,29]	
Total	167	166	333		
Fréquence allélique					
Allèles	Témoins	Cas		RC [IC 95%]	
T	0,53	0,51		1,00	Correction de Yates $\chi^2 = 0,21$ $p = 0,64$
C	0,47	0,49		1,09 [0,80-1,47]	

Tableau 32 : Risque d'HG pour *MnSOD C⁴⁷T*

Représentation des génotypes sur *MnSOD C⁴⁷T* et le risque d'HG suivie de la distribution des deux allèles chez les témoins par rapport aux cas

	Témoins	Cas HG	Total	RC [IC 95%]	
Génotypes					
TT	42	27	69	1,00	Correction de Yates $\chi^2 = 0,14$ $p = 0,71$ $\chi^2 = 0,33$ $p = 0,56$ df = 1
CT	93	51	144	0,85 [0,47-1,54]	
CC	32	27	59	1,31 [0,65-2,65]	
Total	167	105	272		
Fréquence allélique					
Allèles	Témoins	Cas HG		RC [IC 95%]	
T	0,53	0,50		1,00	Correction de Yates $\chi^2 = 0,35$ $p = 0,55$
C	0,47	0,50		1,13 [0,80-1,59]	

Tableau 33 : Risque de PE pour *MnSOD C⁴⁷T*

Représentation des génotypes sur *MnSOD C⁴⁷T* et le risque de PE suivie de la distribution des deux allèles chez les témoins par rapport aux cas

	Témoins	Cas PE	Total	RC [IC 95%]	
Génotypes					
TT	42	17	59	1,00	<div style="border: 1px solid black; padding: 5px;"> Correction de Yates $\chi^2 = 0,21$ $p = 0,65$ $\chi^2 = 0,00$ $p = 0,97$ $df = 1$ </div>
CT	93	30	123	0,80 [0,40-1,60]	
CC	32	14	46	1,08 [0,46-2,51]	
Total	167	61	228		
Fréquence allélique					
Allèles	Témoins	Cas PE		RC [IC 95%]	
T	0,53	0,52		1,00	<div style="border: 1px solid black; padding: 5px;"> Correction de Yates $\chi^2 = 0,00$ $p = 0,99$ </div>
C	0,47	0,48		1,02 [0,67-1,55]	

2.1.11- Autres résultats

Lorsque pris isolément, la plupart de ces polymorphismes, hormis trois d'entre eux, ne modifient pas de façon significative le risque d'HG avec ou sans protéinurie au sein de la population canadienne française. Nous avons toutefois voulu savoir si des combinaisons de deux allèles indépendants permettaient de mettre en lumière un facteur de prédisposition ou de protection. Nous présentons donc ici dix (10) associations de polymorphismes ayant un impact significatif sur le risque de développer une HG et sur le risque de PE. Deux tableaux récapitulatifs reprennent les RC et leur IC à 95% pour deux groupes de patientes : tous les cas d'HG avec ou sans protéinurie puis les cas de PE seulement.

2.1.11.1- Associations protectrices

A- GST π A³¹³G et GST μ ^{dél}

Pris indépendamment, ces deux allèles ont été associés dans notre étude à un risque significativement diminué d'HG pour les patientes porteuses de l'allèle G (G³¹³) ainsi que pour celles dont la protéine GST μ était afunctionnelle (génotype -/-). En combinant ces deux allèles indépendants nous en retirons un risque nettement diminué d'HG pour les femmes homozygotes GG sur GST π et homozygotes délétées (-/-) pour GSTM1 (RC = 0,19 IC 95% [0,04-0,92]).

Cette association persiste dans le sous-groupe de femmes avec antécédent de PE où celles porteuses d'un ou deux allèles G (AG^{313} ou GG^{313}) et homozygotes délétées (-/-) courraient un risque moindre que celles avec génotype normal pour ces deux loci soit AA^{313} et +/- (RC = 0,14 IC 95% [0,03-0,75] et RC = 0,15 IC 95% [0,02-0,95] respectivement).

B- GST π A³¹³G et CYP1A1 A⁴⁸⁸⁹G

Notre étude démontre que les patientes hétérozygotes AG^{313} sur GST π et hétérozygotes AG^{4889} sur CYP1A1 ont également un risque moindre d'HG que celles avec génotype normal (AA^{313} et AA^{4889}) avec un rapport de cote à 0,20 et un IC 95% [0,06-0,76]. Si l'on combine le fait d'être homozygote GG^{313} à celui d'être AA^{4889} , on obtient un RC = 0,49 IC 95% [0,25-0,94].

C- GST π A³¹³G et MnSOD T⁴⁷C

Les patientes homozygotes GG^{313} et hétérozygotes TC^{47} ont un risque 5 fois moindre d'HG comparativement à celles avec génotype normal (AA^{313} et TT^{47}) RC = 0,22 IC 95% [0,08-0,61] et un χ^2 de 7,34 avec une *valeur p* nettement sous notre seuil de signification à 0,00674 après correction de Yates. Les mêmes valeurs persistent pour cette association de gènes dans le sous-groupe de femmes avec PE (RC = 0,22 IC 95% [0,05-0,89]).

D- GST π C³⁴¹T et GST μ ^{dél}

Nos résultats nous permettent de croire que les porteuses d'un allèle T pour GST π (génotype CT^{341}) et homozygotes -/- pour GSTM1 présenteraient également un risque significativement diminué d'HG ayant un RC à 0,11 et un IC 95% [0,02-0,79].

E- GSTp C³⁴¹T et CAT G⁻⁸⁴⁴A

Cette autre combinaison laisse entrevoir un autre facteur protecteur pour les patientes CC^{341} et GA^{-844} selon le RC = 0,38 IC 95% [0,14-0,98].

F- GST μ ^{dél} et CYP 1A1 A⁴⁸⁸⁹G

Une autre combinaison associée à un risque nettement diminué d'HG serait, selon notre analyse, le fait d'être homozygote -/- et hétérozygote AG^{4889} menant à un RC = 0,15 IC

95% [0,03-0,68]. Par ailleurs, les femmes homozygotes délétées pour GST μ et ayant pour génotype AG⁴⁸⁸⁹ ou AA⁴⁸⁸⁹ sur CYP 1A1 seraient également protégées face à la prééclampsie dans une certaine mesure considérant des RC= 0,13 IC 95% [0,02-0,78] et 0,17 IC 95% [0,04-0,72].

G- MnSOD T⁴⁷C et CAT G⁻⁸⁴⁴A

Cette fois-ci encore, les patientes qui combinent deux allèles normaux TT⁴⁷ et un allèle A pour CAT (GA⁻⁸⁴⁴) verraient leur risque chuter de 13 fois par rapport à celui des patientes TT⁴⁷ et GG⁻⁸⁴⁴ présentant un RC de 0,07 avec IC 95% [0,01-0,75].

2.1.11.2- Association prédisposante

A- GST τ ^{dél} et EPXH A⁶¹²G

Cette fois-ci, nous arrivons à un risque triplé de PE pour les femmes dont le génotype leur confère une diminution de l'activité de ces deux enzymes. Ainsi les homozygotes délétées pour GST τ (-/-) et hétérozygotes pour époxyde (AG⁶¹²) auraient un risque supérieur de PE avec un RC de 3,24 et IC 95% [1,12-9,39].

Les tableaux ci-dessous tentent de récapituler les associations listées précédemment.

Tableau 34 : Combinaisons d'allèles indépendants et risque d'HG et de PE

Combinaisons de génotypes et risque d'HG avec ou sans protéinurie : RC [IC 95%]						
Polymorphismes	GSTπ A³¹³G			GSTμ^{dél}		
	AA	AG	GG	+/+	+/-	-/-
<i>GSTμ^{dél}</i>						
+/+						
+/-						
-/-			0,19 [0,04-0,92]			
<i>CYP1A⁴⁸⁸⁹G</i>						
AA			0,49 [0,25-0,94]			0,25 [0,07-0,92]
AG	0,2 [0,06-0,76]					0,15 [0,03-0,68]
GG						
<i>EPXH C¹³⁹T</i>						
CC			0,45 [0,21-0,97]			
CT						
TT						
<i>MnSOD T⁴⁷C</i>						
TT						
TC			0,22 [0,08-0,61]			
CC						

Tableau 35 : Combinaisons d'allèles indépendants et risque de PE

Combinaisons de génotypes et risque de prééclampsie : RC [IC 95%]						
Polymorphisme	GSTπ C³⁴¹T			MnSOD T⁴⁷C		
	CC	CT	TT	TT	TC	CC
<i>GSTμ^{dél}</i>						
+/+						
+/-						
-/-	0,24 [0,06-0,89]	0,11 [0,02-0,79]				
<i>CAT G⁸⁴⁴A</i>						
GG						
AG	0,38 [0,14-0,98]			0,07 [0,01-0,75]		
AA						

Tableau 36 : Combinaisons d'allèles indépendants et risque de PE

Combinaisons de génotypes et risque de prééclampsie : RC [IC 95%]					
Polymorphismes	GSTτ^{dél}		GSTμ^{dél}		
	+/+	-/-	+/+	+/-	-/-
<i>GSTπA</i>³¹³G					
AA					
AG					0,14 [0,03-0,75]
GG			0,12 [0,01-0,95]		0,15 [0,02-0,95]
<i>CYP1A</i>⁴⁸⁸⁹G					
AA			0,21 [0,05-0,91]		0,17 [0,04-0,72]
AG					0,13 [0,02-0,78]
GG					
<i>EPXH A</i>⁶¹²G					
AA					
AG		3,24 [1,12-9,39]			
GG					

PARTIE 3- DISCUSSION

*L'expérience est une lanterne que l'on
a accrochée dans le dos et qui
n'éclaire que le chemin parcouru*
Confucius

Après avoir tiré à grands traits une première esquisse de nos résultats dans la section précédente, nous développerons à présent plus en détails les données de notre étude en les associant à d'autres résultats publiés dans la littérature et en explicitant l'impact de ces polymorphismes sur le métabolisme pouvant ainsi conférer le risque augmenté ou diminué d'HG et/ou de PE que nous avons obtenu.

3.1.1- Glutathion S-transférase

En premier lieu, revoyons les quatre polymorphismes présents sur le gène de la glutathion S-transférase, soit deux mutations ponctuelles (GST π) ainsi que deux délétions (GST μ et GST τ).

3.1.1.1- GST π A³¹³G (Ile105Val)

Rappelons d'abord les résultats de notre étude : selon nos analyses statistiques, les femmes porteuses de deux allèles G (homozygotes GG³¹³) voient leur risque d'HG avec ou sans protéinurie significativement diminuer par rapport à celle AG³¹³ ou AA³¹³. Néanmoins, bien que les intervalles de confiance à 95% nous permettent de conclure que ces résultats sont statistiquement significatifs, il nous faut souligner que nous leur avons également fait subir un test du chi carré avec correction de Yates dans le but d'augmenter sa puissance statistique. Nous sommes conscients qu'à la lumière de ce test statistique, deux rapports de cotes perdent leur caractère significatif avec des valeurs $0,05 < p < 0,10$ (tableaux 5 et 6). Nous demeurerons donc prudents en émettant nos conclusions pour ces cas particuliers.

Les résultats que nous présentons dans le cadre de nos travaux de maîtrise divergent des données rapportées précédemment par Ohta¹⁰⁰ et Zusterzeel¹⁰¹ où l'allèle G, correspondant selon eux à la forme moins active de l'enzyme, était associé à un risque accru de PE. Avant d'aller plus loin avec nos comparaisons, nous nous devons de souligner l'importante différence en ce qui a trait à la distribution génétique de l'allèle G entre notre population

canadienne française et celle japonaise. Dans l'étude de Ohta, la fréquence des patientes porteuses d'un ou deux allèles G était de 15%¹⁰⁰ alors que dans notre cohorte, elle est de 37,1%. Force nous est de croire que les deux groupes sont ici difficilement comparables possiblement dû à la variété génétique interraciale.

Par ailleurs, considérant le fait que l'allèle G soit associé couramment dans la littérature à une perte d'activité antioxydante de GST π ⁹², nous serions en droit, suivant notre hypothèse, de nous attendre à ce que les porteuses voient leur risque d'HG/PE augmenter (comme le rapportait Zusterzeel¹⁰¹) et non pas diminuer tel que nous le suggère nos travaux d'études graduées. Sur ce point cependant, nos recherches nous ont permis de mettre un bémol sur le lien établi par certains auteurs entre l'allèle G et la diminution de l'activité de GST π .⁹² En effet, il semble que selon le substrat employé, l'enzyme GST π contenant l'acide aminé Val105 (G³¹³) pourrait présenter une activité métabolique augmentée et non pas diminuée par rapport à son isoforme renfermant une Ile105 (A³¹³).⁸³ C'est le cas, entre autres, pour certains époxydes et autres HAP, deux précurseurs clé dans le développement du stress oxydatif, qui sont plus rapidement métabolisés par la forme Val105 de GST π , tel que démontré par Sundberg et al. en 1998.¹⁰²

Une autre preuve, cette fois-ci clinique, nous permet de soulever un doute quant au réel impact d'une perte d'activité de GST π sur le risque de dommages cellulaires médiés par le stress oxydatif. En effet, Henderson a mis en évidence le fait que les souris nulles pour GST π présentaient une plus grande résistance à l'effet hépatotoxique d'une intoxication à l'acétaminophène, laquelle implique également un stress oxydatif.¹⁶⁹

Nous pourrions donc proposer, à la lumière de ces nouvelles données et considérant l'analyse de nos résultats, deux possibilités : soit que dans certains cas, la réaction enzymatique catalysée par GST π A³¹³G mène à la formation d'un métabolite oxydant précurseur du stress oxydatif, soit que le peptide GST π Val105 est plus efficace que son isoforme Ile105 pour métaboliser les substrats spécifiquement impliqués dans la genèse du stress oxydatif responsable de la dysfonction endothéliale et de l'HG/PE chez la femme enceinte. Ces deux hypothèses conforteraient les rapports de cotes que nous avons obtenus et qui nous permettent de croire que les patientes homozygotes GG³¹³ ont deux fois moins de chance de développer une HG avec ou sans protéinurie que leur témoins AA³¹³. Dans

cette optique, des études fonctionnelles restent à faire pour valider nos hypothèses. Finalement, des études de validation à plus grande échelle s'imposent également.

3.1.1.2- *GSTπC³⁴¹T (Ala114Val)*

En ce qui concerne cet autre polymorphisme de GST pi, aucune de nos analyses statistiques n'a permis de faire ressortir une association avec le risque d'hypertension gestationnelle. Aucun des intervalles de confiance à 95% ni aucun des tests de chi carré n'est statistiquement significatif lorsque la mutation est prise isolément dans chacun des sous-groupes : ensemble des cas, cas d'HG, cas de PE. Évidemment, cela peut s'expliquer par la très faible prévalence de l'allèle T au sein de notre population (8,6%) qui fit en sorte qu'une seule patiente avec antécédent d'HG était homozygote TT³⁴¹ alors qu'aucune avec antécédent de PE ne l'était. Aucune autre étude dans la littérature n'avait tenté par le passé d'associer ce polymorphisme à la PE.

Par contre, il devient intéressant d'associer ce polymorphisme à d'autres allèles indépendants pour arriver éventuellement à prédire le risque de PE chez les femmes canadiennes françaises. C'est le cas lorsque combiné à GSTμ et CAT où les RC sont significativement abaissés suivant les IC à 95% et avec des valeurs p après correction de Yates permettant de souligner une certaine tendance pour les patientes à être protégées ($0,05 < p < 0,1$). Évidemment, nous pourrions nous questionner à savoir quel est le réel impact de GSTπ dans ces duos puisque déjà, lorsque pris isolément, GSTμ et CAT confèreraient un risque diminué de maladie. Cependant, nous pouvons tout de même voir dans le cas de la combinaison avec GSTμ que le RC de 0,26 initial (GSTm -/- tableau 12) passe à 0,11 pour le même polymorphisme auquel on associe le génotype CT³⁴¹. Voilà une avenue intéressante qu'il faudra sans nul doute explorer dans le cadre d'une étude de cohorte plus importante.

3.1.2- **GSTμ délétion**

Les résultats que nous rapportons pour GSTμ nous apparaissent *à priori* contradictoires avec l'idée globale de notre hypothèse et aussi avec ce que rapporte la littérature : la perte d'activité antioxydante de la protéine GSTμ devrait être liée à un risque augmenté des pathologies associées au stress oxydatif comme le serait l'HG/PE et comme c'est le cas

pour différents cancers. Au contraire, nos travaux de maîtrise nous incitent à évoquer l'idée inverse : les femmes dont l'activité du peptide GST μ est nulle (génotype -/-) auraient un risque significativement diminué de PE par rapport à celles homozygotes +/+ et dont l'activité enzymatique est maximale : RC = 0,26 IC 95% [0,07-0,91]. Le test du χ^2 montre un p = à 0,02 mais lorsqu'on lui applique la correction de Yates, celui-ci passe à 0,06. Néanmoins, cet effet protecteur s'affirme de façon encore plus patente lorsque nous combinons GST μ à d'autres allèles. Par exemple, rappelons que les femmes homozygotes délétées (GSTM1 -/-) qui portent en plus le génotype AG⁴⁸⁸⁹ sur CYP 1A1 voient leur risque de PE passer à 0,13 IC 95% [0,02-0,78] et p = 0,05 après correction de Yates par rapport aux patientes +/+ et AA⁴⁸⁸⁹. La diminution du risque lorsque combiné à GST π A³¹³G serait tout aussi substantielle et significative considérant les IC à 95% (*cf.* tableaux 34 et 36). Ainsi, il appert qu'une tendance fortement significative se dessine et que la perte d'activité de GST μ pourrait bien avoir un effet protecteur sur le risque de PE.

À notre connaissance, il s'agit de la première étude permettant d'établir un lien entre le polymorphisme de délétion de GST μ et la diminution du risque de PE. L'étude de Zusterzeel de 2000¹⁰¹ n'avait pas permis de mettre en évidence un tel facteur de protection.

À la lumière de nos résultats, nous nous sommes donc penchés à nouveau sur le lien pouvant expliquer pourquoi la baisse d'activité d'une enzyme clé de la détoxification des xénobiotiques et des ROS pouvait ainsi être responsable d'une diminution appréciable du risque de PE. Une ébauche de réponse nous vient des résultats publiés en rapport avec un autre groupe de maladies dont la physiopathologie serait similaire à celle de l'HG/PE et reposerait sur l'importance du stress oxydatif : les MCV. En effet il a été récemment démontré par Wilson que le risque de MCV était significativement diminué chez les patients homozygotes délétés pour GST μ et plus particulièrement lorsque ceux-ci étaient fumeurs.^{170,171} Notre étude sur l'HG/PE permettrait donc de corroborer ces données issues des deux études de Wilson, la première ayant été menée sur une population de Caucasiens et la seconde, sur un groupe de patients asiatiques.

Selon nous, différents mécanismes pourraient expliquer de quelle façon le génotype -/- serait protecteur face à la PE. La première hypothèse serait de suggérer que l'enzyme GST μ pourrait générer un métabolite toxique capable de promouvoir le stress oxydatif au

sein de l'endothélium vasculaire. Sinon, une autre hypothèse serait de croire que la délétion du gène GSTM1 provoquerait l'induction d'une autre enzyme X dont le pouvoir détoxifiant serait supérieur à celui de GST μ . Tel que rappelé par Wilson¹⁷¹ cette seconde hypothèse se fonde sur une étude menée en 1997 par MacLeod¹⁷² qui démontrait que l'activité de l'enzyme CYP1A2 était augmentée chez les individus porteurs d'allèles délétés sur GSTM1.

Une fois de plus, une étude de validation sur une cohorte de plus grande envergure s'impose pour affirmer ou infirmer les résultats obtenus au cours de nos études graduées. Également, il faudra possiblement entreprendre d'autres évaluations portant sur l'activité catalytique de GST μ , ses substrats et ses métabolites ainsi que sur ses interactions avec l'activité d'autres enzymes dans le but d'élucider le mécanisme encore incertain qui est responsable de la chute du risque de PE ou de MCV chez les individus dont la protéine est afunctionnelle.

3.1.3- GST τ délétion

Dans la même veine que pour GST π C³⁴¹T, le polymorphisme de délétion sur GST τ ne peut être associé définitivement au risque d'HG avec ou sans protéinurie selon l'analyse de nos résultats. Néanmoins, en considérant qu'un test de χ^2 ayant un p compris entre 0,05 et 0,1 signe une tendance statistique, nous sommes en mesure de souligner une telle possibilité pour ce polymorphisme. En effet, les patientes porteuses de l'allèle afunctionnel (homozygotes -/-) se retrouveraient plus fréquemment au sein des cas d'HG avec ou sans protéinurie que les témoins porteurs de l'allèle non délété : RC = 1,46 et $p = 0,07$ (tableau 13) Une fois de plus, nos résultats non significatifs sont possiblement dus au manque de puissance de notre échantillon de patientes. Ainsi, un plus grand nombre de patientes à génotyper s'impose afin de déceler l'impact de GST τ sur la prédisposition à la PE.

En comparaison, Zusterzeel¹⁰¹ a également étudié le lien entre cette délétion et le risque de PE : 20% des 170 patientes avec PE étaient délétées pour GST τ comparativement à 30% des contrôles (résultats non significatifs) alors que, dans notre groupe, les proportions étaient de 21 % chez les cas et de 15,5% chez les témoins, résultat également non significatif.

L'association de l'allèle de GST τ à celui d'EPXH A⁶¹²G confère aux patientes homozygotes -/- et homozygotes GG⁶¹² un risque triplé de PE comparativement à celles qui portent les génotypes +/+ et AA⁶¹² avec un p à la limite du seuil de signification après correction de Yates ($p = 0,05$). En soi, il s'agit ici d'un exemple particulièrement éloquent de l'approche multigénique à développer en regard de la PE : pris isolément certains gènes ne peuvent constituer à eux seuls un facteur de prédisposition ou de protection face à la maladie, mais leur combinaison pourra permettre, comme c'est le cas ici, de mettre en évidence des marqueurs fiables, après validation, du risque d'HG/PE.

3.1.4- CYP1A1 A⁴⁸⁸⁹G (Ile462Val)

Pour sa part, le polymorphisme de mutation ponctuelle présent sur le cytochrome p450 confère, rappelons-le, une activité accrue à cette enzyme impliquée dans la biotransformation de phase I. Dans ce cas, nous pourrions nous attendre à ce que les porteuses d'un ou de deux allèles mutés voient leur risque d'HG et de PE diminuer suivant l'énoncé de notre hypothèse voulant que les radicaux libres soient en cause dans la physiopathologie de l'atteinte. En effet, les résultats statistiques tendent vers l'idée que le risque d'hypertension gestationnelle avec ou sans protéinurie diminue de 40% (RC évalué à 0,57) lorsque l'individu présente une guanine plutôt qu'une adénine en position 4889 du gène correspondant. Hélas, la valeur statistique de ce résultat reste encore à être prouvée, puisque à la fois la valeur p et l'intervalle de confiance à 95% souffrent du manque de puissance de la population à l'étude : IC 95% [0,26-1,24] et $p = 0,20$.

Une fois de plus, une cause potentielle pouvant expliquer l'absence d'association significative entre le polymorphisme de CYP 1A1 et le risque d'HG/PE pourrait être la très faible fréquence de l'allèle rare, ceci diminuant la puissance de l'analyse. À vrai dire, nous n'avons pu mettre en évidence que peu de génotypes hétérozygotes et aucun homozygote GG⁴⁸⁸⁹ au sein de notre cohorte. Bien sûr, la prévalence dans la population souche québécoise de l'allèle G évaluée à 4% environ selon les génotypes établis pour notre cohorte reprend celle estimée entre 1,1 et 4.9% chez les Caucasiens¹⁰⁷, mais il nous aurait fallu davantage de patientes pour faire ressortir une association.

Enfin, tel que mentionné lors de la revue de la littérature, une seule autre étude avait évalué l'impact de ce polymorphisme sur le risque de PE.¹⁰¹ À la lumière de nos analyses, il semble difficile de dire si nos travaux corroborent ceux de Zusterzeel puisque, dans son étude, la fréquence du polymorphisme allélique était quatre fois plus importante qu'elle ne l'est dans notre cohorte. Chose certaine, les Néerlandaises porteuses d'un ou deux allèles G avaient elles aussi un risque moindre de PE sans toutefois mettre en évidence de différence significative.¹⁰¹ Pour cela, à l'instar des autres marqueurs préalablement définis et analysés, nous ne saurions tirer de conclusions véritables tant et aussi longtemps que le nombre de sujets ne sera pas accru pour fins de validation.

3.1.5- Époxyde hydrolase

Comme nous le laissons entendre déjà précédemment, les deux mutations ponctuelles considérées sur ce gène ont déjà été associées dans le passé à la PE, mais avant d'établir des comparatifs entre nos données et celles déjà publiées dans la littérature, revenons d'abord sur quelques points cruciaux.

3.1.5.1- EPXH A⁶¹²G (Tyr113His)

Nous supposons d'entrée de jeu que la première mutation développée sur le gène époxyde (A⁶¹²G) devrait accroître le risque de PE chez les femmes porteuses d'un ou deux allèles G puisque, en présence d'un acide aminé His113, l'activité de l'enzyme diminue et *ipso facto*, la détoxification des radicaux libres est moindre.

À cet effet, les valeurs calculées pour EPXH A⁶¹²G au terme de nos travaux de maîtrise ne nous permettent pas de conclure s'il y a bel et bien un lien entre ce polymorphisme pris isolément et le risque de développer une HG avec ou sans protéinurie. Néanmoins, pour ce qui est du sous-groupe de cas avec antécédent de PE, les analyses des hétérozygotes AG⁶¹² par rapport aux homozygotes AA⁶¹² pourraient nous permettre de déceler une tendance selon laquelle une mutation survenant au sein de ce codon constituerait un facteur de risque appréciable à la maladie. Nous en venons à cette conclusion si l'on considère le RC à 1,74 avec son intervalle de confiance à 95% qui s'étend de 0,95 à 3,16 en plus de la valeur *p* évaluée à 0,09 après correction de Yates (donc < 0,1) (*cf.* tableau 21).

Par ailleurs, nous avons déjà élaboré dans un paragraphe antérieur à propos de l'impact significatif que nous pouvons mettre en évidence en combinant ce polymorphisme à celui sur GST τ lequel impact va dans le sens de notre hypothèse (RC 3,24).

Force nous est maintenant de remarquer que ces données, bien que justifiées selon notre hypothèse, vont à contre-courant de ce que publiait Zusterzeel¹²⁸ en 2001 dans son article intitulé *A polymorphism in the gene for microsomal epoxide hydrolase is associated with pre-eclampsia*. Ce dernier rapportait que les femmes avec antécédent de PE présentaient une fréquence significativement augmentée du génotype Tyr113/Tyr113 (AA⁶¹²), et il concluait donc en suggérant que l'allèle G⁶¹² constituait un facteur protecteur vis-à-vis la PE, ce qui somme toute est opposé à la tendance évoquée par nos résultats. Cependant, mentionnons qu'une fois de plus, une importante variabilité génétique sépare la population néerlandaise de l'étude de Zusterzeel de la nôtre. Dans son étude, l'auteur rapporte des fréquences pour les génotypes AA ; AG ; GG de 28% ; 26% ; 46% respectivement pour les 183 cas de PE et de 16% ; 40% ; 44% dans la population contrôle (fréquence allélique pour G de 59% chez les cas et de 64% chez les témoins). De notre côté, ces mêmes valeurs étaient de 67% ; 32 % ; 3% chez les femmes avec PE et de 46% ; 46% ; 8% chez leurs témoins appariés (fréquences alléliques respectives pour G de 33% et de 31%). Soulignons que les fréquences que nous avons établies dans notre population sont en équilibre de HW et reproduisent celles recensées au sein d'autres populations caucasiennes dans les diverses études qui allaient de 30 à 40 % pour l'allèle G.¹²⁸ Il va de soi par conséquent que nos résultats divergents sont possiblement dus à l'importante diversité génétique entre les deux groupes étudiés.

Une seconde étude vérifiant le lien entre le risque de PE et la mutation A⁶¹²G du gène époxyde menée par Laasanen¹⁷³ étayent nos données puisque l'auteur rapportait également des résultats statistiquement non significatifs similaires lorsqu'il testait la fréquence du polymorphisme isolément entre les cas et les témoins. Il faisait toutefois ressortir une association significative de l'haplotype Tyr113-His139 et le risque de PE (RC 1,61 IC 95% [1,12-2,32]).

3.1.5.2- EPXH His139Arg

Cette fois-ci, suivant notre hypothèse, nous pouvions nous attendre à un risque diminué pour les patientes présentant une mutation au niveau du second polymorphisme (His139Arg) qui confère quant à lui une activité augmentée à la protéine. Néanmoins, les calculs statistiques effectués sur nos valeurs n'ont pas confirmé notre hypothèse. Tous les p calculés lors des tests du χ^2 étaient supérieurs à 0,2 et ne nous permettaient pas même d'évoquer une tendance à la protection. De plus, aucune des combinaisons associant EPXH His139Arg à d'autres allèles indépendants ne ressort positive ce qui nous laisse croire soit que l'implication de ce polymorphisme dans la pathogenèse de l'HG et de la PE est très faible, soit qu'il n'y a aucune association.

Pour sa part, Zusterzeel proposait un RC de 2,2 IC 95% [0,7-7,4] et $p = 0,2$ (donc également non significatif) en ce qui a trait au risque de PE pour les patientes homozygotes Arg139/Arg139 par rapport aux patientes His139/His139 et His139/Arg139¹⁰¹ ; ces résultats demeurent non significatifs. Laasanen rapportait également des analyses non significative pour ce polymorphisme pris isolément en relation avec le risque de PE.¹⁷³

3.1.6- eNOS G⁸⁹⁴T (Glu298Asp)

Dans le cas du polymorphisme sur l'enzyme eNOS, notre étude fait suite à celles déjà publiées dans la littérature par Yoshimura,¹³⁹ Kobashi,¹³⁸ Hakli¹⁷⁴ et Landau¹⁷⁵ voulant faire le lien entre ce même polymorphisme et le risque de PE. Soulignons que les deux études réalisées au sein de la population japonaise ont permis d'évoquer une association significative entre l'allèle T⁸⁹⁴ et, d'abord, le risque de PE sévère¹³⁹ puis, en second lieu, avec l'HG¹³⁸. Néanmoins, l'étude de Landau réalisée auprès de femmes américaines de race blanche (64 cas de PE et 397 témoins)¹⁷⁵ ainsi que celle de Hakli regroupant des Finlandaises avec antécédent de PE (132 cas et 113 contrôles)¹⁷⁴ ne sont pas parvenues à mettre au jour de différences significatives dans la distribution des génotypes entre cas de PE et témoins.

À cet égard, les résultats apportés par nos travaux de recherche prennent une importance toute particulière. En effet, rappelons qu'à l'instar des autres études menées chez les Caucasiennes, nous ne pouvons pas établir de lien entre les génotypes GT⁸⁹⁴ et TT⁸⁹⁴ et le

risque de PE : RC 0,81 IC 95% [0,44-1,50] et 0,88 IC 95% [0,34-2,32] respectivement. Cela corrobore les résultats rapportés par Landau et Hakli.

Néanmoins, dans le sous-groupe de femmes avec antécédent d'HG, nos résultats suggèrent pour les patientes homozygotes Asp298/Asp298 (TT⁸⁹⁴) un risque doublé par rapport à leurs témoins appariés Glu298/Glu298 (GG⁸⁹⁴) : RC = 2,08 IC 95% [1,01-4,25] (tableau 26). Par ailleurs, le risque encouru par les patientes homozygotes par rapport à celles hétérozygotes apparaît être du même ordre : RC = 2,33 IC 95% [1,14-4,78] (résultat non illustré). Ces données confirmeraient celles obtenues par Kobashi chez les patientes avec HG, mais ne peuvent être corroborées par les études menées chez les femmes de race blanche puisqu'on n'y distinguait pas cette classe précise.

Ces valeurs nous portent cependant au questionnement suivant : sur quelle base Asp298 serait-il associé à l'HG ? Est-il associé à une perte de fonction de eNOS malgré le fait que trois études n'ont pu établir de différence fonctionnelle entre Glu298 et Asp298 ? L'autre hypothèse serait de croire que l'allèle T⁸⁹⁴ est en déséquilibre de liaison avec un autre polymorphisme sur ce même gène ou un gène situé à proximité qui aurait quant à lui un impact fonctionnel. Au surplus, nous serions en droit dans le contexte de la eNOS de nous demander si HG et PE ont le même mécanisme physiopathologique... D'autres études de validation permettront possiblement de répondre à certaines de ces questions.

Finalement, comme ce fut le cas pour GST μ , nous ne saurions passer sous silence les résultats rapportés dans la littérature concernant ce même polymorphisme et le risque de MCV. En effet, comme nous le mentionnions plus tôt dans ce mémoire, nombre d'études (Suita, Bogalusa, ATTICA) ont évalué l'impact de Glu298Asp entre autres sur le risque d'hypertension essentielle ou encore ses facteurs de risque. Les auteurs associent donc l'allèle Asp298 à la prévalence accrue de dysfonction endothéliale¹³⁵ et d'HTA^{137,141} ainsi qu'au risque plus élevé de MCV via l'importante augmentation des LDL oxydés chez les homozygotes Asp298/Asp298.¹⁴³

Ainsi, ces dernières données qui associent le polymorphisme Glu298Asp au risque de MCV, combinées aux conclusions de nos travaux révélant un lien significatif du même gène avec l'HG, renforce une fois de plus l'idée que HG et MCV sont reliées. Ce même

lien entre HG et MCV à plus long terme a d'ailleurs fait l'objet d'études qui ont permis de le valider en rétrospective.⁷⁶

3.1.7- CAT C⁻⁸⁴⁴T

Jiang et al. ont mis en évidence une association entre ce polymorphisme sur le gène codant pour l'enzyme catalase et l'HTA essentielle : le génotype TT⁻⁸⁴⁴ se retrouvait plus fréquemment chez les patients hypertendus que chez les homozygotes CC⁻⁸⁴⁴ alors que les hétérozygotes CT⁻⁸⁴⁴ présentaient une pression artérielle intermédiaire.¹⁵² Aucun autre écrit dans la littérature n'a évalué par la suite le polymorphisme en question. Dans ce contexte, malgré l'absence d'études fonctionnelles mesurant l'impact de ce changement de nucléotide, il devenait intéressant d'étudier le lien possible avec l'HG et la PE.

Tel qu'exposé précédemment, nous avons pu retirer de nos travaux que les patientes hétérozygotes CT⁻⁸⁴⁴ présenteraient un risque quatre fois moindre de PE que les patientes CC⁻⁸⁴⁴ qui leur ont été appariées. Cette diminution du risque de PE est statistiquement significative pour un seuil de signification fixé à 0,05 : RC = 0,24 IC 95% [0,07-0,85] $p = 0,04$ après correction de Yates (résultat non illustré). Qui plus est, lorsque nous combinons ce génotype CT⁻⁸⁴⁴ sur l'allèle CAT au génotype TT⁴⁹ de MnSOD, le risque de PE encouru par leurs porteuses par rapport aux patientes CC⁻⁸⁴⁴ est encore plus abaissé : RC = 0,07 IC 95% [0,01-0,75] (tableau 35) avec cependant un $p = 0,06$ après correction de Yates étant donné le faible nombre de patientes que regroupe ce tableau de contingence.

Enfin, nous pourrions à présent nous poser la question à savoir sur quelle base ce polymorphisme pourrait-il permettre de diminuer le risque de PE chez les patientes hétérozygotes ? Pourrions-nous croire à un effet fonctionnel au niveau de l'enzyme qui verrait sa capacité de détoxification augmenter chez les patientes porteuses d'un allèle T ? À vrai dire, un argument défavorable à cette idée nous apparaît lorsque nous testons le fait d'être homozygote TT⁻⁸⁴⁴ versus homozygote CC⁻⁸⁴⁴ dans le même groupe de patientes avec antécédent de PE et leurs contrôles où nos résultats perdent leur valeur statistique. Cette constatation nous laisse donc croire que l'association mise en évidence précédemment n'est probablement pas due à une augmentation de l'activité détoxifiante pour les porteurs d'un allèle T, car les homozygotes TT auraient vu leur risque encore plus

diminué que ce que nous rapportons dans les faits. Devrions-nous alors croire à une association stochastique ? Ceci est bien possible et il faudra donc voir si la baisse significative du risque de PE est validée dans une étude à plus large échelle et, le cas échéant, une étude fonctionnelle s'avérera nécessaire.

3.1.8- MnSOD C⁴⁷T (Ala16Val)

À notre connaissance, il s'agit de la première étude évaluant le lien entre une mutation ponctuelle sur MnSOD (laquelle confère à la protéine une différence d'activité catalytique) et le risque d'HG et de PE. Comme nous le notions dans notre revue de la littérature, certaines études ont déjà été menées au niveau biochimique permettant d'attester l'augmentation des superoxydes au sein des tissus placentaires des femmes prééclamptiques.^{156,158,176} Partant de là, et sachant que le polymorphisme C⁴⁷T du gène MnSOD était associé chez les porteurs TT⁴⁷ à une chute de l'activité enzymatique,^{155,160,161,165} nous pouvions nous attendre à ce que les patientes homozygotes pour ce même allèle aient un risque augmenté d'HG/PE.

Malheureusement, nos résultats ne nous permettent pas de conclure en ce sens puisque chacune des valeurs p est supérieure à 0,05 lorsque les divers génotypes sur MnSOD sont testés isolément dans chacun des sous-groupes de notre étude. Cela étant, de deux choses l'une : soit que notre cohorte manquait de puissance statistique pour mettre en évidence la contribution des variations génétiques de MnSOD sur le risque d'HG/PE, soit que les résultats obtenus par Wang, Sikkema et autres concernant l'augmentation des superoxydes dans le placenta des femmes avec PE sont dus à la perte d'activité d'autres enzymes de la famille des SOD (Cu-ZnSOD) également responsables du métabolisme des superoxydes. Il pourrait donc être intéressant d'examiner ces deux autres gènes à la recherche de polymorphismes fonctionnels tout en augmentant en parallèle l'échantillon cas témoins pour en augmenter la puissance dans une autre étude. Quoi qu'il en soit, si le polymorphisme C⁴²T jouait un rôle dans la genèse de l'HG/PE, celui-ci doit être minime.

CONCLUSION

En définitive, peu d'études fondamentales ont exploré la physiopathologie de l'HG, préférant cibler les patientes avec PE, une maladie au pronostic plus sombre. Certains lancent même le débat à savoir si ces deux maladies constituent un continuum versus deux atteintes distinctes au point de vue étiopathologique. Néanmoins, à la fois l'HG et la PE ont été associées aux MCV à long terme possiblement via l'implication du stress oxydatif. Cela étant, nous avons établi dans le cadre de ces travaux de recherche qu'HG et PE reposent sur le même processus physiopathologique, la PE étant une HG compliquée d'une protéinurie.

Qui plus est, il existe de plus en plus d'évidences dans la littérature soulignant l'importance dudit stress oxydatif dans la pathogenèse de la PE : augmentation des marqueurs oxydatifs au niveau plasmatique et placentaire accompagnée d'une diminution notable de la capacité détoxifiante des principales voies réductrices systémiques. De plus, les études épidémiologiques tendent à suggérer le rôle prépondérant de déterminants génétiques dans la physiopathologie de la PE. Cela étant, le risque d'HG/PE pourrait être modulé par des variations génétiques transmissibles au sein d'enzymes de la biotransformation altérant leur activité et, *ipso facto*, leurs fonctions antioxydantes et détoxifiantes. C'est ce qu'il nous a été donné d'étudier dans le cadre de ce travail de maîtrise.

D'autres études par le passé ont déjà établi que les femmes avec antécédents d'HG et de PE sont plus à risque de MCV à long terme. Nul n'a encore pu émettre néanmoins la cause exacte qui soutient ce lien. De là notre hypothèse secondaire de travail à savoir qu'il existe une prédisposition génétique aux deux entités ; nous postulons par ailleurs que les femmes ayant souffert d'HG sont à risque de MCV à long terme, les deux entités étant liées génétiquement via certains locus d'enzymes impliquées dans le métabolisme de substances oxydantes endogènes et xénobiotiques.

En tout état de cause, parmi tous les polymorphismes étudiés, nous sommes en mesure d'émettre la conclusion que quatre de ces marqueurs suggèrent une véritable association avec le risque de développer la maladie. Il s'agit de $GST\pi A^{313}G$ ($RC= 0.42$ IC 95% [0.22-0.80]) ; $GSTM1^{del}$ ($RC= 0.26$ [0.07-0.91]) ; $eNOS G^{849}T$ ($RC = 3.19$ [1.33-7.67]) ainsi que

CAT G⁻⁸⁴⁴A (*RC*= 0.24 [0.07-0.85]). Nos résultats montrent également plusieurs associations d'allèles indépendants combinés deux à deux prédictives d'un risque d'HG/PE. Dans le cas de la *eNOS* et de *GSTM1*, notre étude s'avère de première importance : les mutations que nous avons positivement associées au risque d'HG/PE au sein de ces deux protéines avaient été validées chez des patients atteints de MCV dans d'autres études. Nous pourrions donc croire que nos travaux de recherche ajoutent à l'appui du lien entre PE et MCV la confirmation possible via la génétique.

Par rapport aux données de la littérature, notre étude comptait un nombre relativement important de sujets. Néanmoins, la puissance de notre échantillon était limitée face aux polymorphismes peu fréquents et ne permettait donc pas d'évaluer les associations potentielles impliquant de multiples loci ainsi que des interactions gènes-environnement. Dans tous ces cas, nous devrions nécessairement augmenter l'importance de notre échantillon ce qui augmenterait la puissance statistique afin de déterminer ou non une véritable association entre ces modifications génétiques et la PE.

En corollaire, il appert que les résultats à venir de ces recherches visant la mise au point de marqueurs génétiques prédictifs d'HG auront sans conteste des répercussions significatives au point de vue médical sur les patientes à risque de développer la maladie concernée. Nous pourrions possiblement mieux identifier les femmes à risque de développer la PE et éventuellement assurer un suivi accru de ces femmes dans le but de prévenir de possibles accidents cardiovasculaires. Nous pourrions également entrevoir la possibilité d'utiliser ces mêmes marqueurs pour le dépistage des MCV à plus long terme, puisque les deux entités ont été liées épidémiologiquement ainsi que physiopathologiquement. D'autres résultats issus d'une vaste étude de validation au sein d'une cohorte encore plus importante sont à venir.

BIBLIOGRAPHIE

1. Paruk F, Moodley J. Maternal and neonatal outcome in early- and late-onset pre-eclampsia. *Semin Neonatol* 2000;**5**(3):197-207.
2. Report of the National High Blood Pressure Education Program Working Group on High Blood Pressure in Pregnancy. *Am J Obstet Gynecol* 2000;**183**(1):S1-S22.
3. Walker JJ. Pre-eclampsia. *Lancet* 2000;**356**(9237):1260-5.
4. Gabbe SG, Niebyl JR, *et al.* Obstetrics normal & problem pregnancies. 4th ed. New York, NY: Churchill Livingstone, 2002.
5. Ben Salem F, Ben Salem K, *et al.* [Risk factors for eclampsia: a case-control study]. *Ann Fr Anesth Reanim* 2003;**22**(10):865-9.
6. Myatt L, Cui X. Oxidative stress in the placenta. *Histochem Cell Biol* 2004;**122**(4):369-382.
7. Myatt L, Kossenjans W, *et al.* Oxidative stress causes vascular dysfunction in the placenta. *J Matern Fetal Med* 2000;**9**(1):79-82.
8. Burton GJ, Jauniaux E. Placental oxidative stress: from miscarriage to preeclampsia. *J Soc Gynecol Investig* 2004;**11**(6):342-52.
9. Granger JP, Alexander BT, *et al.* Pathophysiology of preeclampsia: linking placental ischemia/hypoxia with microvascular dysfunction. *Microcirculation* 2002;**9**(3):147-60.
10. Chesley LC. Hypertensive Disorders in Pregnancy 2nd edition. In: Lindheimer, ed, 1999: 453-475.
11. Roberts LJ, Morrow JD. Measurement of F(2)-isoprostanes as an index of oxidative stress in vivo. *Free Radic Biol Med* 2000;**28**(4):505-13.
12. Vassalle C, Botto N, *et al.* Evidence for enhanced 8-isoprostane plasma levels, as index of oxidative stress in vivo, in patients with coronary artery disease. *Coron Artery Dis* 2003;**14**(3):213-8.
13. McKinney ET, Shouri R, *et al.* Plasma, urinary, and salivary 8-epi-prostaglandin f2alpha levels in normotensive and preeclamptic pregnancies. *Am J Obstet Gynecol* 2000;**183**(4):874-7.
14. Chappell LC, Seed PT, *et al.* Effect of antioxidants on the occurrence of pre-eclampsia in women at increased risk: a randomised trial. *Lancet* 1999;**354**(9181):810-6.
15. Chappell LC, Seed PT, *et al.* Vitamin C and E supplementation in women at risk of preeclampsia is associated with changes in indices of oxidative stress and placental function. *Am J Obstet Gynecol* 2002;**187**(3):777-84.

16. Jialal I, Devaraj S, Venugopal SK. Oxidative stress, inflammation, and diabetic vasculopathies: the role of alpha tocopherol therapy. *Free Radic Res* 2002;**36**(12):1331-6.
17. Siems W, Quast S, *et al.* Oxidative stress in chronic renal failure as a cardiovascular risk factor. *Clin Nephrol* 2002;**58 Suppl 1**:S12-9.
18. Chambers JC, Fusi L, *et al.* Association of maternal endothelial dysfunction with preeclampsia. *Jama* 2001;**285**(12):1607-12.
19. Gao M, Nakabayashi M, *et al.* The imbalance of plasminogen activators and inhibitor in preeclampsia. *J Obstet Gynaecol Res* 1996;**22**(1):9-16.
20. Friedman SA, Schiff E, *et al.* Biochemical corroboration of endothelial involvement in severe preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol* 1995;**172**(1 Pt 1):202-3.
21. Reith A, Booth NA, *et al.* Plasminogen activator inhibitors (PAI-1 and PAI-2) in normal pregnancies, pre-eclampsia and hydatidiform mole. *Br J Obstet Gynaecol* 1993;**100**(4):370-4.
22. Roes EM, Sweep CG, *et al.* Levels of plasminogen activators and their inhibitors in maternal and umbilical cord plasma in severe preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol* 2002;**187**(4):1019-25.
23. Masse J, Giguere Y, *et al.* Pathophysiology and maternal biologic markers of preeclampsia. *Endocrine* 2002;**19**(1):113-25.
24. Raijmakers MT, Dechend R, Poston L. Oxidative stress and preeclampsia: rationale for antioxidant clinical trials. *Hypertension* 2004;**44**(4):374-80.
25. Redman CW, Sargent IL. Placental debris, oxidative stress and pre-eclampsia. *Placenta* 2000;**21**(7):597-602.
26. Roberts JM, Hubel CA. Is oxidative stress the link in the two-stage model of pre-eclampsia? *Lancet* 1999;**354**(9181):788-9.
27. Roberts JM, Hubel CA. Oxidative stress in preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol* 2004;**190**(5):1177-8.
28. Dekker GA, Sibai BM. Etiology and pathogenesis of preeclampsia: current concepts. *Am J Obstet Gynecol* 1998;**179**(5):1359-75.
29. Broughton Pipkin F. What is the place of genetics in the pathogenesis of pre-eclampsia? *Biol Neonate* 1999;**76**(6):325-30.
30. Kharfi A, Giguere Y, *et al.* Trophoblastic remodeling in normal and preeclamptic pregnancies: implication of cytokines. *Clin Biochem* 2003;**36**(5):323-31.
31. Roberts JM, Cooper DW. Pathogenesis and genetics of pre-eclampsia. *Lancet* 2001;**357**(9249):53-6.

32. Takiuti NH, Kahhale S, Zugaib M. Stress-related preeclampsia: an evolutionary maladaptation in exaggerated stress during pregnancy? *Med Hypotheses* 2003;**60**(3):328-31.
33. Takiuti NH, Kahhale S, Zugaib M. Stress in pregnancy: a new Wistar rat model for human preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol* 2002;**186**(3):544-50.
34. Kanayama N, Tsujimura R, *et al.* Cold-induced stress stimulates the sympathetic nervous system, causing hypertension and proteinuria in rats. *J Hypertens* 1997;**15**(4):383-9.
35. Khatun S, Kanayama N, *et al.* Induction of preeclampsia like phenomena by stimulation of sympathetic nerve with cold and fasting stress. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 1999;**86**(1):89-97.
36. Hung TH, Skepper JN, Burton GJ. In vitro ischemia-reperfusion injury in term human placenta as a model for oxidative stress in pathological pregnancies. *Am J Pathol* 2001;**159**(3):1031-43.
37. Waite LL, Atwood AK, Taylor RN. Preeclampsia, an implantation disorder. *Rev Endocr Metab Disord* 2002;**3**(2):151-8.
38. Bretelle F, Sabatier F, *et al.* [New insight in physiopathology of preeclampsia and intra-uterine growth retardation: role of inflammation]. *Gynecol Obstet Fertil* 2004;**32**(6):482-9.
39. Alexander BT, Bennett WA, *et al.* Preeclampsia: linking placental ischemia with cardiovascular-renal dysfunction. *News Physiol Sci* 2001;**16**:282-6.
40. Einarsson JI, Sangi-Haghpeykar H, Gardner MO. Sperm exposure and development of preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol* 2003;**188**(5):1241-3.
41. Smith GN, Walker M, *et al.* Increased incidence of preeclampsia in women conceiving by intrauterine insemination with donor versus partner sperm for treatment of primary infertility. *Am J Obstet Gynecol* 1997;**177**(2):455-8.
42. Klonoff-Cohen HS, Savitz DA, *et al.* An epidemiologic study of contraception and preeclampsia. *Jama* 1989;**262**(22):3143-7.
43. Mills JL, Klebanoff MA, *et al.* Barrier contraceptive methods and preeclampsia. *Jama* 1991;**265**(1):70-3.
44. Salonen Ros H, Lichtenstein P, *et al.* Genetic effects on the liability of developing pre-eclampsia and gestational hypertension. *Am J Med Genet* 2000;**91**(4):256-60.
45. Chesley LC, Cooper DW. Genetics of hypertension in pregnancy: possible single gene control of pre-eclampsia and eclampsia in the descendants of eclamptic women. *Br J Obstet Gynaecol* 1986;**93**(9):898-908.
46. Arngrimsson R, Bjornsson S, *et al.* Genetic and familial predisposition to eclampsia and pre-eclampsia in a defined population. *Br J Obstet Gynaecol* 1990;**97**(9):762-9.

47. Lachmeijer AM, Dekker GA, *et al.* Searching for preeclampsia genes: the current position. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2002;**105**(2):94-113.
48. Treloar SA, Cooper DW, *et al.* An Australian twin study of the genetic basis of preeclampsia and eclampsia. *Am J Obstet Gynecol* 2001;**184**(3):374-81.
49. Cincotta RB, Brennecke SP. Family history of pre-eclampsia as a predictor for pre-eclampsia in primigravidas. *Int J Gynaecol Obstet* 1998;**60**(1):23-7.
50. Cooper DW, Liston WA. Genetic control of severe pre-eclampsia. *J Med Genet* 1979;**16**(6):409-16.
51. Cooper DW, Hill JA, *et al.* Genetic control of susceptibility to eclampsia and miscarriage. *Br J Obstet Gynaecol* 1988;**95**(7):644-53.
52. Hnat MD, Sibai BM, *et al.* Perinatal outcome in women with recurrent preeclampsia compared with women who develop preeclampsia as nulliparas. *Am J Obstet Gynecol* 2002;**186**(3):422-6.
53. Sibai BMP, A. Clinical features and prognosis of preeclampsia. In: -, ed. -. - ed. -: UpToDate online 11.3, 2004: -.
54. Sibai BM, Mercer B, Sarinoglu C. Severe preeclampsia in the second trimester: recurrence risk and long-term prognosis. *Am J Obstet Gynecol* 1991;**165**(5 Pt 1):1408-12.
55. Sibai BM, el-Nazer A, Gonzalez-Ruiz A. Severe preeclampsia-eclampsia in young primigravid women: subsequent pregnancy outcome and remote prognosis. *Am J Obstet Gynecol* 1986;**155**(5):1011-6.
56. Llurba E, Gratacos E, *et al.* A comprehensive study of oxidative stress and antioxidant status in preeclampsia and normal pregnancy. *Free Radic Biol Med* 2004;**37**(4):557-70.
57. Alexander S. On the prevention of preeclampsia: nutritional factors back in the spotlight? *Epidemiology* 2002;**13**(4):382-3.
58. Roes EM, Raijmakers MT, *et al.* Deficient detoxifying capacity in the pathophysiology of preeclampsia. *Med Hypotheses* 2000;**55**(5):415-8.
59. Orhan H, Onderoglu L, *et al.* Circulating biomarkers of oxidative stress in complicated pregnancies. *Arch Gynecol Obstet* 2003;**267**(4):189-95.
60. Walsh SW, Vaughan JE, *et al.* Placental isoprostane is significantly increased in preeclampsia. *Faseb J* 2000;**14**(10):1289-96.
61. Barden A, Ritchie J, *et al.* Study of plasma factors associated with neutrophil activation and lipid peroxidation in preeclampsia. *Hypertension* 2001;**38**(4):803-8.
62. Chavarria ME, Lara-Gonzalez L, *et al.* Maternal plasma cellular fibronectin concentrations in normal and preeclamptic pregnancies: a longitudinal study for early prediction of preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol* 2002;**187**(3):595-601.

63. Moretti M, Phillips M, *et al.* Increased breath markers of oxidative stress in normal pregnancy and in preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol* 2004;**190**(5):1184-90.
64. Zhang C, Williams MA, *et al.* Vitamin C and the risk of preeclampsia--results from dietary questionnaire and plasma assay. *Epidemiology* 2002;**13**(4):409-16.
65. Stark JM. Inadequate reducing systems in pre-eclampsia: a complementary role for vitamins C and E with thioredoxin-related activities. *Bjog* 2001;**108**(4):339-43.
66. Davidge ST, Hubel CA, *et al.* Sera antioxidant activity in uncomplicated and preeclamptic pregnancies. *Obstet Gynecol* 1992;**79**(6):897-901.
67. Mikhail MS, Anyaegbunam A, *et al.* Preeclampsia and antioxidant nutrients: decreased plasma levels of reduced ascorbic acid, alpha-tocopherol, and beta-carotene in women with preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol* 1994;**171**(1):150-7.
68. Gratacos E, Casals E, *et al.* Lipid peroxide and vitamin E patterns in pregnant women with different types of hypertension in pregnancy. *Am J Obstet Gynecol* 1998;**178**(5):1072-6.
69. del Carmen Terrones Saldivar M, Juarez FJ, *et al.* Glutathione S-transferases and esterases in placenta after normal and pre-eclamptic pregnancies. *Placenta* 2004;**25**(4):331-6.
70. Plessinger MA, Woods JR, Jr., Miller RK. Pretreatment of human amnion-chorion with vitamins C and E prevents hypochlorous acid-induced damage. *Am J Obstet Gynecol* 2000;**183**(4):979-85.
71. Woods JR, Jr., Plessinger MA, Miller RK. Vitamins C and E: missing links in preventing preterm premature rupture of membranes? *Am J Obstet Gynecol* 2001;**185**(1):5-10.
72. Gulmezoglu AM, Hofmeyr GJ, Oosthuisen MM. Antioxidants in the treatment of severe pre-eclampsia: an explanatory randomised controlled trial. *Br J Obstet Gynaecol* 1997;**104**(6):689-96.
73. Stratta P, Canavese C, *et al.* Vitamin E supplementation in preeclampsia. *Gynecol Obstet Invest* 1994;**37**(4):246-9.
74. Weinbrenner T, Cladellas M, *et al.* High oxidative stress in patients with stable coronary heart disease. *Atherosclerosis* 2003;**168**(1):99-106.
75. Chesley LC, Annitto JE, Cosgrove RA. American Journal of Obstetrics and Gynecology, Volume 124, 1976: The remote prognosis of eclamptic women. Sixth periodic report. *Am J Obstet Gynecol* 2000;**182**(1 Pt 1):247; discussion 248.
76. Smith GC, Pell JP, Walsh D. Pregnancy complications and maternal risk of ischaemic heart disease: a retrospective cohort study of 129,290 births. *Lancet* 2001;**357**(9273):2002-6.
77. Hannaford P, Ferry S, Hirsch S. Cardiovascular sequelae of toxemia of pregnancy. *Heart* 1997;**77**(2):154-8.

78. Ness RB, Markovic N, *et al.* Family history of hypertension, heart disease, and stroke among women who develop hypertension in pregnancy. *Obstet Gynecol* 2003;**102**(6):1366-71.
79. Qiu C, Williams MA, *et al.* Family history of hypertension and type 2 diabetes in relation to preeclampsia risk. *Hypertension* 2003;**41**(3):408-13.
80. Hines RN, McCarver DG. The ontogeny of human drug-metabolizing enzymes: phase I oxidative enzymes. *J Pharmacol Exp Ther* 2002;**300**(2):355-60.
81. McCarver DG, Hines RN. The ontogeny of human drug-metabolizing enzymes: phase II conjugation enzymes and regulatory mechanisms. *J Pharmacol Exp Ther* 2002;**300**(2):361-6.
82. Hayes JD, Pulford DJ. The glutathione S-transferase supergene family: regulation of GST and the contribution of the isoenzymes to cancer chemoprotection and drug resistance. *Crit Rev Biochem Mol Biol* 1995;**30**(6):445-600.
83. Watson MA, Stewart RK, *et al.* Human glutathione S-transferase P1 polymorphisms: relationship to lung tissue enzyme activity and population frequency distribution. *Carcinogenesis* 1998;**19**(2):275-80.
84. Wenzlaff AS, Cote ML, *et al.* GSTM1, GSTT1 and GSTP1 polymorphisms, environmental tobacco smoke exposure and risk of lung cancer among never smokers: a population-based study. *Carcinogenesis* 2004.
85. Sprenger R, Schlagenhauer R, *et al.* Characterization of the glutathione S-transferase GSTT1 deletion: discrimination of all genotypes by polymerase chain reaction indicates a trimodular genotype-phenotype correlation. *Pharmacogenetics* 2000;**10**(6):557-65.
86. Wang L, Groves MJ, *et al.* Glutathione S-transferase enzyme expression in hematopoietic cell lines implies a differential protective role for T1 and A1 isoenzymes in erythroid and for M1 in lymphoid lineages. *Haematologica* 2000;**85**(6):573-9.
87. OMIM Online Mendelian Inheritance in Man. Glutathione S-transferase. Johns Hopkins University ed: Johns Hopkins University, 2000: 1-7.
88. Suzuki T, Board P. Glutathione-S-transferase gene mapped to chromosome 11 is GST3 not GST1. *Somat Cell Mol Genet* 1984;**10**(3):319-20.
89. Bora PS, Guruge BL, *et al.* Human fatty acid ethyl ester synthase-III gene: genomic organization, nucleotide sequencing and chromosomal localization. *Mol Cell Biochem* 1997;**173**(1-2):145-51.
90. Morrow CS, Cowan KH, Goldsmith ME. Structure of the human genomic glutathione S-transferase-pi gene. *Gene* 1989;**75**(1):3-11.
91. Laisney V, Nguyen Van C, *et al.* Human genes for glutathione S-transferases. *Hum Genet* 1984;**68**(3):221-7.

92. Ali-Osman F, Akande O, *et al.* Molecular cloning, characterization, and expression in *Escherichia coli* of full-length cDNAs of three human glutathione S-transferase Pi gene variants. Evidence for differential catalytic activity of the encoded proteins. *J Biol Chem* 1997;**272**(15):10004-12.
93. Board PG, Webb GC, Coggan M. Isolation of a cDNA clone and localization of the human glutathione S-transferase 3 genes to chromosome bands 11q13 and 12q13-14. *Ann Hum Genet* 1989;**53** (Pt 3):205-13.
94. Zimniak P, Nanduri B, *et al.* Naturally occurring human glutathione S-transferase GSTP1-1 isoforms with isoleucine and valine in position 104 differ in enzymic properties. *Eur J Biochem* 1994;**224**(3):893-9.
95. Ryberg D, Skaug V, *et al.* Genotypes of glutathione transferase M1 and P1 and their significance for lung DNA adduct levels and cancer risk. *Carcinogenesis* 1997;**18**(7):1285-9.
96. Hu X, Xia H, *et al.* Catalytic efficiencies of allelic variants of human glutathione S-transferase P1-1 toward carcinogenic anti-diol epoxides of benzo[c]phenanthrene and benzo[g]chrysene. *Cancer Res* 1998;**58**(23):5340-3.
97. Spurdle AB, Webb PM, *et al.* Polymorphisms at the glutathione S-transferase GSTM1, GSTT1 and GSTP1 loci: risk of ovarian cancer by histological subtype. *Carcinogenesis* 2001;**22**(1):67-72.
98. Jeronimo C, Varzim G, *et al.* I105V polymorphism and promoter methylation of the GSTP1 gene in prostate adenocarcinoma. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2002;**11**(5):445-50.
99. Harries LW, Stubbins MJ, *et al.* Identification of genetic polymorphisms at the glutathione S-transferase Pi locus and association with susceptibility to bladder, testicular and prostate cancer. *Carcinogenesis* 1997;**18**(4):641-4.
100. Ohta K, Kobashi G, *et al.* Association between a variant of the glutathione S-transferase P1 gene (GSTP1) and hypertension in pregnancy in Japanese: interaction with parity, age, and genetic factors. *Semin Thromb Hemost* 2003;**29**(6):653-9.
101. Zusterzeel PL, Visser W, *et al.* Polymorphism in the glutathione S-transferase P1 gene and risk for preeclampsia. *Obstet Gynecol* 2000;**96**(1):50-4.
102. Sundberg K, Johansson AS, *et al.* Differences in the catalytic efficiencies of allelic variants of glutathione transferase P1-1 towards carcinogenic diol epoxides of polycyclic aromatic hydrocarbons. *Carcinogenesis* 1998;**19**(3):433-6.
103. Forsberg L, de Faire U, Morgenstern R. Oxidative stress, human genetic variation, and disease. *Arch Biochem Biophys* 2001;**389**(1):84-93.
104. Pearson WR, Vorachek WR, *et al.* Identification of class-mu glutathione transferase genes GSTM1-GSTM5 on human chromosome 1p13. *Am J Hum Genet* 1993;**53**(1):220-33.

105. Brockmoller J, Kerb R, *et al.* Genotype and phenotype of glutathione S-transferase class mu isoenzymes mu and psi in lung cancer patients and controls. *Cancer Res* 1993;**53**(5):1004-11.
106. Xu S, Wang Y, *et al.* Characterization of the human class Mu glutathione S-transferase gene cluster and the GSTM1 deletion. *J Biol Chem* 1998;**273**(6):3517-27.
107. Ada AO, Suzen SH, Iscan M. Polymorphisms of cytochrome P450 1A1, glutathione S-transferases M1 and T1 in a Turkish population. *Toxicol Lett* 2004;**151**(1):311-5.
108. Kerb R, Brockmoller J, *et al.* Detection of the GSTM1*0 allele by long polymerase chain reaction. *Pharmacogenetics* 1999;**9**(1):89-94.
109. Abdel-Rahman SZ, el-Zein RA, *et al.* A multiplex PCR procedure for polymorphic analysis of GSTM1 and GSTT1 genes in population studies. *Cancer Lett* 1996;**107**(2):229-33.
110. Masetti S, Botto N, *et al.* Interactive effect of the glutathione S-transferase genes and cigarette smoking on occurrence and severity of coronary artery risk. *J Mol Med* 2003;**81**(8):488-94.
111. Habdous M, Siest G, *et al.* [Glutathione S-transferases genetic polymorphisms and human diseases: overview of epidemiological studies]. *Ann Biol Clin (Paris)* 2004;**62**(1):15-24.
112. Tamer L, Ercan B, *et al.* Glutathione S-transferase gene polymorphism as a susceptibility factor in smoking-related coronary artery disease. *Basic Res Cardiol* 2004;**99**(3):223-9.
113. Zhong S, Wyllie AH, *et al.* Relationship between the GSTM1 genetic polymorphism and susceptibility to bladder, breast and colon cancer. *Carcinogenesis* 1993;**14**(9):1821-4.
114. Rebbeck TR. Molecular epidemiology of the human glutathione S-transferase genotypes GSTM1 and GSTT1 in cancer susceptibility. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 1997;**6**(9):733-43.
115. Schroder KR, Hallier E, *et al.* Purification and characterization of a new glutathione S-transferase, class theta, from human erythrocytes. *Arch Toxicol* 1996;**70**(9):559-66.
116. Pemble S, Schroeder KR, *et al.* Human glutathione S-transferase theta (GSTT1): cDNA cloning and the characterization of a genetic polymorphism. *Biochem J* 1994;**300** (Pt 1):271-6.
117. Peter H, Deutschmann S, *et al.* Metabolism of methyl chloride by human erythrocytes. *Arch Toxicol* 1989;**63**(5):351-5.
118. Webb G, Vaska V, *et al.* Chromosomal localization of the gene for the human theta class glutathione transferase (GSTT1). *Genomics* 1996;**33**(1):121-3.

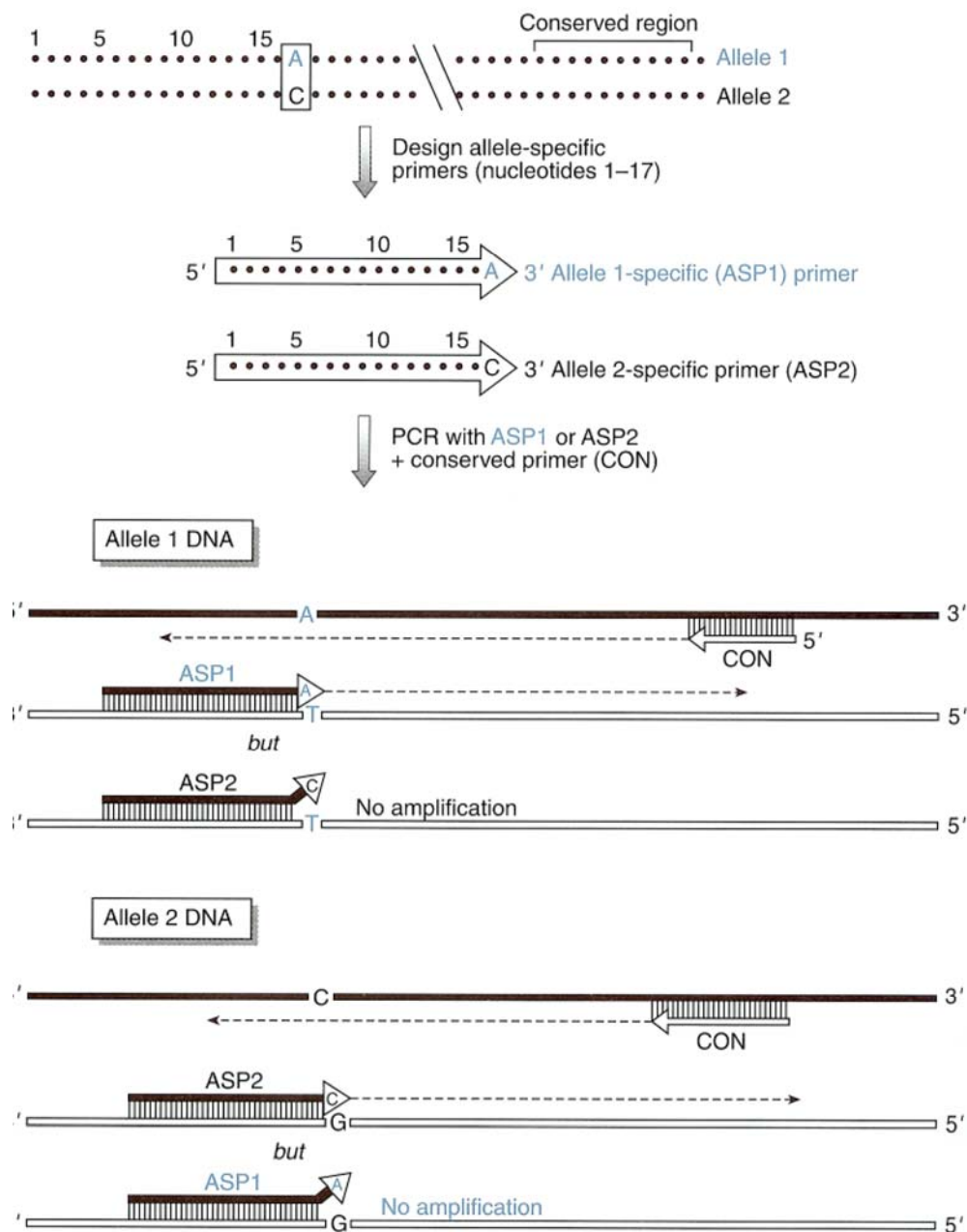
119. To-Figueras J, Gene M, *et al.* Glutathione S-transferase M1 (GSTM1) and T1 (GSTT1) polymorphisms and lung cancer risk among Northwestern Mediterraneans. *Carcinogenesis* 1997;**18**(8):1529-33.
120. Ambrosone CB, Sweeney C, *et al.* Polymorphisms in glutathione S-transferases (GSTM1 and GSTT1) and survival after treatment for breast cancer. *Cancer Res* 2001;**61**(19):7130-5.
121. Wang X, Zuckerman B, *et al.* Maternal cigarette smoking, metabolic gene polymorphism, and infant birth weight. *Jama* 2002;**287**(2):195-202.
122. Persson I, Johansson I, Ingelman-Sundberg M. In vitro kinetics of two human CYP1A1 variant enzymes suggested to be associated with interindividual differences in cancer susceptibility. *Biochem Biophys Res Commun* 1997;**231**(1):227-30.
123. Hayashi SI, Watanabe J, *et al.* PCR detection of an A/G polymorphism within exon 7 of the CYP1A1 gene. *Nucleic Acids Res* 1991;**19**(17):4797.
124. Crofts F, Taioli E, *et al.* Functional significance of different human CYP1A1 genotypes. *Carcinogenesis* 1994;**15**(12):2961-3.
125. Kawajiri K, Nakachi K, *et al.* The CYP1A1 gene and cancer susceptibility. *Crit Rev Oncol Hematol* 1993;**14**(1):77-87.
126. Wang XL, Raveendran M, Wang J. Genetic influence on cigarette-induced cardiovascular disease. *Prog Cardiovasc Dis* 2003;**45**(5):361-82.
127. Hartsfield JK, Jr., Sutcliffe MJ, *et al.* Assignment1 of microsomal epoxide hydrolase (EPHX1) to human chromosome 1q42.1 by in situ hybridization. *Cytogenet Cell Genet* 1998;**83**(1-2):44-5.
128. Zusterzeel PL, Peters WH, *et al.* A polymorphism in the gene for microsomal epoxide hydrolase is associated with pre-eclampsia. *J Med Genet* 2001;**38**(4):234-7.
129. Hassett C, Robinson KB, *et al.* The human microsomal epoxide hydrolase gene (EPHX1): complete nucleotide sequence and structural characterization. *Genomics* 1994;**23**(2):433-42.
130. Rodriguez F, Jardi R, *et al.* Detection of polymorphisms at exons 3 (Tyr113-->His) and 4 (His139-->Arg) of the microsomal epoxide hydrolase gene using fluorescence PCR method combined with melting curves analysis. *Anal Biochem* 2002;**308**(1):120-6.
131. Hassett C, Aicher L, *et al.* Human microsomal epoxide hydrolase: genetic polymorphism and functional expression in vitro of amino acid variants. *Hum Mol Genet* 1994;**3**(3):421-8.
132. Andrews KL, Triggle CR, Ellis A. NO and the vasculature: where does it come from and what does it do? *Heart Fail Rev* 2002;**7**(4):423-45.
133. Lowe DT. Nitric oxide dysfunction in the pathophysiology of preeclampsia. *Nitric Oxide* 2000;**4**(4):441-58.

134. Schroeder RA, Kuo PC. Nitric oxide: physiology and pharmacology. *Anesth Analg* 1995;**81**(5):1052-9.
135. Imamura A, Okumura K, *et al.* Endothelial nitric oxide synthase and methylenetetrahydrofolate reductase gene polymorphisms are associated with endothelial dysfunction in young, healthy men. *Can J Cardiol* 2004;**20**(12):1229-34.
136. Nakayama T, Soma M, *et al.* Association analysis of CA repeat polymorphism of the endothelial nitric oxide synthase gene with essential hypertension in Japanese. *Clin Genet* 1997;**51**(1):26-30.
137. Miyamoto Y, Saito Y, *et al.* Endothelial nitric oxide synthase gene is positively associated with essential hypertension. *Hypertension* 1998;**32**(1):3-8.
138. Kobashi G, Yamada H, *et al.* Endothelial nitric oxide synthase gene (NOS3) variant and hypertension in pregnancy. *Am J Med Genet* 2001;**103**(3):241-4.
139. Yoshimura T, Yoshimura M, *et al.* Association of the missense Glu298Asp variant of the endothelial nitric oxide synthase gene with severe preeclampsia. *J Soc Gynecol Investig* 2000;**7**(4):238-41.
140. Tsujita Y, Baba S, *et al.* Association analyses between genetic polymorphisms of endothelial nitric oxide synthase gene and hypertension in Japanese: The Suita Study. *J Hypertens* 2001;**19**(11):1941-8.
141. Chen W, Srinivasan SR, *et al.* Combined effects of endothelial nitric oxide synthase gene polymorphism (G894T) and insulin resistance status on blood pressure and familial risk of hypertension in young adults: the Bogalusa Heart Study. *Am J Hypertens* 2001;**14**(10):1046-52.
142. Asakimori Y, Yorioka N, *et al.* Association between ENOS gene polymorphism and cardiovascular events in nondiabetic hemodialysis patients: a prospective study. *Am J Kidney Dis* 2004;**44**(1):112-20.
143. Chrysohoou C, Panagiotakos DB, *et al.* Evidence for association between endothelial nitric oxide synthase gene polymorphism (G894T) and inflammatory markers: the ATTICA study. *Am Heart J* 2004;**148**(4):733-8.
144. Guo G, Lade JA, *et al.* Genetic susceptibility to pre-eclampsia and chromosome 7q36. *Hum Genet* 1999;**105**(6):641-7.
145. Arngrimsson R, Hayward C, *et al.* Evidence for a familial pregnancy-induced hypertension locus in the eNOS-gene region. *Am J Hum Genet* 1997;**61**(2):354-62.
146. Schneider MP, Erdmann J, *et al.* Functional gene testing of the Glu298Asp polymorphism of the endothelial NO synthase. *J Hypertens* 2000;**18**(12):1767-73.
147. Tanus-Santos JE, Desai M, Flockhart DA. Effects of ethnicity on the distribution of clinically relevant endothelial nitric oxide variants. *Pharmacogenetics* 2001;**11**(8):719-25.

148. Seligman SP, Buyon JP, *et al.* The role of nitric oxide in the pathogenesis of preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol* 1994;**171**(4):944-8.
149. Yallampalli C, Garfield RE. Inhibition of nitric oxide synthesis in rats during pregnancy produces signs similar to those of preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol* 1993;**169**(5):1316-20.
150. Sakawi Y, Tarpey M, *et al.* Evaluation of low-dose endotoxin administration during pregnancy as a model of preeclampsia. *Anesthesiology* 2000;**93**(6):1446-55.
151. Forsberg L, Lyrenas L, *et al.* A common functional C-T substitution polymorphism in the promoter region of the human catalase gene influences transcription factor binding, reporter gene transcription and is correlated to blood catalase levels. *Free Radic Biol Med* 2001;**30**(5):500-5.
152. Jiang Z, Akey JM, *et al.* A polymorphism in the promoter region of catalase is associated with blood pressure levels. *Hum Genet* 2001;**109**(1):95-8.
153. Mates JM, Perez-Gomez C, Nunez de Castro I. Antioxidant enzymes and human diseases. *Clin Biochem* 1999;**32**(8):595-603.
154. Lacy F, O'Connor DT, Schmid-Schonbein GW. Plasma hydrogen peroxide production in hypertensives and normotensive subjects at genetic risk of hypertension. *J Hypertens* 1998;**16**(3):291-303.
155. Mitrunen K, Hirvonen A. Molecular epidemiology of sporadic breast cancer. The role of polymorphic genes involved in oestrogen biosynthesis and metabolism. *Mutat Res* 2003;**544**(1):9-41.
156. Sikkema JM, van Rijn BB, *et al.* Placental superoxide is increased in pre-eclampsia. *Placenta* 2001;**22**(4):304-8.
157. Wang Y, Walsh SW. Placental mitochondria as a source of oxidative stress in pre-eclampsia. *Placenta* 1998;**19**(8):581-6.
158. Ilhan N, Simsek M. The changes of trace elements, malondialdehyde levels and superoxide dismutase activities in pregnancy with or without preeclampsia. *Clin Biochem* 2002;**35**(5):393-7.
159. Melov S, Coskun P, *et al.* Mitochondrial disease in superoxide dismutase 2 mutant mice. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1999;**96**(3):846-51.
160. Rosenblum JS, Gilula NB, Lerner RA. On signal sequence polymorphisms and diseases of distribution. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1996;**93**(9):4471-3.
161. Millikan RC, Player J, *et al.* Manganese superoxide dismutase Ala-9Val polymorphism and risk of breast cancer in a population-based case-control study of African Americans and whites. *Breast Cancer Res* 2004;**6**(4):R264-74.
162. Shimoda-Matsubayashi S, Matsumine H, *et al.* Structural Dimorphism in the Mitochondrial Targeting Sequence in the Human Manganese Superoxide Dismutase Gene. *Biochem Biophys Res Commun* 1996;**226**(2):561-5.

163. Hong YC, Lee KH, *et al.* Genetic susceptibility of term pregnant women to oxidative damage. *Toxicol Lett* 2002;**129**(3):255-62.
164. Kocabas NA, Sardas S, *et al.* Genetic polymorphism of manganese superoxide dismutase (MnSOD) and breast cancer susceptibility. *Cell Biochem Funct* 2004.
165. Sutton A, Khoury H, *et al.* The Ala16Val genetic dimorphism modulates the import of human manganese superoxide dismutase into rat liver mitochondria. *Pharmacogenetics* 2003;**13**(3):145-57.
166. Mitrunen K, Sillanpaa P, *et al.* Association between manganese superoxide dismutase (MnSOD) gene polymorphism and breast cancer risk. *Carcinogenesis* 2001;**22**(5):827-9.
167. Fairchild TA, Fulton D, *et al.* Acidic hydrolysis as a mechanism for the cleavage of the Glu(298)-->Asp variant of human endothelial nitric-oxide synthase. *J Biol Chem* 2001;**276**(28):26674-9.
168. Afrasyap L, Ozturk G. NO level and endothelial NO synthase gene polymorphism (Glu298Asp) in the patients with coronary artery disease from the Turkish population. *Acta Biochim Biophys Sin (Shanghai)* 2004;**36**(10):661-6.
169. Henderson CJ, Wolf CR, *et al.* Increased resistance to acetaminophen hepatotoxicity in mice lacking glutathione S-transferase Pi. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2000;**97**(23):12741-5.
170. Wilson MH, Grant PJ, *et al.* Glutathione S-transferase M1 null genotype is associated with a decreased risk of myocardial infarction. *Faseb J* 2000;**14**(5):791-6.
171. Wilson MH, Grant PJ, *et al.* Association between the risk of coronary artery disease in South Asians and a deletion polymorphism in glutathione S-transferase M1. *Biomarkers* 2003;**8**(1):43-50.
172. MacLeod S, Sinha R, *et al.* Polymorphisms of CYP1A1 and GSTM1 influence the in vivo function of CYP1A2. *Mutat Res* 1997;**376**(1-2):135-42.
173. Laasanen J, Romppanen EL, *et al.* Two exonic single nucleotide polymorphisms in the microsomal epoxide hydrolase gene are jointly associated with preeclampsia. *Eur J Hum Genet* 2002;**10**(9):569-73.
174. Hakli T, Romppanen EL, *et al.* Endothelial nitric oxide synthase polymorphism in preeclampsia. *J Soc Gynecol Investig* 2003;**10**(3):154-7.
175. Landau R, Xie HG, *et al.* No association of the Asp298 variant of the endothelial nitric oxide synthase gene with preeclampsia. *Am J Hypertens* 2004;**17**(5 Pt 1):391-4.
176. Wang Y, Walsh SW. Increased superoxide generation is associated with decreased superoxide dismutase activity and mRNA expression in placental trophoblast cells in pre-eclampsia. *Placenta* 2001;**22**(2-3):206-12.

Appendice : Illustration de la méthode d'ASO-PCR



Tirée de STRACHAN, T. et READ, A.P. ; *Human Molecular Genetics*, 1999

