



Thèse

2007

Open Access

This version of the publication is provided by the author(s) and made available in accordance with the copyright holder(s).

L'hormone chorionique gonadotrophique et l'alpha-foetoprotéine : leur corrélation avec la pré-éclampsie

Romoscanu, Ilinca

How to cite

ROMOSCANU, Ilinca. L'hormone chorionique gonadotrophique et l'alpha-foetoprotéine : leur corrélation avec la pré-éclampsie. Doctoral Thesis, 2007. doi: 10.13097/archive-ouverte/unige:450

This publication URL: <https://archive-ouverte.unige.ch/unige:450>

Publication DOI: [10.13097/archive-ouverte/unige:450](https://doi.org/10.13097/archive-ouverte/unige:450)

UNIVERSITE DE GENEVE

FACULTE DE MEDECINE

Section de Médecine clinique

Département de Gynécologie-Obstétrique

Thèse préparée sous la direction du Docteur Didier Chardonnens, PD

**L'HORMONE CHORIONIQUE GONADOTROPHIQUE
ET L'ALPHA-FOETOPROTEINE :
LEUR CORRELATION AVEC LA PRE-ECLAMPSIE**

THESE

Présentée à la Faculté de Médecine
de l'Université de Genève
pour l'obtention du grade de Docteur en médecine

par

Ilinca ROMOSCANU

de

Carouge (Genève)

Thèse N° 10496

Genève

2007

Table des matières

Remerciements	4
Résumé	5
1. Introduction	6
1.1. Généralités	6
1.2. Physiologie de l'angiogénèse placentaire	7
1.2.1. Régulation non-hormonale de l'angiogénèse	10
1.2.1.1. Facteurs de croissance	10
1.2.1.2. Expression des molécules d'adhésion	12
1.2.1.3. Dégradation de la matrice extracellulaire	12
1.2.2. Régulation hormonale de l'angiogénèse	13
1.2.2.1. Les hormones protéiniques dont l'hCG	13
1.2.2.2. Les hormones stéroïdiennes	19
1.2.2.3. L'alpha-foetoprotéine	21
1.2.3. Dépistage prénatal	23
1.2.3.1. Dépistage du deuxième trimestre	23
1.2.3.2. Dépistage du premier trimestre	26
1.2.3.3. Défaut de fermeture du tube neural	29
1.3. Pré-éclampsie	29
1.3.1. Physiopathologie de la pré-éclampsie	29
1.3.1.1. Facteurs de croissance	29
1.3.1.2. Marqueurs biologiques et biophysiques	33
1.3.1.3. Implication du système immunitaire.	37
1.3.1.4. Facteurs génétiques	39
1.3.2. Traduction clinique de la pré-éclampsie	40
1.3.2.1. L'hypertension artérielle durant la grossesse	40

1.3.2.2.	Facteurs de risque de la pré-éclampsie . . .	42
1.3.2.3.	Clinique et complications	43
1.3.2.4.	Examens paracliniques.	44
1.3.2.5.	Morbidité et mortalité de l'hypertension gravidique et de la pré-éclampsie	44
1.4.	Objectif de ce travail	45
2.	Matériel et méthodes	46
2.1.	Généralités	46
2.2.	Choix des patientes	47
2.2.1.	Critères d'inclusion	47
2.2.2.	Critères d'exclusion	48
2.3.	Groupes	48
2.4.	Méthodologie des dosages	49
2.4.1.	Fraction libre β hCG	49
2.4.2.	Alpha-foetoprotéine	50
2.5.	Procédure	50
2.6.	Traitement	51
2.7.	Données d'intérêt	51
2.8.	Méthodologie statistique	52
3.	Résultats	52
3.1.	Description des groupes	52
3.2.	Caractéristiques maternelles	53
3.3.	Caractéristiques des nouveau-nés	55
3.4.	Comparaison patientes multipares et primipares	58
3.5.	Résultats β hCG	60
3.5.1.	Pré-éclampsie versus témoins	60
3.5.2.	Pré-éclampsie sévère versus pré-éclampsie modérée	61
3.5.3.	Synthèse des résultats de la fraction libre de β hCG	62

3.6. Résultats AFP	63
3.6.1. Pré-éclampsie versus témoins	63
3.6.2. Pré-éclampsie sévère versus témoins	64
3.6.3. Pré-éclampsie sévère versus pré-éclampsie modérée	64
3.6.4. Synthèse des résultats de l'AFP	65
4. Discussion	68
4.1. hCG et pré-éclampsie	70
4.2. Alpha-foetoprotéine et pré-éclampsie	75
4.3. Discussions diverses	77
5. Conclusion	78
6. Bibliographie	83

Remerciements

Ces quelques lignes pour citer les personnes qui m'ont aidée à mener à terme ce travail et que je souhaite sincèrement remercier.

Il s'agit du Dr. Didier Chardonens, PD, pour m'avoir acceptée comme doctorante, m'avoir soutenue et pris de son temps pour ce long travail. Ses nombreux conseils m'ont aidée à mettre sur pied cette thèse.

Dr. Paul Bischof m'a donné accès à la base de données du laboratoire d'Hormonologie de la Maternité de l'Hôpital Universitaire Cantonal de Genève. Je le remercie aussi pour sa précieuse aide dans l'analyse de ces données, ainsi que pour ses réponses à mes nombreuses questions.

L'aide du Dr Michel Boulvain m'a été également très précieuse: il m'a initiée à la critique constructive de la littérature et il m'a appris, pendant la préparation de ce travail, les principes de la statistique.

Je remercie également le Prof. O. Irion, responsable du département d'obstétrique, de m'avoir fait part, régulièrement, de ses connaissances théoriques et cliniques sur la pré-éclampsie.

Je remercie également les archivistes du département de gynécologie-obstétrique.

Je veux faire part à mes proches et surtout à mes parents de ma reconnaissance pour leur soutien et leur insistance à me pousser vers l'avant. Je les remercie du fond du cœur.

Résumé

La pré-éclampsie, dont l'étiologie reste mal connue, est probablement due à une déficience de la vascularisation placentaire suite à la perturbation de l'invasion du trophoblaste avec la libération de facteurs inconnus. Cette maladie, dont l'incidence est de 4 à 7%, met en jeu la vie maternelle et foetale. Les mécanismes n'étant pas tous élucidés, aucune mesure préventive ou prédictive n'existe jusqu'à ce jour. Des études sur les marqueurs placentaires sont en cours, dans le but d'identifier précocement les patientes à risque qui nécessitent un suivi approprié ou un traitement préventif.

La β hCG, fraction β libre de l'hormone chorionique gonadotrophique (hCG) et l'**alpha-foetoprotéine (AFP)** sont des marqueurs dosés durant la grossesse. L'objet de cette étude est de déterminer si ces hormones sont des marqueurs précoces de la pré-éclampsie.

Ce travail rétrospectif étudie un échantillon de 151 femmes primipares avec une grossesse unique, suivies dans le Département de Gynécologie et Obstétrique de l'Hôpital cantonal de Genève (prises de sang, consultations et accouchement) de 1994 à 1999. Il comprend 112 femmes appartenant au groupe témoin (T) et 39 au groupe pré-éclampsie (PE), selon la définition de l'ACOG (American College of Obstetricians-Gynecologists, 2002). La fraction β libre de l'hCG libre et l'AFP ont été mesurées par un Kryptor immunoassay.

Chez les patientes ayant présenté une pré-éclampsie, on note une augmentation significative de l'AFP du second trimestre. L'augmentation est plus marquée en fonction de la gravité de la pré-éclampsie.

Les variations de la β HCG libre entre le groupe témoin et le groupe de pré-éclampsie ne sont pas significatives.

Les femmes ayant une AFP augmentée devraient bénéficier facilement d'un suivi plus rapproché. L'AFP, associée à d'autres tests diagnostiques, pourrait nous aider à mieux évaluer le risque de pré-éclampsie et de mettre en place une prévention primaire de la pré-éclampsie.

1. Introduction

1.1. Généralités

Le développement de nouveaux vaisseaux, la néovascularisation, inclut la *vasculogénèse* et l'*angiogénèse*.

La première, la *vasculogénèse*, donne lieu exclusivement chez l'embryon au développement de son système vasculaire grâce à la différenciation des cellules mésenchymateuses et des hémangioblastes (Poole et al., 1989) qui seront les précurseurs des cellules endothéliales ainsi que des cellules sanguines.

La deuxième, l'*angiogénèse*, est impliquée dans de nombreuses situations physiologiques mais répond aussi à de nombreux stimuli pathologiques. Ce processus se trouve à la base du fonctionnement de multiples maladies, autant tumorales que non.

Le bon fonctionnement du système de reproduction chez la femme repose en partie sur le processus d'angiogénèse, tant au niveau des différents organes comme les ovaires, l'utérus, la glande mammaire, que pour tout le processus de l'implantation et de la placentation.

La naissance d'un bébé en bonne santé à terme dépend donc intimement de ce processus d'angiogénèse qui est régulé de façon spectaculaire, dans l'espace et dans le temps.

Dans certaines pathologies de la grossesse, l'angiogénèse est perturbée et peut entraîner des nombreuses complications de la grossesse : des fausses couches précoces et tardives, des morts in utero, des retards de croissance intra-utérine (RCIU), une prématurité et des pré-éclampsies (Kingdom et al., 2000).

La compréhension de la physiologie de l'angiogénèse, des facteurs de croissance impliqués et de l'environnement dans laquelle elle a lieu, pourrait non seulement nous faire avancer dans la prévention et le traitement des pathologies obstétricales dont les conséquences sont

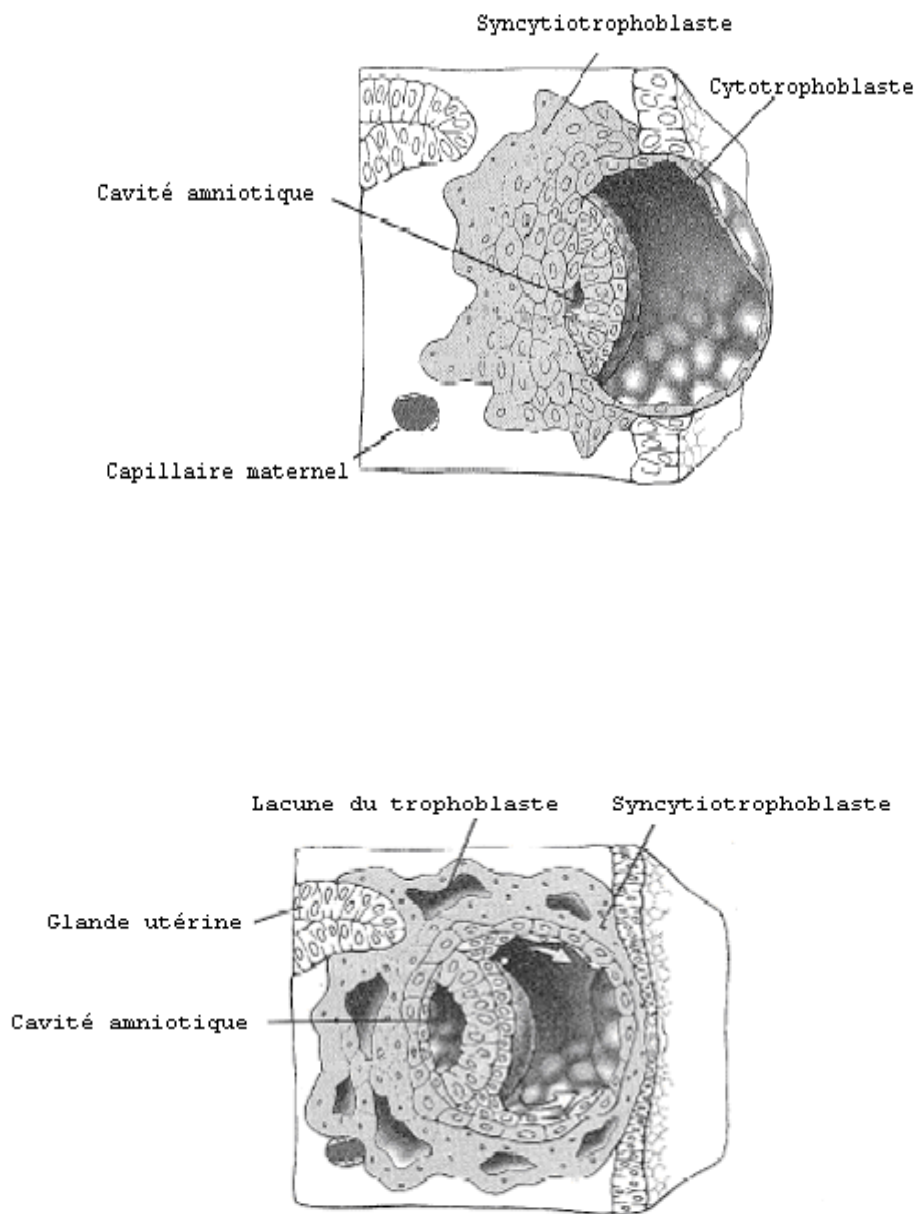
lourdes, mais aussi nous permettre d'élargir nos connaissances dans de nombreux autres domaines médicaux, y compris les maladies tumorale.

1.2. Physiologie de l'angiogénèse placentaire

La placentation commence avec l'implantation du blastocyte sous l'épithélium utérin et la différenciation en tissu embryonnaire (le bouton embryonnaire) et extra-embryonnaire (le trophoblaste).

Les cellules du bouton embryonnaire prennent la forme d'un disque dès la deuxième semaine; au bout de la troisième semaine, trois zones se distinguent: l'ectoblaste qui donnera l'épiderme et le tissu nerveux; l'endoblaste qui donnera les glandes digestives et les épithélia digestifs et respiratoires et, au milieu, le mésoblaste qui donnera le squelette, les muscles, l'appareil circulatoire et les organes génitaux et urinaires.

Le bouton extra-embryonnaire prolifère, se ramifie comme des racines, en érodant la muqueuse utérine. Ces cellules trophoblastiques vont se différencier de deux manières différentes: soit elles fusionnent par leurs extrémités et forment le syncytiotrophoblaste qui recouvre les villosités flottantes et qui maintient les échanges entre le fœtus et la mère (gaz, nutriments), soit elles se rejoignent en amas et forment une colonne de cytotrophoblaste au sommet des villosités crampons et pénètrent le premier tiers du myomètre. Le syncytiotrophoblaste va rapidement se creuser de lacunes confluentes remplies peu à peu de sang maternel grâce à l'érosion des vaisseaux maternels (cf. Fig.1a et 1b).



Figures 1a et b. Implantation du blastocyte (d'après Larsen, 2003)

Plus précisément, les unités de structure du placenta sont les villosités chorales. Leur développement se déroule ainsi: la formation des structures villositaires commence vers le 12^e jour post-ovulatoire dès que le cytotrophoblaste débute une multiplication cellulaire intense et dirigée en cordon dans le myomètre pour en dessiner des axes puis des

excroissances qui prolifèrent latéralement dans l'espace intervilloux. Aussi longtemps que ces excroissances sont composées de cytotrophoblaste seulement, elles sont dénommées villosités primaires. Au 21^e jour, celles-ci sont envahies par du tissu mésenchymateux extra-embryonnaire (villosités secondaires), puis par la formation de vaisseaux sanguins foeto-placentaires due à un processus de vasculogénèse (env. à la 5^e-6^e semaine). Ces villosités tertiaires ou mésenchymateuses, par un processus d'angiogénèse arborescente (*branching angiogenesis*), vont se transformer en villosités intermédiaires immatures. Ce type d'angiogénèse, pour son bon déroulement, doit avoir lieu dans un environnement relativement hypoxique. Puis, il se produit une chute de l'impédance vasculaire foeto-placentaire, qui est due à l'invasion du trophoblaste à l'intérieur des artères utérines spiralées, et qui induit l'augmentation de l'afflux sanguin au fœtus. Le trophoblaste migre préférentiellement en direction des artères spiralées maternelles. Il déplace et remplace les cellules endothéliales de ces artères maternelles. Ces cellules trophoblastiques y entraînent de profonds remaniements de la structure de ces artères. Ceux-ci se caractérisent par l'apparition d'un oedème, une disparition de l'endothélium et la destruction de la tunique musculaire et des lames élastiques internes, remplacées par un matériel fibreux. Ainsi, seules les artères entourées de trophoblaste montrent d'importantes altérations de leurs structures. Ces remaniements structuraux permettent aux artères d'échapper aux mécanismes normaux du contrôle neurovasculaire et aux médiateurs du tonus vasculaire (prostaglandines, endothélines, monoxyde d'azote, ...). Ce processus, appelé conversion, transforme ces artères spiralées en des vaisseaux dilatés, de plus basse résistance et de haut débit. Ces adaptations physiologiques assurent une augmentation importante du débit sanguin en direction du placenta. Cette conversion doit se dérouler à la fin du premier trimestre pour que la grossesse continue de manière optimale (Goldmann-Wohl et al., 2002). Dans la pré-éclampsie, le remodelage de ces artères spiralées serait déficient (Matijevic et al., 1999; Meekins et al., 1994).

La dernière partie de cette angiogénèse arborescente est caractérisée par une forte perte de stroma et une augmentation de la concentration des capillaires. Les villosités intermédiaires immatures centrales vont se transformer en tronc villositaire par la régression du réseau capillaire périphérique et la différenciation en artérioles et en veinules des capillaires centraux.

Aux environs de la 24^e-26^e semaine, une fois la viabilité du fœtus atteinte, un changement dans le développement des villosités placentaires apparaît. Par une angiogénèse non arborescente (*non-branching angiogenesis*), les villosités mésenchymateuses se transforment en villosités intermédiaires enfin matures où la croissance des capillaires excède la croissance des villosités elles-mêmes. Ces boucles de capillaires qui prolagent latéralement comme des bombements dans le trophoblaste adjacent apportent le sang fœtal encore plus près de l'espace intravilleux pour former les villosités terminales (TV). Ces villosités terminales apparaissent exponentiellement pendant le troisième trimestre de la grossesse (Kingdom et al., 2000). Cette angiogénèse non arborescente se déroule dans un milieu normoxique.

1.2.1. Régulation non-hormonale de l'angiogénèse

1.2.1.1. Facteurs de croissance

Un certain nombre de facteurs de croissance angiogénique sont produits et localisés dans le placenta humain: les *fibroblast growth factors* (FGF) (Ferriani et al., 1994; Shams et al., 1994; Mulhauser et al., 1996), le *related factor placenta growth factor* (PlGF) (Khaliq et al., 1996; Vuorela et al., 1997), le *hepatocyte growth factor* (HGF) (Kilby et al., 1996) et le *vascular endothelial growth factor* (VEGF), qui a été le mieux étudié jusqu'à aujourd'hui (Sharkey et al., 1993; Ahmed et al., 2000; Wheeler et al., 1995; Shore et al., 1997; Vuorela et al., 1997).

Leurs récepteurs ont été localisés dans le placenta humain. Plusieurs études ont démontré que **VEGF** et ses récepteurs qui sont VEGF-R1 (Flt-1), VEGF-R2 (Flk-1/KDR) (Mulhauser et al., 1995; Ahmed et al., 1995, Clark et al., 1996; Shore et al., 1997) étaient les facteurs de croissance

angiogénique clefs dans les conditions physiologiques et pathologiques de la placentation (Ahmed et al., 2000). Ce facteur de croissance est exprimé dans les villosités trophoblastiques et les macrophages du stroma et peut être détecté dans le sang maternel à la 6^e semaine de gestation pour diminuer à la fin du 2^e trimestre.

La transcription du VEGF est induite par le facteur 1 de la transcription induit à son tour par l'hypoxie (*le transcription factor hypoxia induced factor 1*) (HIF-1) qui est produit dans le placenta. Couplé au VEGF, VEGF-R2 induit une prolifération de cellules endothéliales et VEGF-R1 stimule la formation de tubes endothéliaux (Caniggia et al., 1999; Breier et al., 2000). De ces deux éléments résulte l'angiogénèse arborescente.

Dès le 3^e trimestre, il se produit une diminution de la sécrétion de VEGF et, parallèlement, une augmentation de la production de PIGF dans le trophoblaste villositaire et extravillous (Khaliq et al., 1996; Crescimanno et al., 2000). L'ARN messager de PIGF augmente avec les semaines de gestation, contrairement au VEGF. Cette sécrétion est stimulée par l'oxygène. Uniquement le VEGF-R1 est stimulé par PIGF, contrairement à VEGF-R2, ce qui induit seulement la formation de tubes endothéliaux. Cette modification graduelle de la balance entre VEGF et PIGF pourrait expliquer le changement de l'angiogénèse arborescente à une angiogénèse non-arborescente avec la formation de villosités terminales et l'inhibition des arbres capillaires (Kinquard et al., 2000). L'hypoxie augmente le VEGF et l'oxygène augmente le PIGF (Khaliq et al., 1999).

Un autre facteur de croissance, le TGF- β , produit à l'interface foeto-maternelle, semble être également un facteur très important dans la régulation de l'invasion trophoblastique. Cette invasion dépend de plusieurs étapes qui se succèdent: la prolifération cellulaire, un changement dans l'expression des intégrines et un changement de la production de la fibronectine. Ces étapes sont probablement régulées par TGF- β . Une des isoformes du TGF- β , le TGF- β 3, est fortement produite à partir de la sixième semaine d'aménorrhée puis chute brutalement vers la onzième

semaine, juste avant le pic de l'invasion trophoblastique, suggérant le rôle de TGF- β 3 comme inhibiteur de l'invasion trophoblastique.

1.2.1.2 Expression des molécules d'adhésion

Les molécules d'adhésion et les intégrines jouent un rôle très important dans la migration cellulaire. Ces molécules d'adhésion sont VE-cadherin, VCAM-1, PECAM-1, α V β 4, α 1 β 1. Si elles ne sont pas exprimées à un moment donné, l'invasion du trophoblaste peut être déficiente. Par exemple, l'invasion du trophoblaste induit la transformation de cellules épithéliales en cellules endothéliales et la production de molécules d'adhésion propre aux cellules endothéliales; en cas d'absence de ces molécules, il ne se produit pas d'invasion endovasculaire.

L' α 1 β 1 est nécessaire à la migration cellulaire. Un défaut de l'expression de cette molécule d'adhésion peut expliquer en partie la non-invasion des artères spiralées maternelles dans la pré-éclampsie.

Plusieurs études suggèrent que la pression en oxygène est aussi un des facteurs qui module la différenciation trophoblastique (Genbacev et al., 1996; Kingdom et al., 2000; Caniggia et al., 2000) par l'action sur les molécules d'adhésion. L'hypoxie changerait l'expression cellulaire de certains antigènes présents à la surface cellulaire, comme les intégrines, des marqueurs spécifiques des différentes étapes de la différenciation trophoblastique, et réduit ainsi la capacité d'invasion des cellules cytotrophoblastiques. Cette hypoxie arrête la différenciation trophoblastique à une étape précoce, proliférative mais non invasive par l'expression élevée d'intégrines α 5 β 1 (Genbacev et al., 1997; Caniggia et al., 1999).

Les observations sur le fonctionnement des molécules d'adhésion, comme des facteurs de croissance, placent l'oxygène comme étant le régulateur clef de l'angiogénèse, avec un milieu hypoxique pendant le premier trimestre puis normoxique dès la douzième semaine.

1.2.1.3. Dégradation de la matrice extracellulaire

Pour que l'invasion du placenta puisse aussi se dérouler normalement, les cellules trophoblastiques doivent induire la transcription de certains gènes

impliqués dans la digestion de la matrice extracellulaire. Par exemple, la MMP-9 (matrix métalloprotéinase-9, une gelatinase de 92 KD) est associée au phénotype invasif du trophoblaste (Librach et al., 1991; Shimonovitz et al., 1994).

1.2.2. Régulation hormonale de l'angiogénèse

1.2.2.1. Les hormones protéiniques dont l'hCG (l'hormone chorionique gonadotrophique)

Un certain nombre d'hormones sont aussi nécessaires pour un bon déroulement de l'angiogénèse (hormones protéiniques et stéroïdiennes).

Le placenta synthétise des homologues des hormones hypothalamiques dont la gonadolibérine (*gonadotropin-releasing hormone*, GnRH), la corticolibérine (*corticotropin releasing hormone*, CRH), la thyroïdolibérine (*thyrotropin releasing hormone*, TRH), l'hormone thyroïdoplastine placentaire (*human chorionic thyrotropin*, hCT), la somatostatine, l'hormone chorionique gonadotrophine (hCG), la leptine, l'hormone placentaire lactogène (*human placental lactogen*, HPL), etc. (Gordon et al., 2002).

Le syncytiotrophoblaste, qui est en contact direct avec la circulation maternelle de l'espace intervilloux, est constitué de cellules fonctionnelles du placenta qui sécrètent la majorité des hormones et des protéines. En plus de leur rôle spécifique, certaines participent directement et indirectement à l'angiogénèse placentaire. Toutes ces hormones sont imbriquées et leur mécanismes ne sont pas tous élucidés.

La *gonadolibérine* (GnRH) et ses récepteurs se trouvent dans le cytotrophoblaste et le syncytiotrophoblaste. Sa sécrétion n'est pas tout à fait élucidée. Elle régule la stéroïdogénèse et la production d'hCG (Gordon et al., 2002).

La *corticolibérine* (CRH) est produite durant la grossesse en grande quantité dans la circulation foetale et maternelle par le trophoblaste, les membranes fœtales et la décidue. Sa production est régulée par de nombreuses substances dont les stéroïdes: elle est augmentée par

l'activine, l'interleukine et les glucocorticoïdes et est diminuée par la progestérone, l'inhibine et l'oxyde nitrique. Des études ont montré, in vitro, que la CRH exogène stimule la prolifération trophoblastique au premier trimestre (Choy et al., 2004). Des niveaux élevés de CRH dans le plasma maternel apparaissent dans les accouchements prématurés et dans la pré-éclampsie (Giles et al., 1996). L'augmentation de la CRH dans la pré-éclampsie pourrait être due au cortisol foetal augmenté, causé à son tour par le stress foetal (Myatt et al., 1999).

L'hormone chorionique gonadotrophique (hCG) est une glycoprotéine formée de deux sous-unités α et β , sécrétée dès la fécondation. Cette hormone est sécrétée par le cytotrophoblaste et le syncytiotrophoblaste, mais la grande majorité est produite grâce aux citernes que forme le réticulum endoplasmique du syncytiotrophoblaste. Un seul gène sur le chromosome 6 code pour la sous-unité alpha qui est composée de 92 acides aminés et qui est identique pour les sous unités α de la LH, de la FSH et de la TSH. Cependant, sur le chromosome 19, six gènes codent pour la sous-unité β de l'hCG dont deux sont actifs et sont probablement nécessaires à la haute production de cette hormone durant la grossesse. La sous-unité β de l'hCG est la plus grande des sous-unités β ; elle est composée de 145 acides aminés dont une partie terminale carboxylée de 24 acides aminés. Cette partie permet l'utilisation d'anticorps très spécifiques et contient quatre sites de glycosylation qui sont en partie responsables de sa longue demie-vie de 24 heures. Cette longue demi-vie est aussi due à sa grande teneur en acide sialique. C'est la sous-unité β qui donne l'activité biologique spécifique de ces molécules. L'ADN de la séquence de la sous-unité β de l'hCG est à 96% semblable à celle de la LH (cf. Figure 2).

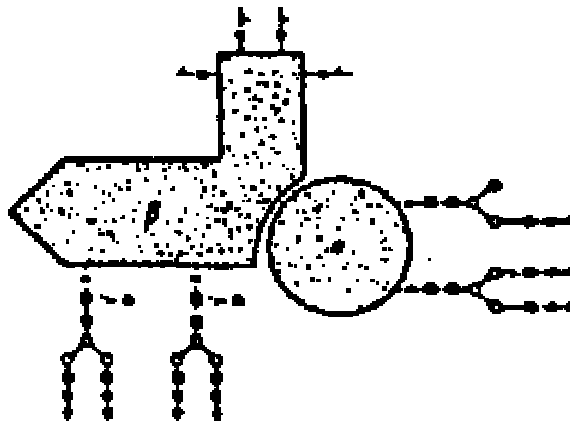


Figure 2. Schéma de l'hormone chorionique gonadotrophique

Le sécrétion d'hCG débute avant la nidation. Les récepteurs de l'hCG sont présents dans le trophoblaste dans l'endomètre. Elle devient détectable entre le 7^e et le 9^e jour après la fécondation. La sous-unité α devient détectable dans la circulation maternelle entre la 6^e et 10^e semaine de grossesse. L'hCG double sa valeur en 1,4 à 2,1 jours. Dès le retard des règles, sa concentration sanguine maternelle atteint 100 IU/L et son taux augmente jusqu'à la 8^e-10^e semaine, pour atteindre 100000 IU/L, puis baisse jusqu'à la 18^e -20^e semaine, pour se maintenir en plateau aux environs de 10000-20000 IU/L jusqu'à l'accouchement. Il y a une assez grande variabilité de l'hCG dans la circulation maternelle entre les différents sujets ainsi que des variations circadiennes, mais un rythme pulsatile circadien n'a pas pu être mis en évidence (Houghton et al., 1982) (cf. Figure 3).

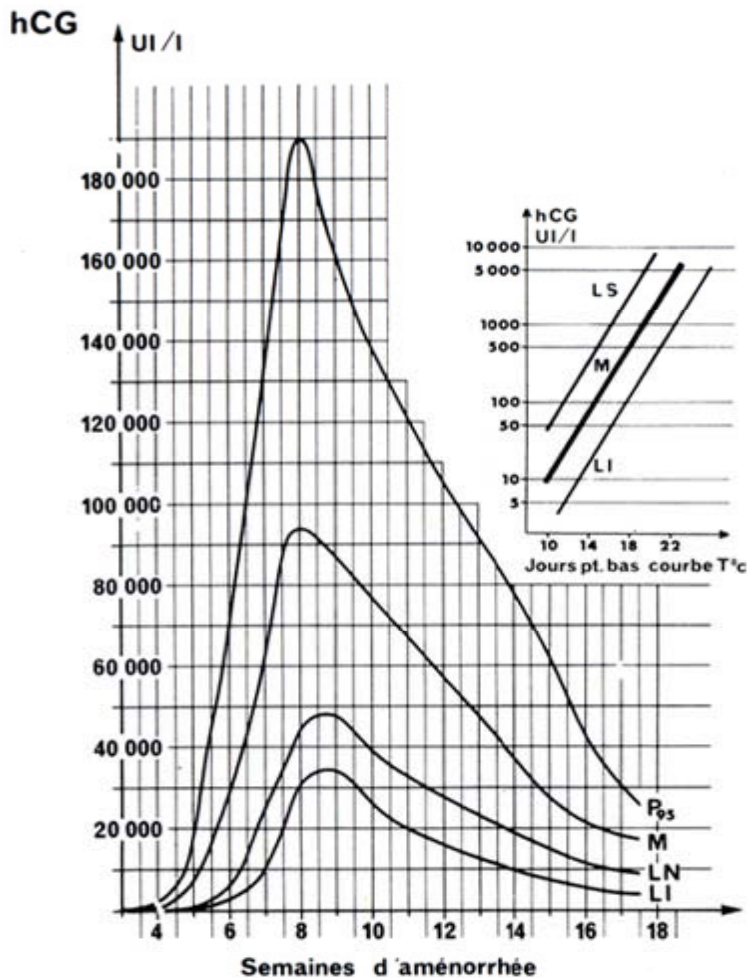


Figure 3. Sécration d'hCG selon SA durant la grossesse normale
(d'après J. Lansac et al., 1999)

Un peptide se trouvant sur la sous-unité β lie les deux sous-unités entre elles. L'âge de la grossesse avançant, ce peptide disparaît et la molécule d'hCG se dissocie en deux sous-unités libres, α et β et, de ce fait, la quantité d'hCG tronquée (divisée) augmente. Toutes les formes de cette hormone (hCG complète et non tronquée, l'hCG tronquée libre, les unités libres α et β et des fragments de l'hCG) se trouvent tout au long de la grossesse dans le sang maternel mais leur quantité varie avec le temps. Les raisons pour lesquelles l'hCG diminue dans la deuxième moitié de la grossesse sont encore à élucider. Cependant, la diminution de l'hCG a lieu au moment même de l'augmentation de la production de stéroïdes (progestérone et estradiol) (Islami et al., 2003) par le placenta, vers la 10^e semaine.

La production d'hCG est régulée par différentes molécules dont la GnRH, les hormones stéroïdiennes (les oestrogènes stimulent la sécrétion de GnRH et la progestérone l'inhibe), les cytokines, la leptine (Islami et al., 2003), l'inhibine (via la suppression de GnRH) et d'autres facteurs de croissance comme l'EGF (*epidermal growth factor*).

La principale fonction de l'hCG est la stimulation de la stéroïdogénèse maternelle et probablement aussi la stéroïdogénèse fœtale (Gordon et al., 2002). Elle maintient le corps jaune et elle assure une bonne évolution de la grossesse jusqu'à la septième semaine, grâce aux stéroïdes produits par le corps jaune. Cette hormone supplante l'effet de la LH dès le 8^e jour après l'ovulation. Entre la 7^e et la 10^e semaine de grossesse, le rôle de stéroïdogénèse du corps jaune est remplacé par le placenta. La stéroïdogénèse placentaire est aussi influencée par l'hCG (l'hydroxylation de la progestérone et des oestrogènes et l'aromatisation des androgènes).

Hormis la stéroïdogénèse, l'hCG joue un rôle dans l'augmentation de la fonction thyroïdienne du début de la grossesse, avec une diminution de la TSH, et dans la suppression partielle des réactions immunitaires. La diminution de l'activité de l'hCG durant le 2^e et le 3^e trimestre est due à la diminution de sa teneur en acide sialique. Une grande majorité (80%) est dégradée par le foie. Les unités libres sont excrétées par les reins, la sous-unité β se retrouve dans le système veineux sous forme de β core.

La référence de l'hCG est l'unité standard, 1UI d'hCG qui est l'équivalent de l'activité de 1,279 μ g de l'hormone. On ne parle pas de masse de l'hormone car il y a toujours des impuretés même dans les préparations contenant la protéine hautement purifiée. Il y a deux manières de mesurer de l'hCG, biologique et immunologique, cette dernière étant le plus souvent utilisée. Les unités habituellement utilisées pour l'hCG sont les mUI/ml ou le UI/l. Pour la sous-unité β , ce sont les ng/ml. Pour multiple de la médiane MoM), il n'y a cependant pas d'unité (ng/ng).

Une autre hormone, la *leptine*, joue un rôle important dans le déroulement physiologique de la grossesse. En dehors de la grossesse, elle est majoritairement produite par les adipocytes et a ses récepteurs dans l'hypothalamus. Elle est impliquée autant dans la régulation du poids corporel et l'homéostasie énergétique que dans la reproduction, les réponses immunes et inflammatoires (Marti et al., 1999) et la régulation de l'angiogénèse et de l'hématopoïèse.

Durant la grossesse, elle régule l'hématopoïèse embryonnaire, l'angiogénèse foetale et placentaire, la croissance et le développement du fœtus et la synthèse hormonale à l'intérieur de l'unité foeto-placentaire (Henson et al., 2000). Le syncytiotrophoblaste est la source et la cible de la leptine pendant la grossesse (Linnemann et al., 2000), bien que plusieurs études suggèrent que le tissu adipeux foetal est le principal contributeur de la leptinémie (Henson et al., 2000). Dans le sang maternel, la leptine augmente durant la grossesse pour atteindre un pic vers les 26^e - 28^e semaines d'aménorrhée, puis décroît avant l'accouchement (Henson et al., 2000).

Durant la grossesse, le niveau de la leptine n'est pas directement relié au tissu adipeux. Il a été démontré *in vitro* que la sécrétion de la leptine était potentialisée par l'interleukine-1 α , l'interleukine-6 et le 17 β -oestradiol 6 (Meisser et al., 1999) et que la sécrétion d'hCG était stimulée par la leptine (Chardonens et al., 1999). Rosenbaum et al., 1997, ont trouvé que la leptine était aussi régulée par les hormones stéroïdiennes: les oestrogènes augmentent la transcription de la leptine et les androgènes inhibent probablement cette synthèse.

Plusieurs hypothèses ont été suggérées pour expliquer cette augmentation progressive de la leptine durant la grossesse, les vrais mécanismes de sa régulation n'étant pas encore connus. D'autres tissus pourraient aussi produire la leptine. Un changement du stock adipeux, provoqué par l'augmentation des hormones (spécialement les oestrogènes) typique de la grossesse avancée, favoriserait un état de résistance à la leptine.

Harigaya et al. (1999) ont démontré que la concentration de la leptine dans le sang du cordon ombilical était corrélée au poids du fœtus (plus la leptine était haute, plus le poids de l'enfant l'était aussi) et d'autres ont rapporté la même corrélation avec le poids du placenta, la longueur et la circonférence céphalique du nouveau-né. Cette hormone pourrait potentialiser l'hormone de croissance et le turn-over des cellules sanguines (Hirose et al., 1998; Henson et al., 2000).

1.2.2.2. Les hormones stéroïdiennes

Le placenta est la source principale de progestérone et d'oestrogènes durant la grossesse. Cependant il est un organe de stéroïdogénèse incomplet car il ne peut produire seul les différents stéroïdes. La synthèse du cholestérol lui est impossible, il est obligé d'utiliser celui de la mère. Il ne peut fabriquer ni androgène, ni oestradiol par défaut enzymatique; par contre il possède une aromatasase pour transformer les androgènes en oestrogènes. Le foie fœtal, lui, peut synthétiser le cholestérol à partir de son acétate permettant la formation de corticoïdes et d'oestradiol. La complémentarité des équipements enzymatiques présents dans les compartiments maternels, fœtaux et placentaires est donc à la base du concept de l'unité foeto-placentaire, ensemble fonctionnel dont les activités s'additionnent.

Ces hormones jouent un rôle dans le maintien de la gestation ainsi que dans la croissance et le développement fœtal et le déclenchement du travail. En fin de grossesse, la production placentaire d'oestrogènes et de progestérone est de l'ordre de 300 mg par jour pour chacune de ces deux hormones.

La *progestérone* joue un rôle essentiel dans l'établissement et le maintien de la gestation. Dès le début de la grossesse, la progestérone est produite par le corps jaune puis, environ dès la 7^e semaine de grossesse, le placenta devient la source principale de progestérone. La progestérone prépare et maintient l'endomètre qui permettra l'implantation; elle supprime la réponse immunitaire maternelle. Il n'existe pas chez la femme

de chute de la progestéronémie avant l'accouchement. Lors de l'accouchement le rôle de la progestérone n'est pas encore bien déterminé. La suppression de la progestérone peut conduire à des contractions utérines (Gordon et al., 2002).

Les *oestrogènes* produits par le placenta proviennent des androgènes grâce à l'enzyme aromatase P450, cependant le placenta ne peut pas synthétiser les androgènes depuis la progestérone. Ils proviennent donc d'abord de la circulation maternelle jusqu'à la 20^e semaine puis des androgènes fœtaux (dehydroépiandrostérone sulfate, DHAES, synthétisée par les glandes surrénales fœtales).

Le rôle des oestrogènes, surtout de l'oestradiol, est important dans le maintien de la gestation et le développement fœtal. Ils augmentent durant toute la grossesse et prépare l'utérus au travail de l'accouchement. De plus, l'adaptation cardiovasculaire à la grossesse est sous l'influence des oestrogènes: ils augmentent le volume sanguin, ils ont un effet vasodilatateur en agissant sur la synthèse d'oxyde nitrique, le système rénine-angiotensine et le flux sanguin placentaire (Gordon et al., 2002). Les oestrogènes placentaires augmentent la production hépatique d'angiotensinogène ; les oestrogènes et la progestérone augmentent la production de rénine par les reins. La rénine clive l'angiotensinogène en angiotensine I qui est convertie en angiotensine II qui augmente la production d'aldostérone. L'aldostérone favorise l'expansion vasculaire par rétention de l'eau et de sodium. En même temps, la réactivité vasculaire est moindre à l'angiotensine II qui est un vasoconstricteur. Il en résulte une diminution de la tension artérielle dans la première partie du deuxième trimestre.

Certaines corrélations entre le niveau des stéroïdes et la pré-éclampsie ont été découvertes. Une augmentation des androgènes durant le troisième trimestre chez les patientes souffrant de pré-éclampsie a mené à la conclusion de leur implication dans sa pathogenèse (Serin et al., 2001; Baksu et al., 2004), mais ces données doivent encore être vérifiées car

des hauts niveaux d'androgènes et d'oestrogènes sont plutôt corrélés aux fœtus mâles (James, 2002).

1.2.2.3. L'alpha-foetoprotéine (AFP)

Découverte en 1944 par M. Pedersen chez les bovidés et retrouvée en 1956 par Bergstrand et Czor chez l'homme, l'*alpha-foetoprotéine* est une glycoprotéine de type alpha-1-globuline, composée de 590 acides aminés et 4 % de carbohydrates dont la structure et probablement la fonction sont semblables à l'albumine.

L'AFP est normalement produite lors de développement fœtal et sa concentration est très basse durant la vie adulte. Cette glycoprotéine, dont les gènes proviennent du 4^e chromosome, est produite à partir du second mois de la grossesse (8^e - 9^e semaine) par la vésicule vitelline et à partir du troisième mois par le foie et le tractus gastro-intestinal fœtal. Elle se trouve en forte concentration dans le système nerveux central fœtal.

La concentration fœtale atteint un pic de 300 mg/dl vers la 12^e semaine pour atteindre un niveau très bas vers la 31^e semaine. La production hépatique est tout à fait constante durant le 2^e trimestre et jusqu'à la 30^e semaine. Cependant à cause de l'augmentation du compartiment fœtal intra-vasculaire et par effet de dilution, sa concentration diminue dans la circulation fœtale.

Son rôle n'est pas exactement connu: on pense qu'elle sert de transporteur intravasculaire de protéines et d'hormones stéroïdiennes et maintient la pression oncotique. Elle pourrait également avoir un rôle immunosuppresseur en protégeant les antigènes paternels du fœtus des anticorps circulants maternels. De plus, l'AFP pourrait moduler la prolifération cellulaire agissant ainsi de concours avec les facteurs de croissance. Des cas de déficience congénitale de l'AFP ont été décrits dont les nouveau-nés étaient tout à fait normaux (Sharony et al., 2004), ainsi le rôle de l'AFP reste incertain.

Le liquide amniotique contient également cette glycoprotéine et sa concentration suit celle de la circulation fœtale. L'AFP de la circulation fœtale est filtrée par les reins fœtaux et une petite partie (150 fois moins que dans la circulation fœtale) se retrouve dans le liquide amniotique. Ce liquide amniotique étant avalé par le fœtus, l'AFP est détruit par ses enzymes protéolytiques gastro-intestinales.

Grâce au flux transplacentaire et trans-amniotique, l'AFP augmente dans la circulation maternelle jusqu'à la 30^e semaine, puis diminue jusqu'à l'accouchement et disparaît brusquement dès la délivrance.

Cette augmentation de la concentration dans la circulation maternelle parallèlement à la chute de la concentration dans la circulation fœtale du second trimestre est probablement due à une augmentation de la diffusion placentaire de l'AFP (cf. Figure 4).

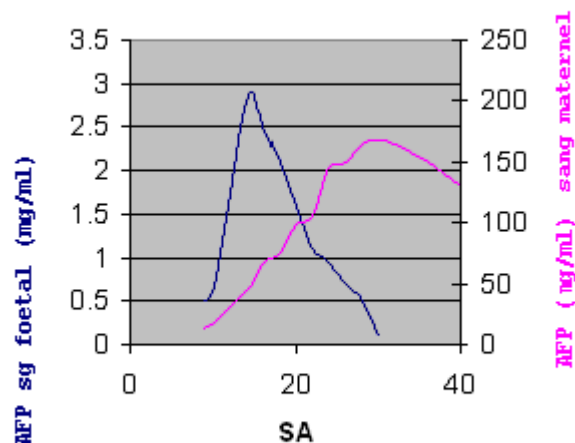


Figure 4. Corrélation de l'AFP dans le sang fœtal et le sang maternel en fonction des semaines d'aménorrhée (SA)

L'AFP, contrairement à l'hCG, n'est pas produite par le placenta. Cependant, on a observé qu'une élévation de l'AFP était corrélée au retard de croissance intra-utérin ou alors associée à des lésions placentaires sans autre anomalie fœtale (Salafia et al., 1988). Si l'augmentation sérique maternelle est due à une diffusion plus élevée causée par le vieillissement

placentaire, et sachant que la pré-éclampsie est due à un défaut de placentation avec une hypoxie et ischémie placentaire, l'AFP sérique maternel pourrait probablement être corrélé à la sévérité de la pré-éclampsie.

Chez l'adulte, l'AFP est retrouvée en outre chez 60 à 80% des sujets atteints de cancer primitif du foie, mais aussi dans les cancers génitaux, du tube digestif ou des reins.

1.2.3. Dépistage prénatal

Langdon Down, un médecin londonien, a publié en 1866 un papier sur la ressemblance de certains de ses patients avec les Mongols (« Observations on an ethnic classification of idiots »). Ses observations sur leur apparence (« *The nose is small. The skin has a slight dirty yellowish tinge, and is deficient in elasticity, giving the appearance of being too large for the body.* ») ont été reprises plus d'un siècle plus tard et ont été à la base des examens de dépistage de la trisomie 21. Les individus atteints de trisomie 21 avaient une collection nucale liquide, due à une anomalie du système de drainage lymphatique, durant le troisième mois de vie intra-utérine. En 1919, Shuttleworth notait l'association entre l'âge maternel et le syndrome de Down. Dès 1966, il est devenu possible de poser le diagnostic prénatal de la trisomie 21 en effectuant le caryotype des cellules en culture provenant du liquide amniotique et, au vu du risque de fausse couche de l'amniocentèse, ce dépistage a été proposé uniquement aux grossesses à risque (plus de 35 ans, ce qui correspondait à 5% des femmes enceintes). Ce groupe à risque contenait 30 % des trisomies 21.

1.2.3.1. Dépistage de deuxième trimestre

Durant la deuxième moitié des années 80, grâce à de nombreuses recherches qui ont porté sur le dépistage des aneuploïdies et d'autres malformations et leur marqueurs biochimiques, une nouvelle méthode de dépistage a été introduite. Cette méthode tient compte non seulement de l'âge maternel, car le nombre de femmes de plus de 35 ans augmentait,

mais aussi de la concentration dans la circulation maternelle de différents produits foeto-placentaires.

En 1984, Merkatz et al. ont mis en évidence l'association entre un niveau d'AFP réduit et un risque d'aneuploïdie augmenté, en particulier la trisomie 21 mais aussi la trisomie 18. L'AFP n'est pas simplement dosée dans la circulation maternelle mais aussi ajustée puis comparée: chaque laboratoire établit une échelle de valeur de l'AFP avec la médiane de l'AFP de grossesses normales pour chaque semaine gestationnelle. La mesure de chaque patiente est ajustée en fonction du poids de la mère, de l'ethnie, du nombre de fœtus et de l'état diabétique de la patiente. Les résultats des mesures de l'AFP sont toujours convertis en multiple de médiane (MoM): soit la division de l'AFP mesurée et ajustée par la médiane de l'AFP du même âge gestationnel.

La mesure de l'AFP est plus précise entre la 16^e et la 18^e semaine d'aménorrhée mais cette mesure peut être effectuée entre la 15^e et la 22^e semaine.

L'augmentation ou la diminution de l'alpha-foetoprotéine a donc été un des premiers tests non-invasifs de dépistage pour identifier les grossesses à risque d'aneuploïdie mais aussi de non fermeture du tube neural. Puis l'hCG et l'estriol non conjugué (uE3) ont été ajoutés au dépistage des aneuploïdies. Le triple test est ainsi composé de uE3 qui est diminué dans la trisomie 21 (0.79 MoM), de l'hCG et de l'AFP.

L'hCG est augmentée dans la trisomie 21 (MoM 2.04). A partir de la 16^e semaine de gestation, ces trois marqueurs étaient suffisamment différents dans les trisomies 21 par rapport aux grossesses normales et, associés à l'âge maternel, permettaient l'identification de 60 % (sensibilité de 60%) des trisomies 21 avec toujours 5% de dépistage invasif (amniocentèse) (Nicolaidis, 2004). En revanche, dans les cas de trisomie 13 ou 18, la β hCG libre est significativement diminuée.

La diminution de l'AFP et l'augmentation de l'hCG dans le syndrome de Down peuvent être expliquées comme le reflet de l'immaturité du fœtus.

Ainsi toutes ces valeurs correspondraient à un âge gestationnel plus jeune.

Depuis 1993, il a été mis en évidence que la sous-unité beta libre de l'hCG (*free beta-hCG*, *fβhCG*) augmentait le taux de détection de la trisomie 21 de 4%. Les βhCG libres tronquées et non tronquées sont aussi augmentées dans la trisomie 21. Sa sensibilité et sa spécificité est meilleure surtout durant la 14^e -15^e semaine gestationnelle. Ainsi, différentes études ont démontré que le taux de détection était meilleur si l'on prenait en compte la fraction libre de la βhCG et l'AFP plutôt que le triple test avec un taux de faux positif légèrement plus élevé, en fonction des études (Spencer et al., 1993). Ce test a été nommé le double test du 2^e trimestre.

Le double test est le dépistage effectué grâce à l'AFP et le βhCG. Il doit être effectué entre la 14^e et la 18 0/7 semaine d'aménorrhée.

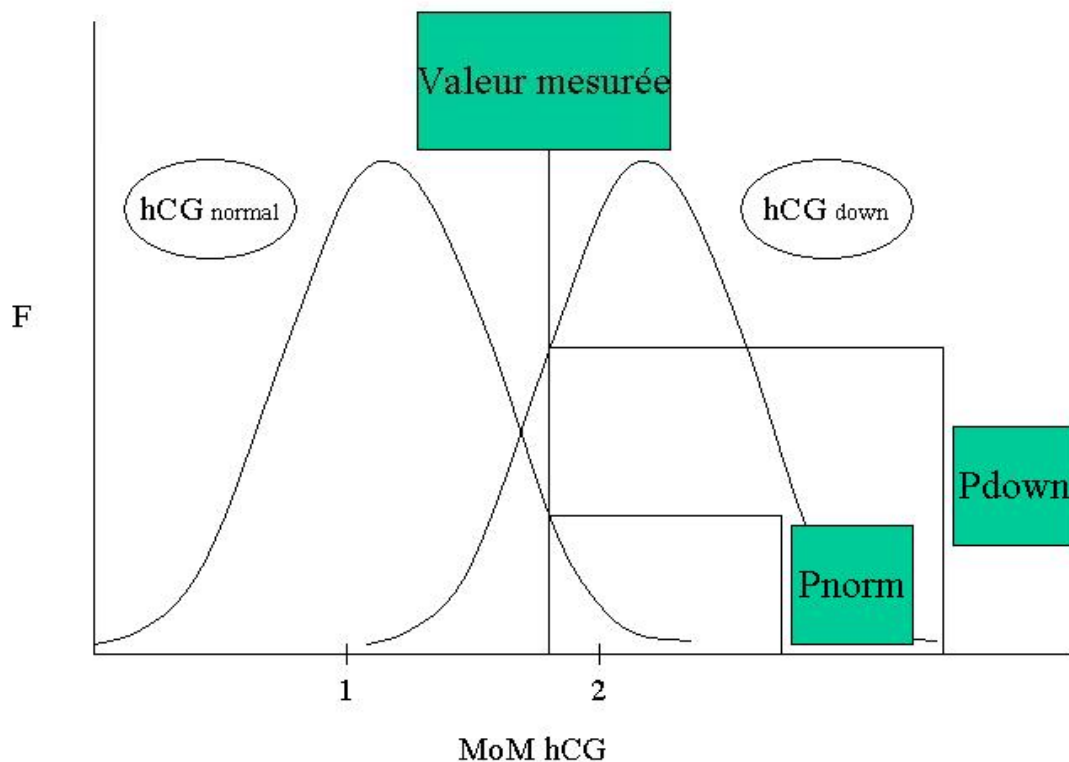
Le risque calculé de la trisomie 21 se fait ainsi :

$$\text{Risque} = \text{Age} * F(\beta hCG) * F(\text{AFP})$$

$$F(\beta hCG) = P(\text{Down}) / P(\text{contrôle})$$

$$F(\text{AFP}) = P(\text{Down}) / P(\text{contrôle})$$

où **P** représente la probabilité que la valeur du dosage appartienne à la population normale respectivement à la population Down.



(où F = Fréquence)

Figure 5. Distribution selon MoM β hCG des fœtus avec et sans une trisomie 21

1.2.3.2. Dépistage du premier trimestre

On s'est intéressé à un dépistage plus précoce avec la découverte de la PAPP-A (*pregnancy associated plasma protein A*). Actuellement, la détection du risque de trisomie 21 peut être effectuée entre la 11^e et la 18 6/7 semaines d'aménorrhée, grâce à des marqueurs sanguins et à l'échographie.

Le test du premier trimestre a donc été mis sur pied ; il comprend la fraction libre β de l'hCG et la PAPP-A. La PAPP-A, une protéase produite par le syncytiotrophoblaste, scinde l'IGF2 et l'IGF BP qui sont initialement liées. L'IGF2, comme vu auparavant, participe dans l'invasion trophoblasique.

Le risque de la trisomie 21 grâce au dépistage du premier trimestre est calculé ainsi :

$$\alpha + \beta_1 \text{ âge} + \beta_2 * \text{PAPP-A} + \beta_3 * \beta \text{hCG} + \beta_4 \text{ clarté nucale}$$

où α , β_1 , β_2 , β_3 et β_4 représentent des facteurs de pondération.

Dans le syndrome de Down, durant le premier trimestre, la médiane de la fraction libre β de hCG est d'environ 1.79 MoM et la médiane de la PAPP-A est de 0.43 MoM.

Ces deux marqueurs combinés à l'âge maternel et à la mesure de la clarté nucale ont un taux de sensibilité de 90 %. Comme on l'a vu, le triple test de 2^e trimestre a un taux de sensibilité de 60%. Le test de 1^{er} trimestre est cependant plus difficile à effectuer, car la fraction libre de la β hCG est augmentée dès la 12^e semaine et la PAPP-A perd de sa valeur de discrimination après la 13^e semaine, ce qui laisse une petite fenêtre d'évaluation et rend difficile l'interprétation du test. Il y a encore actuellement de nombreuses discussions à propos du meilleur algorithme mathématique. De plus, le dosage de l'AFP doit quand même être effectué au 2^e trimestre pour détecter les non fermetures du tube neural.

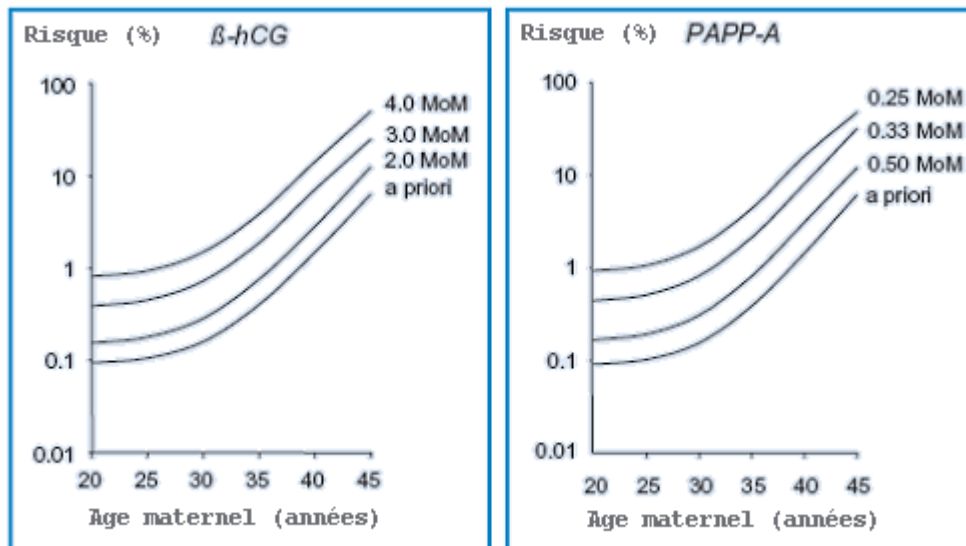


Figure 6. Risque de trisomie 21 à 12 SA selon l'âge maternel et la valeur de la fraction libre β de l'hCG (gauche) et de la PAPP-A (droite) (Nicolaidis, 2004)

L'échographie. Les fœtus atteints d'aneuploïdie présentent de nombreuses malformations. La mesure de la clarté nucale fait partie du test de dépistage du syndrome de Down du 1^{er} trimestre. Physiologiquement elle augmente avec l'âge gestationnel puis disparaît normalement après le premier trimestre. L'augmentation anormale durant la premier trimestre est associée à une incidence accrue de trisomie 21; ce risque croît avec l'augmentation de la mesure de la clarté nucale. Elle doit être mesurée entre la 11^e et la 13 6/7 semaine d'aménorrhée (entre le 77^e et le 97^e jour) donc une longueur cranio-caudale (LCC) entre 45 et 84 mm. Les valeurs normales se trouvent entre 1.2 et 2.1 mm pour une LCC de 45 mm et entre 1.9 à 2.7 mm pour une LCC de 84 mm. L'étiologie exacte de l'augmentation de la clarté nucale est inconnue, cependant on pense qu'elle reflète l'accumulation de lymphes due à un mauvais développement du système lymphatique.

De nombreuses études ont démontré que l'absence de visualisation de l'os nasal entre la 11^e et la 13 6/7 semaine est plus fréquente chez les fœtus atteints de trisomie 21 et d'autre aneuploïdie que chez les fœtus à caryotypes normaux (Zoppi et al., 2002; Cicero et al., 2004). La sensibilité du dépistage du premier trimestre comprenant la fraction libre du β hCG, la PAPP-A, la clarté nucale, l'os nasal et l'âge maternel, est de 90.5% avec 0,5 % de faux positif (Cicero et al., 2003).

Recommandations actuelles. Toutes les femmes enceintes doivent bénéficier d'un test de dépistage de la trisomie 21 durant le premier trimestre puis d'une seconde prise de sang durant le 2^e trimestre pour la détection des non fermetures du tube neural).

Si le risque calculé est égal ou plus grand que 1/380 à Genève (sinon 1/250 ou 1/300 en fonction des centres), les patientes sont conseillées d'effectuer une amniocentèse ou une choriocentèse.

La choriocentèse s'effectue entre la 11^e SA et la 13 6/7 semaine d'aménorrhée et le risque de fausse couche est de 1%. L'amniocentèse est déconseillée avant la 13^e semaine car le taux de fausse couche est

plus grand, elle devrait être effectuée entre la 15^e et la 17^e semaine avec un risque de fausse couche de 0,5%.

1.2.3.3. Défaut de fermeture du tube neural

Que les tests de dépistage de la trisomie 21 soient effectués lors du 1^{er} ou du 2^e trimestre, l'AFP doit être dosée durant le 2^e trimestre pour dépister les non fermetures de tube neural. Une valeur de l'AFP supérieure à 2,5 MoM, qui est la valeur limite utilisée à Genève, détecte 90% des défauts de fermeture du tube neural avec 3% de faux positifs. Grâce à l'AFP, 90% des fœtus atteints de spina bifida, de méningocèle, de myéломéningocèle, d'anencéphalie ainsi que la moitié environ des fœtus présentant des défauts de la paroi ventrale (omphalocèle, gastroschisis), des obstructions intestinales, des malformations rénales comme les néphropathies congénitales, des troubles dermatologiques, des triploïdies et les translocations sont détectés. L'augmentation de l'AFP a aussi été associée à un risque augmenté d'avortement spontané, de prématurité, de pré-éclampsie, de RCIU et de mort-nés (Duric et al., 2003).

Ces différentes études sur le dépistage des aneuploïdies montrent que ces marqueurs (la *fraction libre de la β hCG* et l'AFP) gardent une place très importante dans le dépistage de différentes pathologies. Ces molécules sont-elles reliées à d'autres maladies obstétricales ?

1.3. Pré-éclampsie

1.3.1. Physiopathologie de la pré-éclampsie

1.3.1.1. Facteurs de croissance

On pense que de nombreuses maladies de la grossesse dont la pré-éclampsie sont dues à une déficience de la vascularisation placentaire. Après avoir passé en revue les étapes physiologiques du développement placentaire, voici certains mécanismes connus qui induisent dans la pré-éclampsie un trouble de l'angiogénèse placentaire. Nous porterons notre intérêt sur les facteurs de croissance, les marqueurs biologiques, le système immunitaire et les facteurs génétiques.

La physiopathologie de la pré-éclampsie peut être expliquée en deux étapes différentes: d'abord par un défaut de la placentation puis, par une réaction maternelle généralisée touchant l'endothélium (Van Wijk et al., 2000). L'invasion des cellules trophoblastiques dans l'endomètre et dans le tiers proximal du myomètre et l'invasion des artères spiralées sont d'une importance vitale pour la fixation du placenta et la connexion avec le système vasculaire maternel. **Dans la pré-éclampsie, on retrouve une invasion trophoblastique trop superficielle avec un défaut de l'invasion des artères spiralées qui restent ainsi de petit calibre** (Matijevic et al., 1999; Meekins et al., 1994). Il en découlerait une hypoxie placentaire durant toute la grossesse qui serait le *primum movens* de la pré-éclampsie, cette réaction maternelle généralisée touchant l'endothélium de différents organes.

L'étude histologique des placentas chez ces patientes montre une prolifération trophoblastique mais une migration des cellules trophoblastique trop superficielle (Redline et al., 1995); l'invasion des artères spiralées du myomètre est fortement réduite causant ainsi une réduction de l'apport sanguin dans l'espace intervilloux et exposant le fœtus à des conditions pauvres en nutriments et en oxygène. On pense que l'ischémie placentaire libère des facteurs placentaires toxiques dans la circulation sanguine maternelle qui altèrent le bon fonctionnement de l'endothélium et induit une réaction endothéliale maternelle généralisée (Van Wijk et al., 2000).

Plusieurs études ont démontré que l'hypoxie perturbe l'expression d'isoformes de VEGF. Lyall et al. (1997) ont démontré une diminution des récepteurs au VEGF dans la pré-éclampsie et Kupferminc et al. (1997) ont mis en évidence des taux élevés de VEGF dans la circulation maternelle chez les patientes souffrant de pré-éclampsie, ainsi qu'une corrélation entre leur taux et la sévérité de la pré-éclampsie. L'activité d'autres facteurs de croissance est aussi perturbée lors de la pré-éclampsie: par exemple l'Ephrine-A1 ainsi que les récepteurs Tie sont diminués (Vuorela et al., 1998). Le placental growth factor semble également être modifié avec la pré-éclampsie.

La différenciation trophoblastique est probablement aussi perturbée. Ceci entraîne une perturbation de l'invasion placentaire et également un milieu hypoxique. Un facteur de transcription, HIF- α , est stimulé en milieu hypoxique, et entraîne une prolifération trophoblastique sans invasion en induisant l'activation de certains gènes dont le TGF- β 3, un inhibiteur de l'invasion trophoblastique. Cette molécule, contrairement aux grossesses d'évolution normale, est encore présente au delà du premier trimestre dans la pré-éclampsie (Caniggia et al., 1999 et 2000). De plus l'HIF-1 α supprime α 1 β 1 qui est une molécule d'adhésion nécessaire pour la migration trophoblastiques (Goldman-Wohl et al., 2002). D'autres troubles de l'expression de la famille des TGF β ont été mis en évidence dans la pré-éclampsie avec la restauration de la capacité d'invasion des artères spiralées par les cellules trophoblastiques lors d'adjonction d'anticorps anti-TGF β (Caniggia et al., 1999).

Ce défaut de différenciation cellulaire permettant l'invasion nécessaire au premier trimestre induit des cellules trophoblastiques trop immatures. . Ces cellules trophoblastiques immatures présentent à leur surface l'intégrine α 5 et n'exprime pas l'intégrine α 1 ; ainsi, elles n'acquièrent pas le phénotype nécessaire à l'adhésion endovasculaire (Zhou et al., 1997-b) et leur prolifération est excessive (Redline et al., 1995).

Les changements normalement observés dans les artères spiralées sont limités dans la pré-éclampsie aux segments distaux de ces artères. Un tiers des artères spiralées dans le lit placentaire n'est pas affecté par l'invasion endovasculaire des trophoblastes et des segments entiers du myomètre restent intacts. Cette invasion trophoblastique trop superficielle altère également l'expression de certains gènes impliqués dans la dégradation de la matrice extracellulaire, qui de ce fait sont déficients, comme par exemple l'expression de MMP-9 qui n'est pas stimulée dans la pré-éclampsie (Lim et al., 1997). L'activité enzymatique de l'urokinase *plasminogen activator* et *plasminogen inhibitor* est aussi altérée dans la pré-éclampsie (Graham et al., 1996).

Ces altérations placentaires prenant forme lors du 1^{er} trimestre nous posent le problème de la difficulté d'avoir accès, durant le développement de ces lésions, au matériel pour les investigations morphologiques, le diagnostic étant posé dès la 20^e SA et les placentas étant disponibles après l'accouchement.

Récemment, les recherches se sont consacrées sur les gènes uniquement exprimés dans les placentas des patientes souffrant de pré-éclampsie. On a découvert que sFlt1 est augmenté chez les patientes souffrant de pré-éclampsie. Flt1 est un récepteur de VEGF. sFlt1 est une variante de Flt1 mais sans la partie transmembranaire et cytoplasmique du récepteur, donc libre et soluble dans la circulation sanguine maternelle (Maynard et al., 2003; Lawrence, 2003; Lutton et al., 2003). sFlt1 est un antagoniste de VEGF qui est un facteur de croissance de cellules endothéliales, maintient la perméabilité des capillaires et est un vasodilatateur puissant (en stimulant la production d'oxyde nitrique et de prostacyclines). Tandis que Flt1 transmet le signal de VEGF, sFlt1 se lie au facteur de croissance (VEGF), diminue sa concentration sanguine libre et en diminue l'effet. Il agit comme antagoniste de VEGF, perturbant l'angiogénèse placentaire, la perméabilité des capillaires et inhibant l'effet vasodilatateur. Comme conséquence, en présence de sFlt1, l'hypertension artérielle apparaît et l'endothélium est altéré, ce qui induit une atteinte multiorganique avec l'apparition d'une protéinurie, d'un œdème hépatique avec un trouble de l'hémostase et d'œdèmes généralisés. La barrière hémato-encéphalique est également altérée, ce qui induit un œdème cérébral (cf Fig. 7).

Cependant, bien qu'il ait été mis en évidence une invasion trop superficielle et une ischémie placentaire, on ignore quel est exactement le premier élément physiopathologique à l'origine de la pré-éclampsie.

D'une part, l'hypoxie placentaire pourrait relâcher des facteurs toxiques dans la circulation maternelle. D'autre part, l'expression de certains gènes pourrait induire des anomalies endothéliales avec atteinte rénale et placentaire. Les deux hypothèses ne sont pas exclusives et pourraient expliquer le développement des symptômes maternels.

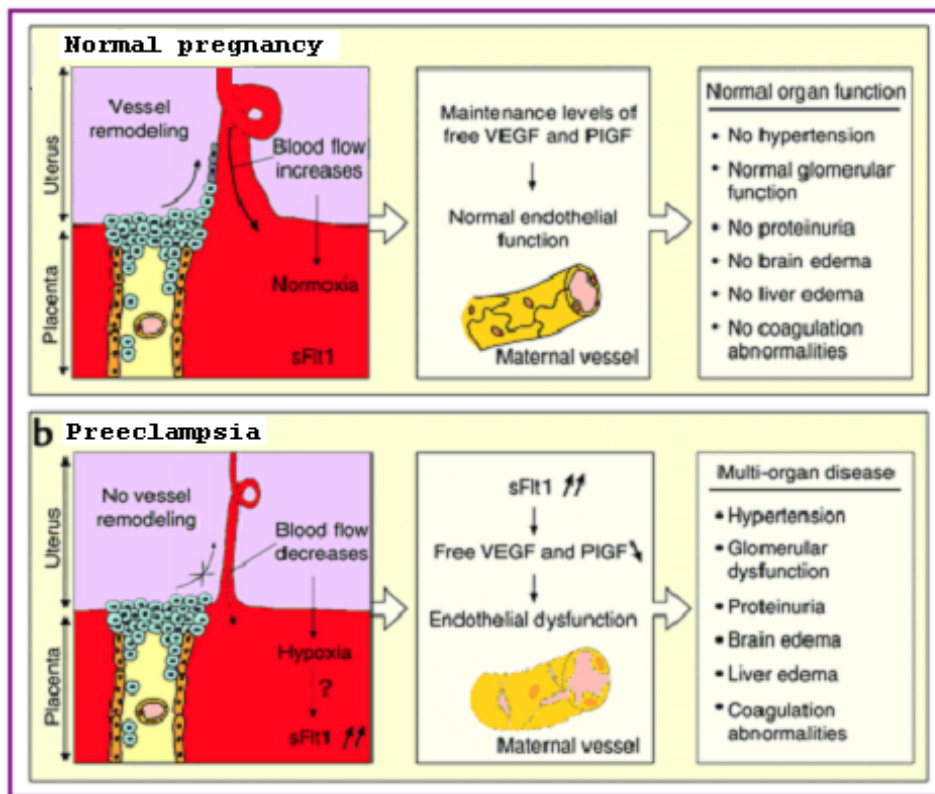


Figure 7. Physiopathologie de la pré-éclampsie
(Luttun A & Carmeliet P., 2003)

1.3.1.2. Marqueurs biologiques et biophysiques

De nombreuses études prospectives, transversales et rétrospectives de sont penchées sur la mesure d'autres marqueurs biologiques qui précéderaient la survenue des symptômes que les facteurs de croissance. Ces marqueurs peuvent être divisés en quatre catégories : les marqueurs de la résistance vasculaire et de la perfusion placentaire (test à l'angiotensine, Roll-Over test, la mesure de la tension artérielle durant le second trimestre, doppler des artères utérines,...), les marqueurs de l'atteinte rénale (l'acide urique, la kallicréine urinaire, la calciurie, la microalbuminurie,...), les marqueurs pro-inflammatoires et de l'atteinte endothéliale (la fibronectine, les pro et anti- oxydants, les cytokines, les activateurs de la coagulation,...) et les marqueurs de l'unité foeto-placentaire (peptides placentaires).

Les marqueurs de la résistance vasculaire ont été évalué pour détecter les patientes à risque pour la pré-éclampsie mais ils ne sont pas utilisés en clinique à cause de leur coût, leur durée et leur difficulté. Le test à l'angiotensine consiste en une perfusion d'angiotensine II et une augmentation de la pression diastolique de plus de 22 mmHg. Des doses plus faibles sont nécessaires chez les patientes à risque de faire une pré-éclampsie ce qui reflète une résistance générale aux vasoconstricteurs durant les grossesses normales. Cette différence est déjà visualisée dès la 10^e semaine d'aménorrhée jusqu'à l'accouchement. Les patientes destinées à faire une pré-éclampsie montrent une augmentation progressive de la réponse à l'angiotensine II dès la 23^e semaine avec une nécessité d'angiotensine moindre pour la même augmentation de la pression diastolique. Même si ce test a une bonne sensibilité et une bonne spécificité dans la plupart des études, il est difficilement utilisable en routine.

Le Roll-Over test consiste en une augmentation de la tension artérielle de 15 à 20 mmHg apparue en 5 à 6 min de décubitus dorsal après une position de décubitus latéral gauche. Si le test est positif, il peut être prédictif d'une pré-éclampsie. Ce test est facilement praticable en routine mais sa spécificité (35 à 95 %), sa sensibilité (4 à 88 %) et sa valeur prédictive positive (13 à 93 %) sont très variables selon les études et ont fait abandonner la pratique de ce test.

La mesure de la tension artérielle durant le second trimestre est légèrement plus élevée chez les patientes qui vont développer une pré-éclampsie. Une étude ayant mesuré la pression artérielle de 1100 patientes primipares entre 18 et 24 semaines d'aménorrhée a mis en évidence qu'une moyenne des pressions diastoliques durant 24 heures plus élevée que 71 mmHG était un bon facteur prédictif de pré-éclampsie. Cependant, ce seuil a une sensibilité de 22 % uniquement, une valeur prédictive positive de 15% et ne distingue pas les patientes qui vont développer une pré-éclampsie ou une hypertension gestationnelle.

La mesure de la résistance vasculaire utéro-placentaire grâce à l'échographie-Doppler au niveau des artères utérines maternelles durant le

second trimestre a été utilisé pour la détection précoce des patientes à risque de pré-éclampsie (Bewley et al., 1991 ; Chappell et Bewley, 1998). Les bases physiopathologique de cette mesure réside dans le fait que dans la pré-éclampsie, il y a une déficience de l'invasion des artères spiralées dans le trophoblaste qui résulte en une réduction de l'apport sanguin au niveau placentaire. La persistance de résistance vasculaires élevées à la fin de second trimestre (Notch) est alors corrélé à un risque accru de pré-éclampsie et /ou de retard de croissance intra-utérin. Mais les différentes études sont difficilement comparables à cause de leur différentes techniques de mesure, définition, population, âge gestationnel,..). La persistance d'un notch bilatéral après la 24^e semaine a été corrélé à la pré-éclampsie chez les patientes à bas risque avec une valeur prédictive de faible à modérée (Irion et al., 1998 ; Chien et al., 2000). Chez les patientes à haut risque de pré-éclampsie, (cf. facteur de risque. 1.3.2.2), l'index de résistance des artères utérines ou la persistance d'un notch bilatéral est d'une prédictibilité faible (Conde-Agudelo et al., 2004). En 2005, Vainio et al. ont démontré que le Doppler des artères utérines à la 11^e et à la 14^e semaine était en bon instrument de pronostic pour la pré-éclampsie. En général, la valeur prédictive positive d'un test anormal est faible dans la population à bas risque. Ce test est meilleur pour les patientes à haut risque et semble être réassurant lorsqu'il est négatif.

Les marqueurs de l'atteinte rénale ont également été étudiés. Une élévation sérique de l'acide urique due à une diminution de l'excrétion rénale d'urate est fréquemment retrouvé chez les patientes souffrant de pré-éclampsie. Une valeur dépassant 5,9 mg/ dL d'acide urique à 24 semaines a une valeur prédictive positive de 33% pour la pré-éclampsie (Jacobson et al., 1990). Chappell et al., 2002 l'ont trouvé prédictif dans une petite étude *case-control* chez les patientes à haut risque. Mais l'acide urique n'est pas largement utilisé car il n'arrive pas à différencier les pré-éclampsies des hypertensions gestationnelles (Lim et al.,1998). La kallicréine urinaire et le calcium urinaire semblent être prédictifs chez les patientes à faible risque de pré-éclampsie.

Les marqueurs pro-inflammatoires et de l'atteinte de l'endothélium semblent aider au diagnostic précoce. L'activation cellulaire de l'endothélium est la cause de l'augmentation de fibronectine sérique (Brubaker et al., 1992 ; Halligan et al., 1994). Chavarria et al., 2003, ont trouvé que les patientes qui développaient une pré-éclampsie avaient des taux significativement augmentés à 12 semaines d'aménorrhée mais la valeur prédictive positive était seulement de 29 % tandis que la valeur prédictive négative était de 98%.

L'augmentation des lipides peroxydes associés à la diminution de l'activité des anti-oxydants chez les patientes avec une pré-éclampsie ont poussé les recherches sur les marqueurs du stress oxydatif. Les pro-oxydants comme le fer, la transferrine, la ferritine, les trigycérides, les acides gras libres et les lipo-protéines n'ont pas montré leur efficacité dans le dépistage de la pré-éclampsie. Les anti-oxydants comme la vitamine C et E ont donné lieu à de nombreux travaux. Chappell et al., 2002, avaient montré que l'acide ascorbique était précocement réduit dans la pré-éclampsie mais une étude plus récente (Poston et al., 2006) n'a pas confirmé les études précédentes. Ils n'ont pas montré de diminution du taux de pré-éclampsie chez les patientes qui ont été traitées par vitamine C et E mais même une augmentation du risque d'hypertension gestationnelle et des petits poids de naissance.

De nombreuses cytokines relâchées par l'endothélium, les leucocytes, les macrophages et les lymphocytes sont élevées dans la pré-éclampsie. Ces cytokines entraînent une réponse inflammatoire et une augmentation d'une cascade de facteurs (comme la protéine C réactive). Un bon nombre de ces marqueurs a été étudié mais aucun n'a été suffisamment prédictif (Savvidou et al., 2002 ; Takacs et al., 2003).

La thrombocytopénie ainsi que les dysfonctions plaquettaires se retrouvent souvent dans la pré-éclampsie. Ahmed et al., 1993, ont trouvé une association entre la pré-éclampsie et le volume plaquettaire.

Les peptides placentaires. Comme mentionné plus haut, la cascade inflammatoire produit de nombreux de nombreux peptides placentaires.

De nombreux travaux ont étudié ces marqueurs comme la CRH, hCG, activine A et l'inhibine A. Les mêmes problèmes que les études précédentes sont rencontrés, les études étant très différentes entre elles. Keelan et al., 2002, ont rapporté que l'activine et l'inhibine A étaient fortement augmentées dans la pré-éclampsie mais d'autres auteurs ont montré un chevauchement de ces molécules chez les patientes normotendues et les patientes pré-éclamptiques (Blackburn et al., 2003 ; Grobman et Wang 2000 ; Zeeman et al., 2002). Les études concernant l'hCG et l'AFP seront discutées plus tard (chapitres 4.1 et 4.2). Les autres peptides placentaires comme la PAPP-A, l'Estriol et la CRH, n'ont pas encore démontré leur rôle dans le dépistage de la pré-éclampsie mais les études sont en cours. La PAPP-A semble plutôt diminuer dans la pré-éclampsie (Spencer et al., 2005 ; Smith GC et al., 2002 ; Dugoff et al., 2004) mais les études sont encore contradictoires (Bersinger et al., 2003). La CRH semble augmenter avec la pré-éclampsie (Ek N. et al., 2003).

1.3.1.3. Implication du système immunitaire

Le processus de l'invasion par les cellules trophoblastiques a lieu dans une situation d'équilibre délicat entre le potentiel invasif des cytotrophoblastes et les mécanismes de défense de la mère.

Les études épidémiologiques indiquent que les grossesses sur insémination avec don de sperme, sans cohabitation antérieure, se compliquent plus souvent de pré-éclampsie et dirige les recherches vers un mécanisme immunitaire de la maladie (Robillard et al., 1994 ; Smith et al., 1997).

On a découvert que le complexe majeur d'histocompatibilité HLA-G est exprimé dans le trophoblaste et le protège contre le système immunitaire foeto-maternel, ce qui lui permet l'invasion de l'utérus. Le Bouteiller et al. (1999) et Dekker et al. (1998) avaient déjà montré que les cellules trophoblastiques sont protégées de l'attaque des *natural killers* présents aux sites d'implantation.

Les récents travaux de Moffet-King (2002) ont montré que le cytotrophoblaste qui envahit le territoire maternel n'exprimait qu'une combinaison unique de HLA : le HLA-C, HLA-E et HLA-G . Les cellules trophoblastiques rencontrent de nombreuses cellules NK (*natural killers*) présentant un phénotype différent que les NK de la circulation maternelle (ils produisent plus de cytokines qui ont une activité cytolytique. Les récepteurs des NK, KIRS (killer immunoglobuline-like receptors) reconnaissent l'HLA-C. Les différents KIRS agissent de multiples manières en fonction des phénotypes des HLA-C (HLA-C1 et HLA-C2) avec lesquels ils interagissent. Certains inhibent les NK, d'autres les stimulent. Les KIRS inhibiteurs sont plus fréquents chez les patientes qui font une pré-éclampsie. Il y a encore plus de risque de pré-éclampsie si le fœtus est homozygote pour le phénotype HLA-C2.

La seconde étape de cette maladie est une atteinte de la fonction endothéliale maternelle généralisée entraînant une maladie systémique avec une réduction de la perfusion de tous les organes (Roberts, 1998). Cette réaction endothéliale généralisée est due à une réponse systémique inflammatoire (Redman et al., 1999; Sacks et al., 1998) et à une augmentation du stress oxydatif (Walsh, 1998 ; Hubel, 1999). La relation de cause à effet entre le *primum movens* qui est probablement l'hypoxie placentaire et les atteintes endothéliales et biologiques observées chez la mère sont actuellement en cours d'investigations.

Une hypothèse plausible est que la perfusion placentaire réduite mène à une augmentation de la peroxydation lipidique et à la libération de radicaux libres d'oxygène, sans une régulation du système antioxydant.

L'activation inhabituelle des neutrophiles et des macrophages, qui pourrait être due en partie aux peroxydes lipidiques, a été démontrée dans le cas de la pré-éclampsie. Cela mène à une production augmentée de cytokine et à l'activation des cellules endothéliales. La peroxydation lipidique conjuguée à la libération des radicaux d'oxygène mène à l'inactivation du NO qui est vasodilatateur.

On a aussi supposé que des fragments de cytotrophoblastes, qui se trouvent, avec des cellules fœtales, en grand nombre dans le sang maternel dans le cas de la pré-éclampsie, pourraient être la cause des

changements des cellules endothéliales dans la mesure où des quantités augmentées de cytokines seraient libérées en tant que réponse inflammatoire. Des grandes quantités de $\text{TNF}\alpha$, $\text{TNF}\alpha$ -récepteurs, interleukin-2, interleukin-6 et interleukin-12 ont été trouvées dans le plasma, le liquide amniotique et le placenta dans les cas de pré-éclampsie. Goswami et al. (2006) ont mis en évidence dans le sang maternel des patientes qui développent précocement une pré-éclampsie (avant la 34 SA) des microparticules de syncytiotrophoblastes.

Le dysfonctionnement endothélial mène à un déséquilibre entre les facteurs vasodilatateurs et vasoconstricteurs et donc à la hypertension. L'équilibre entre les mécanismes de coagulation et d'anti-coagulation du sang est aussi affecté par les changements quantitatifs des substances coagulantes et leurs inhibiteurs. Ce déséquilibre mène à une production diminuée de prostacyclines et à une croissance simultanée de la synthèse de thromboxane A_2 .

Certains auteurs (Ness et al., 1996) proposent deux origines distinctes pour la pré-éclampsie, l'une due à un trouble de la perfusion trophoblastique et l'autre due à un trouble maternel pré-existant. Branch et al. (1989) et Out et al. (1992) parlent en faveur d'une association entre l'apparition précoce de la pré-éclampsie et la présence d'anticorps anti-phospholipidiques, ou la présence de thrombophilies (Dekker et al., 1995), ou la pré-existence d'un diabète sucré compliqué d'une micro-angiopathie (Siddiqi et al., 1991) ou encore la présence d'une hypertension chronique (Dekker et al., 1995).

1.3.1.4. Facteurs génétiques

Les meilleurs marqueurs de la pré-éclampsie restent les antécédents d'hypertension gestationnelle, de pré-éclampsie, d'éclampsie, de HELLP syndrome, de décollement placentaire prématuré, de retard de croissance intra-utérin sévère, de mort fœtale in utero, mais malheureusement la majorité des patientes sont nullipares. Les antécédents familiaux de syndrômes vasculo-rénaux ou les antécédents personnels de thrombose sont des facteurs de risque importants.

On pense qu'il n'existe pas un gène de la pré-éclampsie mais qu'il existe

un profil génétique à risque conféré par la mère ou le profil génétique paternel (Lachmeijer et al., 2002). Certains gènes intervenants dans la réactivité vasculaire, l'homéostasie (Tempfer et al., 2004), l'immunité (Agrawal et al., 2003) ont été considérés contributeurs au profil génétique à risque mais beaucoup d'autres gènes pourraient être en cause, ce qui rend difficile ce genre d'étude. Deux gènes, eNOS (Yoshimura et al., 2000; Landau et al., 2004; Serrano et al., 2004) et l'angiotensinogène (Kobashi et al., 2001; Choi et al., 2004), aussi impliqués dans le développement de l'hypertension, pourraient probablement expliquer la seconde étape de cette maladie car ils augmentent le risque de développer l'hypertension dès le second trimestre mais ils n'expliqueraient pas l'apparition de marqueurs biologiques avant l'hypertension. L'intensification des effets vasoconstricteurs de l'angiotensine II et des catécholamines est considérée comme le résultat de l'équilibre endothélial imparfait constaté dans le cas de la pré-éclampsie. La réaction réduite des vaisseaux à l'angiotensine II (Gant et al., 1973) qui a lieu dans les grossesses normales, ne se manifeste pas, ce qui mène à l'augmentation de la pression sanguine. Un test basé sur la perfusion intraveineuse d'angiotensine II, agressif et coûteux, n'a jamais été effectué en pratique courante (Dietl, 2000).

1.3.2. Traduction clinique de la pré-éclampsie

Rappel de l'évolution physiologique de la pression artérielle au cours de la grossesse normale :

La pression artérielle s'abaisse pendant le premier trimestre de grossesse, reste à un niveau réduit pendant le second trimestre; puis, augmente de nouveau progressivement jusqu'au terme. Les valeurs les plus basses de pression systolique et diastolique sont observées entre la 16^e et la 20^e semaine de grossesse. La pression artérielle moyenne pendant la première moitié du 2^e trimestre est de 120 / 70mmHg.

1.3.2.1. L'hypertension artérielle durant la grossesse

L'hypertension artérielle chronique: il s'agit soit d'une hypertension essentielle (le plus souvent), soit d'une hypertension artérielle liée à une

pathologie endocrinienne, ou encore à une néphropathie chronique ou non, connue ou non avant la conception et qui persiste ou se révèle chez une femme enceinte. La patiente restera hypertendue 3 mois après l'accouchement.

L'hypertension gravidique ou transitoire implique une apparition après la 20^e semaine d'aménorrhée, d'une hypertension systolique ≥ 140 mmHg ou d'une hypertension diastolique ≥ 90 mmHg parfois durant le travail, ou même pendant la période puerpérale, chez une femme antérieurement normotendue, sans protéinurie, et la disparition de l'hypertension dans les trois mois suivant l'accouchement. Cette hypertension proprement gravidique est la complication médicale la plus fréquente au cours de la grossesse, touchant environ 10% des femmes. Elle expose la mère à la pré-éclampsie et à l'éclampsie. Il existe une relation inverse entre croissance foetale et pression artérielle maternelle tout au long de la grossesse normale.

Pré-éclampsie. Actuellement on définit la pré-éclampsie par l'apparition dès la 20^e semaine d'aménorrhée d'une hypertension systolique supérieure ou égale à 140 mmHg et/ou d'une hypertension diastolique supérieure ou égale à 90 mmHg, soit une augmentation de la pression systolique supérieure ou égale 30 mm Hg ou de la pression diastolique supérieure ou égale 15 mm Hg à deux occasions différées de six heures ou plus, avec l'apparition d'une protéinurie avec une excrétion supérieure ou égale à 0.3 g/24h (ou une croix au stix sur un échantillon urinaire) (ACOG, 2002).

Des termes aussi divers que toxémie, gestose, maladie gravidique, néphropathie gravidique ont été utilisés pour définir cette même maladie.

Pré-éclampsie sévère. L'apparition d'une pression systolique supérieure ou égale à 160 mmHg ou une pression diastolique supérieure ou égale à 110 mmHg à deux occasions différées de six heures ou plus, et l'apparition d'une protéinurie sévère avec une excrétion de 5g/24h, ou 2+ sur deux stix effectués à 4 heures ou plus d'intervalle, avec ou sans signes cliniques

(céphalées, troubles de la vision ou neurologiques centraux, douleur épigastrique ou de l'hypochondre droit, nausées, dyspnée, cyanose et oligurie avec une excrétion de moins de 500 ml par 24 heures) et avec ou sans altérations des examens paracliniques (thrombopénie, perturbation des tests hépatiques) survenant après 20 semaines d'aménorrhée.

HELLP (Hemolysis, Elevated Liver Enzymes and Low Platelets). Complication de l'hypertension gravidique ou de la pré-éclampsie, syndrome qui associe une hémolyse de type microangiopathique, une cytolyse hépatique avec élévations des tests hépatiques et une thrombocytopénie (< 100000 plaquettes).

Eclampsie : Crise tonico-clonique généralisée chez une femme présentant une pré-éclampsie ou un HELLP.

Pour ce qui est de la protéinurie, son caractère pathologique peut être affirmé si elle dépasse 300 mg sur les urines de 24 heures en dehors d'un épisode d'infection urinaire ou de lithiase rénale, les 2 étant fréquents durant la grossesse. Sa sévérité est établie si son dosage dépasse 2g/24 heures. L'existence d'une protéinurie s'accompagne sur le plan histologique rénal d'une endothéliose glomérulaire caractérisée par un gonflement des cellules endothéliales avec réduction progressive de la filtration glomérulaire. Ces lésions sont entièrement réversibles quelques semaines après l'accouchement. Il existe par ailleurs des lésions vasculaires de type endartérite fibro-élastique et des dépôts hyalins dans la paroi des artérioles très similaires aux dépôts des hypertensions artérielles chroniques. Quand l'hypertension a été particulièrement sévère, des lésions de hyalinose segmentaire et focale vont apparaître au niveau des glomérules, fréquemment définitives.

1.3.2.2 Facteurs de risque de la pré-éclampsie (Duckitt et al., 2005)

La nulliparité est un des principaux facteurs de risque. En effet, la prévalence de la pré-éclampsie est de l'ordre de 6 à 7% lors de la première

grossesse, moins de 1 % lors de la seconde grossesse. Chez les nullipares, la race noire est un facteur de risque de même que les âges extrêmes (< 18 ans ou > 40 ans) ou un long intervalle entre les grossesses (plus que 10 ans).

Il existe un *caractère familial*. On retrouve fréquemment une histoire de pré-éclampsie chez la mère ou chez une soeur.

L'existence d'une *hypertension*, d'un *diabète insulino-dépendant*, d'une *hypercholestérolémie*, d'une *obésité*, d'une *mutation du facteur V Leiden*, d'un *déficit en protéine S*, d'*anticorps anti-phospholipidique*, d'une *hyperhomocystéinémie* ou d'un simple antécédent familial d'hypertension, augmente également le risque de pré-éclampsie de même qu'une *activité stressante*. Le tabac diminuerait le risque de pré-éclampsie (Dekker et al., 2001).

Les risques liés au *partenaire* sont: les grossesses conçues avec des dons d'ovocytes, l'insémination avec donneur, une exposition au sperme limitée et un partenaire ayant conçu précédemment avec une femme ayant eu une pré-éclampsie. *La consanguinité* ou la trop grande compatibilité HLA des parents sont aussi des facteurs de risque. De plus, le groupe HLA DR4 est, à lui seul, un facteur favorisant.

Chez la multipare, le principal facteur de risque de la pré-éclampsie est *l'existence d'une pré-éclampsie lors de la première grossesse*.

Le risque est accru en cas de *grossesse gémellaire*, de *mole hydatiforme*, d'*anasarque foeto-placentaire* ou d'une *anomalie chromosomique foetale* (trisomie 13, triploïdie).

1.3.2.3. Clinique et complications

Les symptômes prédominants dans cette maladie sont: les oedèmes des mains et du visage mais aussi les oedèmes généralisés avec une prise de

poids, les douleurs épigastriques, les céphalées, différents troubles visuels tels que myodésopsies, scotomes, les troubles de l'état de conscience, l'agitation, malaise, l'hyperréflexie avec une extension de la zone réflexogène et une oligurie. Les symptômes de la pré-éclampsie sévère ont été décrits précédemment. L'éclampsie est souvent due à une hémorragie cérébrale et peut aussi provoquer une asphyxie, un œdème pulmonaire aigu, une défaillance cardiaque, une rupture hépatique, un décollement rétinien et une CIVD.

Sur le plan obstétrical, le risque d'hématome retro-placentaire est augmenté. 2 à 12% des pré-éclampsies sévères se compliquent d'un syndrome de HELLP. Dans ce cas, les complications sont les mêmes que celle de l'éclampsie.

1.3.2.4. Examens paracliniques

Sur le plan biologique, la pré-éclampsie peut s'accompagner d'autres signes que la protéinurie qui en font d'ailleurs la gravité, tels qu'une insuffisance rénale, une altération hépatique, une thrombocytopénie, une hémolyse, une hémocrit, une hyperuricémie et une CIVD. En cas de HELLP, les tests hépatiques dont l'ASAT, l'ALAT et la LDH sont trois fois la norme, la bilirubine totale est $> 25 \text{ umol/l}$, la thrombocytopénie est plus petite que $100 \times 10^9/\text{l}$.

1.3.2.5. Morbidité et mortalité de l'hypertension gravidique et de la pré-éclampsie

Mortalité maternelle et foetale. Pour la mère, la morbidité est en rapport direct avec l'hypertension (le plus souvent par hémorragie cérébrale ou coagulation intravasculaire), elle est de l'ordre de 2 pour 100.000 accouchements dans les pays développés. En revanche, le pronostic foetal est beaucoup plus sévère en cas de pré-éclampsie avec une mortalité foetale de l'ordre de 10 à 15%.

Morbidité foetale: La pré-éclampsie augmente significativement le risque de retard de croissance intra-utérin, d'accouchements prématurés, en plus de la mort *in utero* et de la mort néonatale précoce.

Pronostic des grossesses ultérieures. Classiquement, l'hypertension gravidique survient chez la nullipare et récidive plus rarement. Certains auteurs signalent cependant que le risque relatif de récurrence d'une pré-éclampsie serait multiplié par 7 pour la 2^e grossesse (cf. Lee et al., 2000 ; Campbell et al., 1985 ; Sibai et al., 1986 ; Makkonen et al., 2000 ; Dukler et al., 2001).

Pronostic vasculaire maternel éloigné. Pour ce qui est des séquelles à long terme, une pré-éclampsie sévère, ou une éclampsie, peuvent engendrer des lésions irréversibles chez la mère, notamment une nécrose corticale rénale aiguë ou une hémorragie cérébrale. En l'absence de ces complications, une pré-éclampsie nécessite une surveillance de la pression artérielle en raison de l'incidence plus élevée de survenue d'une hypertension dite essentielle par la suite (risque multiplié par 3 dans les 10 premières années de suivi) (Krzyszinski, 1999) mais aussi de maladies coronariennes et d'AVC (Wilson et al., 2003). Si les patientes ont une pré-éclampsie avec la naissance d'un nouveau-né prématuré ou souffrent de retard de croissance intra-utérin, le risque de maladie coronarienne ou de complications ischémiques cérébrales est encore plus élevé chez la mère mais aussi chez le nouveau-né (Smith et al., 1997).

1.4. Objectif de ce travail

Après avoir passé en revue la physiologie, les régulations et les processus pathologiques de l'angiogénèse placentaire connus à ce jour, de nombreuses interrogations sont encore en suspens. De nombreux travaux sont en cours et les recherches actuelles essaient de trouver les mécanismes de la physiopathologie de la pré-éclampsie et ses probables marqueurs. Le dosage de certaines molécules dans le sang maternel pourraient nous prédire le cours de l'angiogénèse placentaire et le devenir de la grossesse. La capacité de prédire quelles sont les patientes à risque de développer une pré-éclampsie (prévention primaire) serait d'une grande valeur, les cliniciens pourraient identifier les patientes nécessitant un suivi

plus approprié avant l'apparition des signes, des symptômes ou de complications foetales. Jusqu'à maintenant, les efforts se sont penchés sur la détection, le plus précocement possible, des manifestations cliniques de cette maladie (hypertension, protéinurie, oedèmes et prise de poids) pour une prévention secondaire. Actuellement, les recherches tendent à trouver des marqueurs plus proches de la période de la perturbation de l'angiogénèse qui initie la pré-éclampsie.

Ce travail se propose de préciser le rôle et la corrélation entre l'hormone chorionique gonadotrophique et l'alpha-foetoprotéine, toutes les deux dosées en début de grossesse, et l'apparition de la pré-éclampsie. Cette étude genevoise compare, de manière rétrospective, un groupe témoin et un groupe de patientes ayant présenté une pré-éclampsie et met en évidence leurs différences tant biologiques que cliniques.

Ce travail cherche aussi à mettre en évidence les facteurs de risque au développement de la pré-éclampsie (BMI de la mère, âge), la corrélation entre la pré-éclampsie et la prématurité, le retard de croissance intra-utérin ou d'autres complications néo-natales. Il cherche à dépister, par une prévention primaire ou secondaire, les possibilités de diminuer la morbidité et la mortalité de la pré-éclampsie et leur lourdes conséquences médicales et financières (prise en charge des nouveau-nés en néonatalogie ou des patientes aux soins intensifs), par un test de dépistage efficace.

Finalement, au moyen des marqueurs déjà suivis lors de chaque grossesse, nous pourrions dépister précocement les patientes à risque de développer une pré-éclampsie, sans frais supplémentaires.

2. Matériel et méthodes

2.1. Généralités

Ce travail présente une étude rétrospective. Il comprend un échantillon de 151 femmes avec une grossesse unique suivies dans le Département de Gynécologie et Obstétrique de l'Hôpital Universitaire Cantonal de Genève. Cet échantillon est divisé en 2 groupes de femmes en âge de procréer: un *groupe témoin (T)*, dont la grossesse n'a pas montré de complications pré-éclamptiques, ni d'hypertension gestationnelle, et un *groupe de patientes*

pré-éclamptiques (PE) dont la grossesse s'est compliquée de pré-éclampsie.

Le suivi des consultations d'obstétrique, les prises de sang et les accouchements se sont déroulés dans la période de 1994 à 1999. Les données médicales, aussi bien celles qui précèdent que celles qui font suite au déclenchement de la maladie et à l'accouchement ont été récoltées de manière rétrospective sur la base des dossiers médicaux de l'Hôpital cantonal. Ces dossiers médicaux étaient complets et disponibles.

Les résultats sanguins ont été analysés à l'Hôpital Universitaire Cantonal de Genève, les mesures concernant les hormones (la fraction libre β de l'hCG et AFP) proviennent du laboratoire d'Hormonologie de la Maternité de l'Hôpital Universitaire Cantonal de Genève.

2.2. Choix des patientes

Les patientes qui ont été prises en compte dans cette étude ont été sélectionnées dans le Département de Gynécologie et Obstétrique de l'Hôpital cantonal de Genève, selon ces données:

2.2.1. Critères d'inclusion

1. patientes primipares;
2. patientes présentant une grossesse unique;
3. patientes en bonne santé habituelle;
4. patientes ayant accouché entre 1994 et 1999 à la Maternité de l'Hôpital Universitaire de Genève;
5. le groupe témoin a été choisi de manière consécutive et non arbitraire parmi une population de primipares qui ont accouché durant cette période;
6. les patientes tabagiques ont été confondues à toutes les autres patientes;
7. les patientes dont le résultat calculé du double test était normal: $< 1/380$ donc sans risque augmenté de trisomie ont été sélectionnées;
8. les ethnies raciales ont été confondues dans les deux groupes

représentant ainsi la population genevoise.

9. un groupe de patientes multipares qui ont présenté une pré-éclampsie a également été étudié.

2.2.2. Critères d'exclusion

1. patientes souffrant d'hypertension, de maladies du tractus urinaire, de diabète gestationnel ou non, d'un syndrome antiphospholipidique ou d'antécédent de pré-éclampsie ont été exclues;
2. les femmes dont les bébés présentaient une trisomie 21, 13 et 18 ou autres aneuploïdies ont été exclues;
3. les femmes dont les bébés souffraient d'un défaut de la fermeture de tube neural ont aussi été exclues, de même que les patientes dont les bébés présentaient une autre malformation expliquant ou non une augmentation de l'AFP ;
4. les patientes qui ont avorté, même tardivement, ont été exclues.

2.3. Groupes

La pré-éclampsie a été définie selon les critères de l'ACOG (American College of Obstetricians-Gynecologists, 2002):

Pré-éclampsie modérée: l'apparition dès la 20^e semaine d'aménorrhée d'une tension artérielle systolique supérieure ou égale à 140 mmHg et/ou une tension artérielle diastolique supérieure ou égale à 90 mmHg et d'une protéinurie (+ ou ++ sur le stix).

Pré-éclampsie sévère: l'apparition après la 20^e semaine d'aménorrhée d'une tension artérielle systolique supérieure ou égale à 160 mmHg ou une tension artérielle diastolique supérieure ou égale à 110 mmHg et une protéinurie (++) ou (+++ sur le stix).

Le spot urinaire (protéinurie/créatininurie) n'était pas encore calculé durant ces années, ni la protéinurie de 24 heures.

151 femmes ont été considérées dans cette étude, dont 112 grossesses normales et 39 pré-éclampsies modérées ou pré-éclampsies sévères.

Le groupe des pré-éclampsies contenait deux sous-groupes: pré-éclampsies modérées et pré-éclampsies sévères. Ces patientes ont souffert de pré-éclampsie diagnostiquée durant cette même période à l'Hôpital cantonal de Genève, suivant la définition soumise précédemment. Une vérification de tous les dossiers a été effectuée, pour s'assurer que le diagnostic de pré-éclampsie modérée ou sévère a été justement posé. Pour avoir des informations supplémentaires, nous avons rajouté un groupe de patientes multipares qui ont présenté une pré-éclampsie et les avons comparées aux patientes primipares avec une pré-éclampsie. Les patientes ayant eu un syndrome de HELLP ont été considérées comme ayant une pré-éclampsie sévère.

Le groupe témoin a été comparé au groupe de toutes les pré-éclampsies, puis séparément au groupe pré-éclampsie modérée puis au groupe pré-éclampsie sévère. Nous avons également comparé les patientes multipares et nullipares ayant eu une pré-éclampsie.

2.4. Méthodologie des dosages

Comme décrit précédemment, le double test du 2^e trimestre est le dosage sanguin maternel effectué entre la 14^e et la 18 6/7 semaine de grossesse, qui mesure la fraction β libre de l'hCG et l'alpha-foetoprotéine.

Pour ce travail, le double test a été effectué au laboratoire d'hormonologie de la Maternité de Genève, entre la 15^e et la 18 6/7 SA selon les dernières règles; le terme a été corrigé et celui de l'échographie précoce a été pris en compte si l'écart des deux âges gestationnels était plus grand que 14 jours. La prise de sang pour le double test a été effectuée au même moment dans les deux groupes avec une moyenne de 16 semaine de grossesse.

2.4.1 Fraction libre β hCG

Le dosage dans le sérum maternel de la fraction β libre de l'hCG a été effectué par une méthode immuno-enzymatique. Le Kryptor Immunoassay est l'appareil utilisé pour mesurer la fraction β libre de l'hCG. Les anticorps dirigés contre fraction β libre de l'hCG sont détectés quantitativement par

luminescence grâce au cryptate avec un résultat en 30 minutes. Uniquement la fraction libre β a été prise en considération pour cette étude; les formes tronquées et non tronquées ont été mesurées. A cause de l'instabilité de la β hCG due au tronquage par les enzymes présentes ou par une température ambiante élevée, l'acheminement de l'échantillon de sang vers les laboratoires doit se faire dans les 8 heures, délai qui a été respecté puisque le laboratoire d'hormonologie se trouve à la Maternité de l'Hôpital. L'unité de la fraction libre du β HCG utilisé à Genève est, comme celle de l'AFP, le nanogramme/ml, cependant, les résultats sont donnés en une multiple de médiane (MoM) par rapport aux semaines d'aménorrhée correspondantes.

2.4.2. Alpha-foetoprotéine

L'AFP a également été mesurée par immunoassay, en utilisant un système de fluorescence d'anticorps dirigés contre l'AFP. L'unité utilisée est aussi le nanogramme/ml et les résultats sont aussi donnés en MoM.

2.5. Procédure

Pour pouvoir différencier les patientes ayant eu une pré-éclampsie modérée ou sévère, nous nous sommes basés sur la valeur la plus élevée entre la tension artérielle systolique et la tension artérielle diastolique. Si une de ces deux valeurs était égale ou supérieure à 160/110, il s'agissait d'une pré-éclampsie sévère (une tension de $>160/<110$ était considérée comme pré-éclampsie sévère et une tension de $<160/>110$ était aussi considérée comme pré-éclampsie sévère). La majorité des dossiers médicaux ne spécifiaient pas la protéinurie de 24 heures, la mesure a été faite à l'aide des stix urinaires.

D'autres comparaisons hormis la fraction libre β de l'hCG et l'AFP ont été effectuées à travers cette étude afin que les 2 groupes soient mieux comparables ou pour établir d'autres différences entre une grossesse physiologique et une grossesse pré-éclamptique:

- âge de la mère
- poids et taille de la mère lors du prélèvement et de l'accouchement

- BMI des patientes lors du prélèvement (2^e trimestre)
- semaine d'aménorrhée lors du prélèvement
- âge gestationnel à l'accouchement
- poids et taille du bébé
- poids du placenta
- sexe du nouveau-né

En plus de ces données, dans chaque dossier les examens paracliniques effectués dans le cadre de la pré-éclampsie et le résultat du double test ont été relevés.

2.6. Traitement

Les patientes qui ont présenté une pré-éclampsie ont bénéficié de traitement à base de sulfate de magnésium, d'anti-hypertenseur et d'anti-épileptique en fonction de la gravité de l'atteinte en plus de la provocation de l'accouchement. Le traitement médicamenteux n'a cependant pas eu d'influence sur les résultats de cette étude, ayant été introduit après les dosage du β hCG libre et de l'AFP et de la prise de la tension artérielle et de la protéinurie.

2.7. Données d'intérêt

Les données d'intérêt particulier de cette étude sont :

- la corrélation entre la valeur de la fraction libre β de l'hCG ou l'AFP et l'apparition de la pré-éclampsie;
- la corrélation entre la fraction libre β de l'hCG ou l'AFP et la sévérité de la pré-éclampsie; leur spécificité et sensibilité dans la pré-éclampsie;
- la corrélation entre la pré-éclampsie et la prématurité, le retard de croissance intra-utérin ou d'autres complications néo-natales;
- la mise en évidence de facteurs de risque au développement de la pré-éclampsie (BMI de la mère, parité), pour la prévention primaire de la pré-éclampsie;
- la mise en évidence de facteurs de risque à la prématurité, l'apparition d'un retard de croissance intra-utérin;

- essai de définir des marqueurs de la pré-éclampsie sans frais supplémentaires (double test effectué lors de chaque grossesse suivie en Suisse);
- essai de diminuer la morbidité, la mortalité de la pré-éclampsie et leurs conséquences financières par une prévention primaire ou secondaire.

2.8. Méthodologie statistique

Les résultats des mesures hormonales ont été convertis en multiple de médiane (MoM) correspondant à l'âge gestationnel par rapport aux dernières règles ou par rapport à l'ultrason précoce si l'écart des deux âges gestationnels était plus grand que 14 jours.

Les différents groupes ont été comparés à l'aide du test non paramétrique de Wilcoxon (ou Mann-Whitney), les variables ne suivant pas une distribution normale. Il teste si les deux groupes ont la même médiane. Les tables donnent les valeur P du test de Wilcoxon, les médianes et les quartiles de chaque groupe. Si la valeur du P est $> 0,05$, les médianes sont les mêmes, si elle est inférieure, les médianes ne sont pas les mêmes et la différence est significative.

Le programme statistique employé et les analyses statistiques ont été effectués à l'Unité de Développement du département d'Obstétrique de l'Hôpital Cantonal Universitaire de Genève.

3. Résultats

3.1. Description des groupes

Au total, 151 patientes ont été incluses dans cette étude :

- 112 témoins (T),
- 39 souffrant de pré-éclampsie (P) dont
 - 12 pré-éclampsies modérées (Pm) et
 - 27 pré-éclampsies sévères (Ps).

Toutes les patientes sont des primipares. Parmi les 39 patientes souffrant de pré-éclampsie, 12 ont présenté une pré-éclampsie modérée et 27 une pré-éclampsie sévère) (cf. Fig. 8).

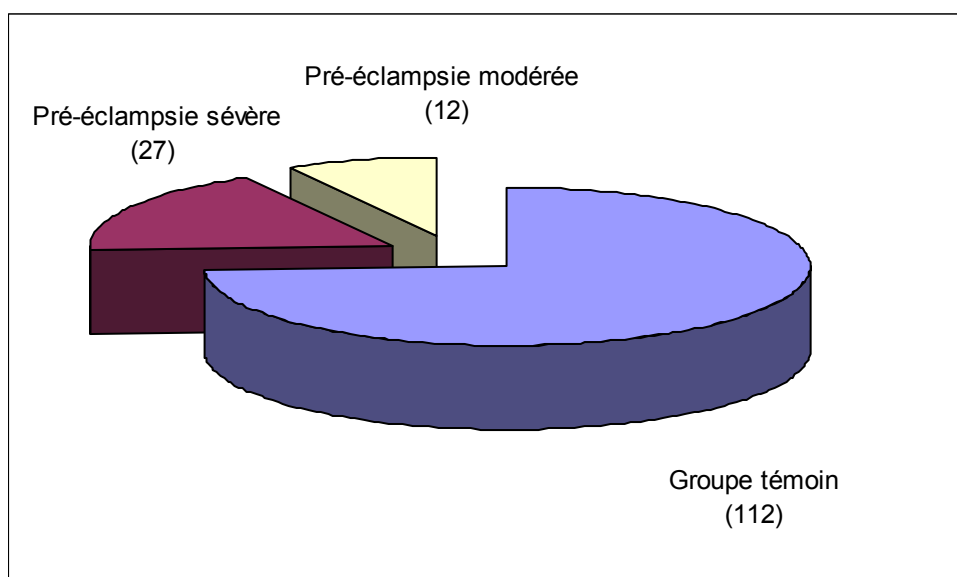


Figure 8. La répartition des trois groupes

Les groupes sont comparables au vu de leur antécédents médicaux (maladies rénales, diabète, hypertension artérielle chronique, hypertension gestationnelle, malformations fœtales exclues).

Les patientes dans le groupe témoin ont eu une grossesse sans complications. Les patientes dans le groupe pré-éclampsie n'ont pas eu d'autres complications que la pré-éclampsie et les complications qui en découlent directement.

3.2. Caractéristiques maternelles (cf. Tableau 1)

L'âge des patientes au moment du dosage est le même dans les deux groupes (28 ans). La pesée prise en compte a été effectuée aux mêmes semaines gestationnelles dans les deux groupes (environ 16^e semaine d'aménorrhée). Le poids lors du prélèvement est tout à fait comparable dans ces deux groupes, les groupes ne diffèrent pas quant à leur BMI (Body Mass Index en Kg/m²).

La prise de poids jusqu'à l'accouchement est légèrement plus élevée dans le groupes souffrant de pré-éclampsie, malgré un accouchement prématuré (plus 15 Kg dans le groupe pré-éclampsie et plus 11,5 Kg dans le groupe témoin).

Caractéristiques des patientes			
	Pré-éclampsie (n=39) Médiane et quartiles	Témoins (n=112) Médiane et quartiles	Valeur de P
Age à l'accouchement (années)	28 (22-31)	28 (25.25-30.00)	0.56
Poids lors du prélèvement (Kg)	58 (53-70)	61 (55-67)	0.3
BMI lors du prélèvement (Kg/m ²)	22.7 (20.81-26.67)	22.3 (20.81-24.45)	0.69
Semaines d'aménorrhée lors du prélèvement	16 (15-16)	16 (15-16)	0.5954
Poids lors de l'accouchement (Kg)	73 (62.5-80.5)	72.5(66-81)	0.84

Tableau 1. Patientes primipares, pré-éclampsie versus groupe témoin. Les résultats sont exprimés en médianes et quartiles. Valeur P du test de Mann-Whitney

La moyenne de la tension artérielle dans le groupe pré-éclampsie a été effectuée. Les tensions ont été prises avant l'accouchement, soit avant le début du travail. 12.7/ 7.5 est la moyenne pour les grossesses normales (cf. Tableau 2).

Moyennes des tensions artérielles dans le groupe pré-éclampsie		
	TA syst. MmHg Moyenne et déviation standard	TA dia MmHg Moyenne et déviation standard
Pré-éclampsie n=39	16.4 (+/- 1.147)	10 (+/- 1.15)

Tableau 2. Moyenne des tensions artérielles en MmHg dans le groupe pré-éclampsie

Nous avons comparé les patientes avec une pré-éclampsie modérée et une pré-éclampsie sévère (cf. Tableau 3). Les caractéristiques des différentes patientes ayant eu une pré-éclampsie modérée ou sévère sont comparables. Ces deux groupes ne diffèrent pas quant à leur âge, leur BMI et leur poids à l'accouchement. Leur prise de poids est identique.

Caractéristiques des patientes primipares avec PE			
	PE sévère n=27 Médiane et quartiles	PE modérée n=12 Médiane et quartiles	Valeur de P
Age à l'accouchement (années)	28(22-31)	27(23-30)	0.7458
Poids lors du prélèvement Kg	56(50-70)	62.5(55.5-69.85)	0.1852
BMI lors du prélèvement Kg/m²	21.64(20.57-25.71)	24.55(22.14-27.27)	0.1041
Poids lors de l'accouchement Kg	70(61.8-83.9)	76.5(66.6-80.0)	0.4462

Tableau 3. Patientes primipares avec pré-éclampsie sévère ou modérée. Les résultats sont exprimés en médianes et quartiles. Valeur P du test de Mann-Whitney.

3.3. Caractéristiques des nouveau-nés (cf. Tableau 4)

Comme attendu, les groupes des nouveau-nés diffèrent quant à de nombreux points. L'accouchement est plus prématuré dans le groupe pré-éclampsie que dans le groupe témoin. Ceci est très probablement iatrogène. L'accouchement étant le traitement principal de la pré-éclampsie, ces patientes, qui, lors de diagnostic de cette maladie, n'étaient pas forcément en travail spontané, ont bénéficié, en fonction de l'âge gestationnel et de la gravité de la pré-éclampsie, d'un accouchement par voie basse provoqué par prostaglandine PGE2 ou par ocytocine ou par césarienne en fonction de l'évolution de la maladie et de l'accouchement. Les accouchements, provoqués ou non, ont lieux deux semaines plus tôt

chez les patientes souffrant de pré-éclampsie (38.22 + versus 40.43 + semaines d'aménorrhée, différence significative avec une valeur de $P < 0.0001$).

Les nouveau-nés des femmes pré-éclaptiques souffrent de *retard de croissance intra-utérin* avec un poids de naissance atteignant les 2610 g de moyenne (< percentile 10 pour les deux sexes) à 38 semaines d'aménorrhée versus 3400g (= percentile 50 pour les deux sexes) dans le groupe témoin à 40 semaines d'aménorrhée. La taille est aussi inférieure dans le groupe pré-éclampsie de 2.25 cm par rapport aux nouveau-nés de femmes avec une grossesse de bonne évolution: 47.75 cm dans le groupe pré-éclampsie versus 50 cm dans la groupe témoin.

Le poids placentaire est lui aussi en moyenne bien inférieur chez les patientes souffrant de pré-éclampsie: 520 g dans le groupe pré-éclampsie, contre 560 g dans le groupe témoin mais la différence n'est pas significative (cf. Tableau 4, * = statistiquement significatif)

Caractéristiques des nouveau-nés des patientes primipares			
	Pré-éclampsie (n=39) Médiane et quartiles	Témoins n=112 Médiane et quartiles	Valeur de P
Age gestationnel à la naissance en semaines d'aménorrhée	38.22(35.18-40.14)	40.43(39.43-41.14)	<0.0001*
Poids nouveau-né grammes	2610(1780-3380)	3400(3120-3708)	<0.0001*
Taille des nouveau-né cm	47.75(43.25-50.00)	50(49-52)	<0.0001*
Poids du placenta grammes	520(380-610)	560(475-625)	0.0283*

Tableau 4. Comparaison des nouveau-nés des patientes primipares. Les résultats sont exprimés en médianes et quartiles. Valeur P du test de Mann-Whitney.

Voici la répartition de tous les nouveau-nés des patientes primipares issus de notre étude sur un graphique, repartis en fonction de l'âge gestationnel et du poids à la naissance. Prématurité et RCIU se confirment dans le groupe pré-éclampsie (carrés blancs) (cf. Figure 9).

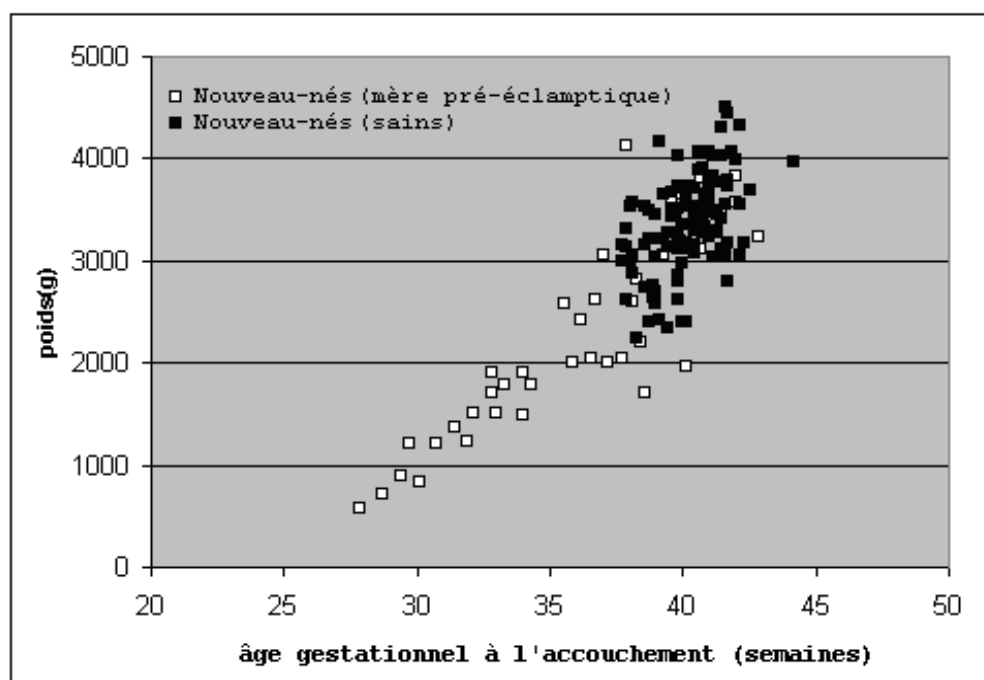


Figure 9. Distribution des nouveau-nés des patientes pré-éclampsiques et non pré-éclampsiques

Nous n'avons pas rencontré de différence significative entre le groupe témoin et le groupe pré-éclampsie concernant les sexes des nouveau-nés mais quelques données sont manquantes (3 patientes du groupe témoin et 9 patientes dans le groupe pré-éclampsie).

Nous avons comparé les nouveau-nés des patientes primipares uniquement entre une pré-éclampsie modérée et une pré-éclampsie sévère. Ces deux groupes sont semblables quant à l'âge gestationnel à l'accouchement, le poids et la taille du nouveau-né et le poids du placenta. (cf. Tableau 5).

Caractéristiques des nouveau-nés des patientes primipares avec PE			
	PE sévère n=27 Médiane et quartiles	PE modérée n=12 Médiane et quartiles	Valeur de P
Âge gestationnel à la naissance en semaines d'aménorrhée	38(33.75-40.18)	38.29(36.78-39.72)	0.9692
Poids des nouveau-nés (g)	2570(1710-3380)	2725(1845-3387.5)	0.863
Taille des nouveau-nés (cm)	46.5(42.88-50.25)	48(45.5-49.75)	0.8278
Poids du placenta (g)	540(354.5-610)	500(372.5-587.5)	0.9213

Tableau 5. Nouveau-nés des patients primipares avec pré-éclampsie sévère ou modérée. Les résultats sont exprimés en médianes et quartiles.
Valeur P du test de Mann-Whitney.

Le poids et la taille des nouveau-nés sont légèrement plus bas dans le groupe pré-éclampsie sévère par rapport au groupe de pré-éclampsie modérée (2570 g versus 2725 g ; 46,5 cm versus 48 cm), mais les différences ne sont pas significatives. L'âge gestationnel à l'accouchement est comparable dans les 2 groupes avec un accouchement légèrement plus précoce dans le groupe de femmes avec une pré-éclampsie sévère. Le poids du placenta est étonnamment plus lourd dans le groupe avec une pré-éclampsie sévère.

3.4. Comparaison patientes multipares et primipares (cf. Tableau 6)

Pour agrandir notre groupe pré-éclampsie, nous avons également sélectionné des patientes multipares et nous avons comparé les patientes

pré-éclampsiques primipares (39 patientes) et primipares et multipares confondues (51 patientes). Comme attendu, il y a une légère différence d'âge entre les patientes primipares et multipares et primipares confondues. La moyenne d'âge des patientes primipares est de 28 ans alors que la moyenne d'âge des patientes multipares et primipares est de 29 ans. La différence n'est pas significative.

La prise de poids est légèrement plus grande chez les patientes primipares uniquement qui ont eu une pré-éclampsie, par rapport aux primipares et multipares confondues qui ont eu une pré-éclampsie, mais la différence n'est pas non plus significative (plus de 13 kg chez les patientes multipares et primipares et plus de 15 kg chez les patientes primipares).

Comparaison des patientes multipares et primipares		
	Pré-éclampsie multipares + primipares n = 51 Médiane et quartils	Pré-éclampsie primipares uniquement N = 39 Médiane et quartils
Poids lors du prélèvement (Kg)	62 (54-73)	58 (33-70)
Poids à l'accouchement (Kg)	75 (63.5-84.7)	73 (62.5-80.5)
Âge à l'accouchement	29 (23-32)	28 (22-31)
Âge gestationnel à l'accouchement en semaines d'aménorrhée (SA)	37.43 (33-40)	38.22 (35.18-40.14)

Tableau 6. Comparaison des patientes multipares et primipares avec pré-éclampsie. Les résultats sont exprimés en médianes et quartiles. Valeur P du test de Mann-Whitney.

Comme attendu, les patientes primipares uniquement accouchent plus tard que les patientes multipares et primipares confondues (37.43 semaines d'aménorrhée versus 38.22). La différence n'est pas significative.

La différence entre les nouveau-nés est significative quant à leur poids et le poids du placenta, avec un poids à la naissance et le poids placentaire plus élevés chez les patientes primipares uniquement que chez les patientes primipares et multipares confondues.

Comparaison des nouveau-nés chez les patientes pré-éclamptiques			
	Patientes PE multipares et primipares n = 51	Patientes PE primipares uniquement n = 39	Valeur de P
Poids des nouveau-nés (g)	2200 (1540 – 3240)	2610 (1780 -3380)	< 0.05
Taille des nouveau-nés (cm)	46 (42.5 – 50)	47.75 (43.25 – 50)	> 0.05
Poids du placenta (g)	440 (320 – 600)	520 (380 –610)	< 0.05

Tableau 7. Comparaison des nouveau-nés de patientes pré-éclamptiques (nullipares versus multipares et nullipares). Les résultats sont exprimés en médianes et quartiles. Valeur P du test de Mann-Whitney.

3.5. Résultats β hCG

3.5.1. Pré-éclampsie versus témoins (cf. Tableau 8)

Nous n'avons pas mis en évidence de différence significative quant au β hCG entre ces 2 groupes. La médiane des MoM de la fraction libre β hCG du groupe témoin est de 1.167 versus 1.094 dans le groupe pré-éclampsie avec une valeur de P de 0.7099. Les quartiles sont employés car la distribution de ces paramètres n'est pas gaussienne et ils définissent un écart où se trouvent la moitié des valeurs.

Résultats β hCG des patientes primipares			
	Pré-éclampsie n=39	Témoins n=112	Valeur de P
Médiane des MoM de βhCG	1.094	1.167	0.7099
Quartiles Q1-Q3	0.787-1.521	0.807-1.544	

Tableau 8. Résultats: Médianes des multiples de médianes de la fraction β libre de l'hCG des patientes primipares. Pré-éclampsie versus groupe témoin. Valeur P du test de Mann-Whitney.

3.5.2. Pré-éclampsie sévère versus pré-éclampsie modérée

Il y a une différence mais non significative entre les deux sous-groupes, pré-éclampsie modérée et pré-éclampsie sévère, chez les primipares uniquement (cf. Tableau 9). La MoM des β hCG chez les pré-éclampsies sévères est plus élevée que celle des pré-éclampsies modérées.

	PE sévère n=27	PE modérée n=12	Valeur de P
Médiane des MoM de βhCG	1.15	0.977	0.5784
Quartiles Q1-Q3	0.660-1.731	0.868-1.186	

Tableau 9. Résultats: Médianes des multiples des médianes de la fraction β libre de l'hCG chez les patientes primipares. Pré-éclampsie sévère versus pré-éclampsie modérée. Valeur P du test de Mann-Whitney.

Nous avons aussi comparé le β hCG de toutes nos patientes témoins (nullipares) avec toutes nos patientes pré-éclamptiques (multipares et nullipares). La valeur de P est de 0.36, donc la différence n'est pas significative. Si nous comparons les patientes pré-éclamptiques entre elles

(nullipares versus multipares et nullipares), la médiane de la fraction libre du β hCG est plus élevée dans les groupes des primipares uniquement: 1.094 versus 1.167 dans le groupe mélangeant primipares et multipares. Si nous divisons le groupe de pré-éclampsies (primipares et multipares confondues) en modérées et sévères, il n'y a pas non plus de différence significative même entre le groupe témoin et les pré-éclampsies sévères.

3.5.3. Synthèse des résultats de la fraction libre de β hCG

Nous n'avons donc pas trouvé de différences significatives entre les médianes des MoM de la fraction β libre de l'hCG des différents groupes.

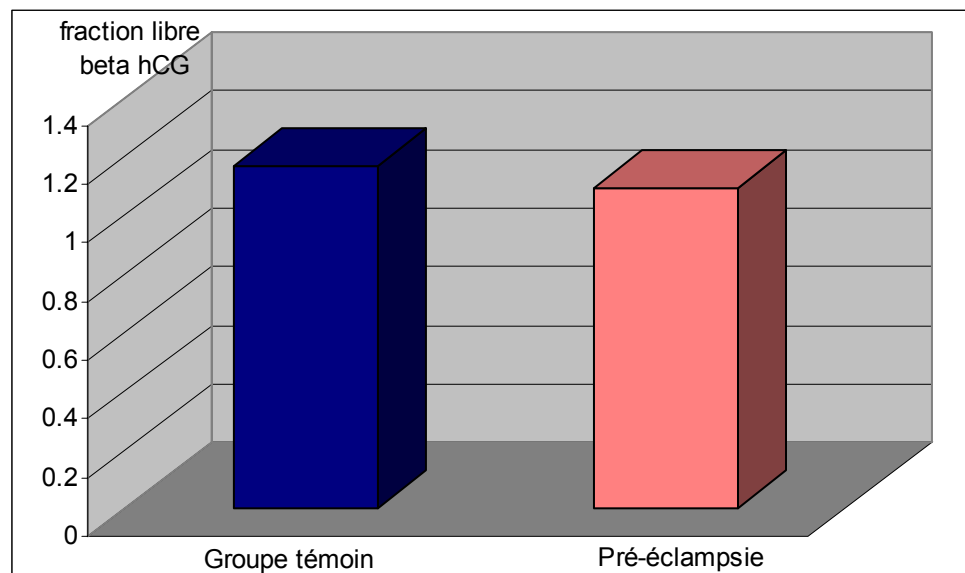


Figure 10. Médiane des multiples de médianes de la fraction β libre de l'hCG :

Groupe témoin versus groupe pré-éclampsie. Axis = MoM fraction libre β hCG.

La médiane du groupe témoin et la médiane du groupe de pré-éclampsie sévère sont plus élevées que la médiane du groupe de pré-éclampsie modérée. Il n'y a donc pas de tendance dans ces résultats.

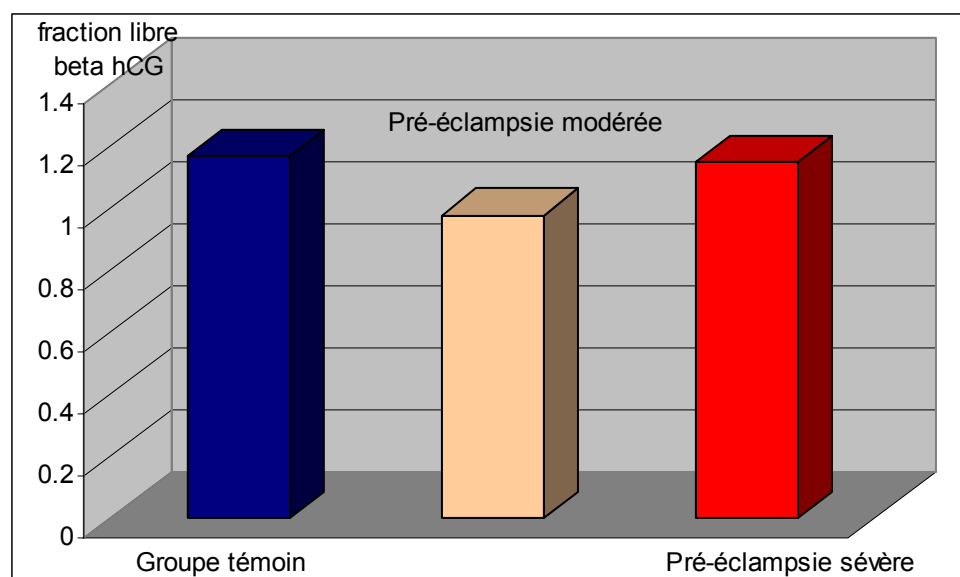


Figure 11. Médiane des multiples de médianes de la fraction β libre de l'hCG .

Groupe témoin, groupe pré-éclampsie modérée et groupe pré-éclampsie sévère. Axis = MoM fraction libre β hCG.

3.6. Résultats AFP

3.6.1. Pré-éclampsie versus témoins (cf. Tableau 10)

L'AFP est significativement plus élevée dans le groupe présentant une pré-éclampsie que dans le groupe témoin (1.069 MoM dans le groupe pré-éclampsie vs 0.945 MoM dans le groupe témoin, $P = 0.0149$).

Résultats AFP patientes primipares			
	Pré-éclampsie n=39	Témoins n=112	Valeur de P
Médiane des MoM de l'AFP	1.065	0.945	0.0053*
Quartiles Q1-Q3	0.860-1.663	0.765-1.259	

Tableau 10. Résultats: Médianes des multiples de médiane de l'AFP des patientes primipares. Pré-éclampsie versus groupe témoin.

(* = statistiquement significatif)

3.6.2. Pré-éclampsie sévère versus témoins

(cf. Tableau 11).

L'élévation de l'AFP est proportionnelle à la sévérité de la pré-éclampsie.

Si l'on définit deux sous-groupes selon la sévérité de la pré-éclampsie (modérée et sévère), le groupe témoin (médiane des MoM de l'AFP : 0.945) se différencie significativement des pré-éclampsies sévères (médiane des MoM de l'AFP: 1.226).

Résultats AFP			
	Pré-éclampsie sévère n=27	Témoins n=112	Valeur de P
Médiane des MoM de l'AFP	1.226	0.945	0.047*
Quartiles Q1-Q3	0.856-1.626	0.765-1.259	

Tableau 11. Résultats: Médianes des multiples de médiane de l'AFP.

Pré-éclampsie sévère versus groupe témoin.

(* = statistiquement significatif)

3.6.3. Pré-éclampsie sévère versus pré-éclampsie modérée

(cf. Tableau 12)

La différence n'est pas significative entre le groupe de pré-éclampsie modérée et sévère, avec une valeur de P de 0.2709, mais la médiane est légèrement plus élevée chez les patientes avec une pré-éclampsie sévère.

Résultats AFP patientes primipares avec pré-éclampsie			
	PE sévère n=27	PE modérée n=12	Valeur de P
Médiane des MoM de l'AFP	1.226	0.989	0.2709
Quartiles Q1-Q3	0.860-1.71	0.876-1.102	

Tableau 12. Résultats: Médianes des multiples de médiane de l'AFP des patientes primipares. Pré-éclampsie sévère versus pré-éclampsie modérée.

Il n'y a pas non plus de différence significative de l'AFP entre le groupe témoin et les pré-éclampsies modérées (P = 0.0053) (cf. Tableau 13).

Résultats AFP patientes primipares			
	PE modérée n = 12	Groupe témoin n = 112	Valeur de P
Médiane des MoM de l'AFP	0.989	0.945	0.0053
Quartiles Q1-Q3	0.876-1.1021	0.765-1.259	

Tableau 13. Résultats: Médianes des multiples de médiane de l'AFP des patientes primipares. Pré-éclampsie modérée versus groupe témoin.

3.6.4. Synthèse des résultats de l'AFP

Ces résultats montrent que malgré un effectif modéré (surtout des patientes avec une pré-éclampsie modérée), l'AFP est supérieure dans le groupe pré-éclampsie et varie avec la sévérité de la maladie (cf. Figure 12). Ces différents groupes n'ont pas d'autre cause d'élévation de l'AFP et sont comparables quant à leur parité, leur âge et leurs antécédents.

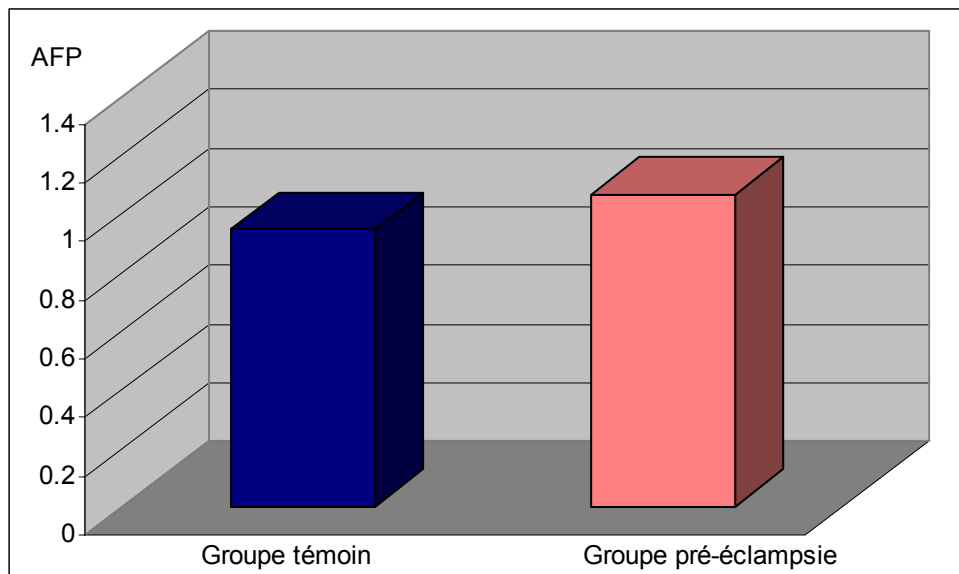


Figure 12. Médiane des multiples de médianes de l'AFP des patientes primipares. Groupe témoin versus groupe pré-éclampsie. Axis = MoM de l'AFP.

Plus l'AFP est élevé, plus la pré-éclampsie est sévère (cf. Figure 13).

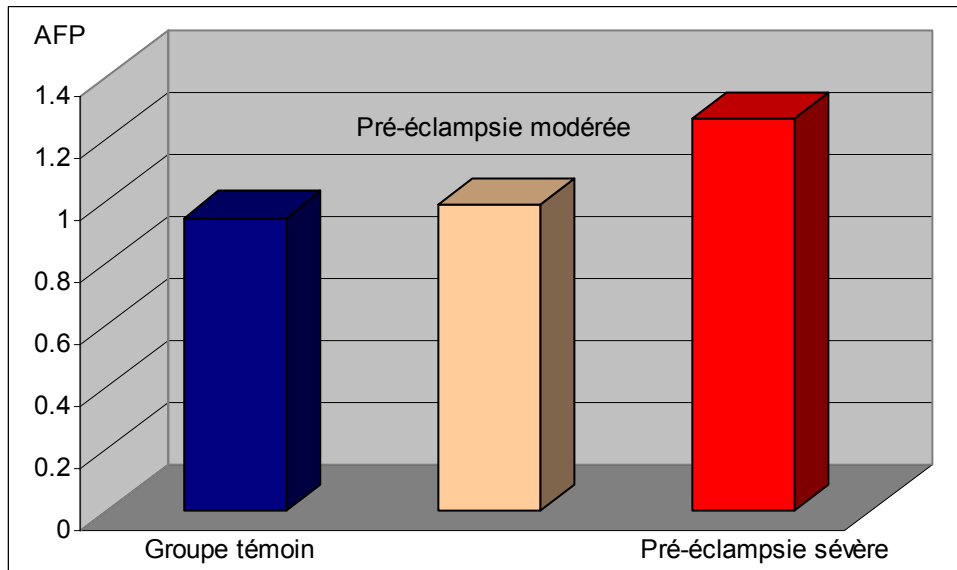


Figure 13. Médiane des multiples de médianes de l'AFP des patientes primipares. Groupe témoin versus pré-éclampsie modérée et versus pré-éclampsie modérée. Axis = MoM de l'AFP.

Les variables ne suivant pas une distribution normale, des tests de comparaison non-paramétriques doivent être utilisés. On ne peut donc pas

appliquer les test paramétriques (test ANOVA par exemple) pour comparer les médianes.

Nous avons aussi comparé l'AFP en fonction de la parité et nous n'avons pas trouvé de différence significative entre les médianes de l'AFP des patientes primipares, secondipares et tertipares. Cependant la puissance de cette comparaison est relativement faible au vu du petit nombre de patientes secondipares et tertipares que nous avons uniquement dans le groupe avec une pré-éclampsie.

Sensibilité-spécificité (cf. Fig. 14 et 15)

Ces graphiques montrent l'allure de la courbe ROC de l'AFP (ligne continue) ainsi que celle de la fraction libre de β hCG (ligne pointillée).

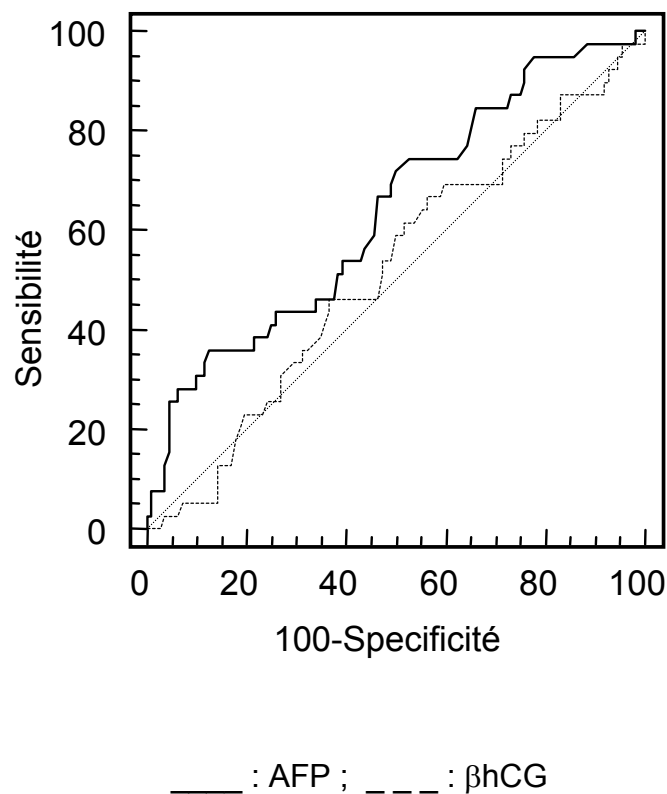


Figure 14. Sensibilité et spécificité de l'AFP et de la β hCG pour la pré-éclampsie chez les patientes primipares.

Pour une valeur cut-off de l'AFP de 1.4, la sensibilité de l'AFP est de 35,9 et la spécificité de 87,5 pour la pré-éclampsie. La courbe ROC prend une autre allure si nous tenons compte des patientes primipares et multipares de notre étude (cf. Fig.15).

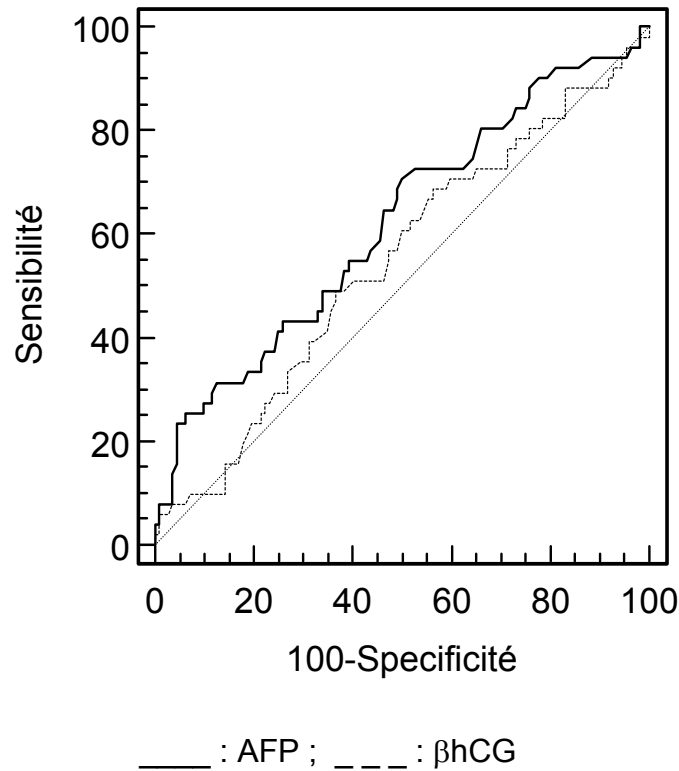


Figure 15. Sensibilité et spécificité de l'AFP et de la β hCG pour la pré-éclampsie chez les patientes multipares et primipares confondues.

Ses patientes primipares et multipares ont été confondues (voir Fig.14). pour une valeur cut-off d'AFP de 1.04, la sensibilité est de 54,9 et la spécificité de 60,7.

4. Discussion

Notre hypothèse de travail est basée sur plusieurs données: l'hCG est sécrétée par le cytotrophoblaste et le syncytiotrophoblaste et est un marqueur de la différenciation cytotrophoblastique; elle maintient le début de la grossesse ; sa production est stimulée par différentes molécules dont

les facteurs de croissance et les cytokines. Sachant que les placentas des patientes pré-éclamptiques présentent des troubles de la différenciation cellulaire avec une invasion déficiente et un plus petit poids, une altération dans la quantité totale de l'hCG semble être logique.

En ce qui concerne l'AFP, il a été décrit que l'augmentation de l'AFP était associée à un risque augmenté d'avortement spontané, de prématurité, de RCIU et de mort-nés (Duric et al., 2003). L'augmentation de la concentration de l'AFP maternelle durant la chute de la concentration fœtale du second trimestre est probablement due à une augmentation de la diffusion ou de la perméabilité placentaire à l'AFP, fluctuant avec l'âge de la grossesse. Les troubles placentaires rencontrés dans la pré-éclampsie pourraient-ils accentuer cette diffusion ? Une perméabilité placentaire augmentée contribuerait-elle à une concentration sérique maternelle plus élevée d'AFP ?

Cette hypothèse pourrait également s'appuyer sur le fait que chez les patientes diabétiques dont les placentas sont hypertrophiés, l'AFP est diminuée de 20% par rapport aux autres patientes. L'hypertrophie placentaire empêcherait-elle la diffusion de l'AFP ?

Ces deux marqueurs, apparemment liés au développement placentaire, déjà recherchés chez toutes les patientes gravides, pourraient-ils nous aider dans la prévention et le traitement des pré-éclampsies ?

Nos deux groupes sont tout à fait comparables quant à leur âge, leur poids, leur taille. La seule différence mise en évidence est, lorsque l'on prend en compte les patientes multipares et nullipares dans le groupe pré-éclampsie et uniquement les patientes primipares dans le groupe témoin, le Body Mass Index est augmenté dans le groupe de pré-éclampsie.

Cette différence est probablement due à un poids plus élevé chez les patientes secondipares et tertipares.

Cependant, si on restreint nos patientes à celles qui sont des primipares lors de cet accouchement, le BMI est le même pour le groupe témoin et le groupe pré-éclampsie.

Le poids et le volume de distribution pouvant avoir une influence sur les résultats de la concentration sanguine de l'AFP et de l'hCG, nous avons

trouvé nécessaire de comparer nos groupes quant à leur poids et BMI lors du prélèvement du β hCG et de l'AFP et de l'accouchement.

4.1. hCG et pré-éclampsie

Certains auteurs tendent à admettre qu'*in vitro* l'hCG est modifiée durant la pré-éclampsie. Tout d'abord, l'hCG semble agir sur le *VEGF*: des études ont démontré que l'hCG augmentait l'expression du VEGF dans le corps lutéal de l'ovaire (Sugino et al., 2000) de même que la densité vasculaire (angiogénèse) lutéale (Kashida et al., 2001). Dans d'autres expériences où l'effet de l'hypoxie a été étudié sur le VEGF, on a pu démontrer une forte corrélation entre l'hCG et le VEGF, ce qui pourrait nous laisser penser que le VEGF est régulé par l'oxygène et l'hCG (Taylor et al., 1997). Les lésions vasculaires précoces diminuent probablement l'apport en oxygène ce qui engendrerait une augmentation de la sécrétion d'hCG due à l'hyperplasie des cellules cytotrophoblastiques (Onderoglu et al., 1996).

L'hCG semble agir directement sur *l'invasion trophoblastique*: l'hCG a comme effet *in vitro* une augmentation de l'invasion et de la migration du trophoblaste, la prolifération restant inchangée (Zygmunt et al., 1998). Des études sur des placentas ont montré un lien entre une augmentation d'hCG placentaire et un trouble de l'implantation placentaire et des signes d'inflammation placentaire chronique (Liu et al., 1999).

Ces données peuvent tout à fait être corrélées aux données histologiques des placentas des patientes souffrant de pré-éclampsie: les placentas présentent une implantation superficielle, une activité mitotique accrue avec prolifération cytotrophoblastique, et des lésions nécrotiques dans le syncytiotrophoblaste (Liu et al., 1999, Redline et al., 1995, Redmann, 1991). Sorensen et al. (1993) ont suggéré que les changements placentaires qui résultent en une hypoperfusion étaient la cause de cette production augmentée de β hCG. Ceci indique probablement une réaction sécrétoire du placenta des patientes souffrant de pré-éclampsie.

De nombreuses études se contredisent encore sur le lien entre l'hCG et la pré-éclampsie. Selon Lee et al., 2000, Sorensen et al., 1993, Muller et al.,

1997 ; Ashour et al., 1997 ; Luckas et al., 1998 ; Vaillant et al., 1996 ; Barros et al., 2002, Aquilina et al., 2000, l'hCG est augmenté ; diminuée ou non modifiée selon Morssink et al., 1997; Pouta et al., 1998; Raty et al., 1999; Stamilio et al., 2000.

Vu que la β hCG est sécrétée par le syncytiotrophoblaste, des modifications de cette glycoprotéine peuvent refléter une différenciation ou une fonction syncytiotrophoblastique altérée. Les peptides placentaires reflètent la fonction du trophoblaste et l'évolution de la grossesse. L'invasion trophoblastique suit la différenciation cytotrophoblastique-syncytiotrophoblastique pendant laquelle l'hCG et ses sous-unités sont sécrétées. Dans la pré-éclampsie, non seulement des lésions histologiques seraient présentes mais il y aurait aussi une sécrétion incontrôlée de l'hCG et ses sous-unités. Des études montrant une augmentation de la sous-unité α uniquement dans la pré-éclampsie ont aussi été effectuées (Moodley et al., 1995). Utero et al.(1989) ont trouvé dans le syncytiotrophoblaste de femmes souffrant de pré-éclampsie des taux plus élevés de sous-unités α et β de l'hCG, ces sous-unités étant plus élevées chez les patientes avec une pré-éclampsie sévère.

D'autres auteurs font une différence entre la validité des marqueurs sériques et le moment de l'apparition de la pré-éclampsie et suggèrent que l'AFP et l'hCG seraient de meilleurs marqueurs lors de pré-éclampsie à début précoce (Shenhav et al., 2002).

Dans le dépistage du syndrome de Down, l'élévation de l'hCG est un facteur prédictif important pour l'aneuploïdie fœtale. Cependant la majorité des cas ayant une hCG augmentée ne montrent pas d'aneuploïdie ou d'autres malformations fœtales. Les études récentes suggèrent qu'il y a une relation entre une augmentation inexplicée de β hCG et l'hypertension gestationnelle, la pré-éclampsie, les retards de croissance intra-utérine, la prématurité et d'autres complications (Said et al., 1984 ; Sorensen et al., 1993; Wenstrom et al., 1994).

Notre étude n'a pas montré de différence quant à la fraction libre de la β hCG dosée lors du dépistage de second trimestre dans le groupe comprenant des grossesses d'évolution normale et le groupe qui s'est compliqué de pré-éclampsie. Plusieurs hypothèses peuvent être émises quant à ces résultats. L'hCG total est probablement un facteur prédictif de la pré-éclampsie, car, comme décrit précédemment, il est impliqué dans l'angiogénèse. Le nombre de patientes incluses dans notre l'étude est probablement trop faible. Dans cette étude, nous avons uniquement pris en compte la fraction β hCG clivée: y a-t-il une augmentation de l'hCG totale sans changement des fractions clivées? Nous n'avons malheureusement pas les dosages de l'hCG total disponibles.

Une différence de l'hCG peut probablement apparaître plus tôt ou plus tard dans la grossesse. A quelle semaine gestationnelle peut-on mettre en évidence une différence significative de l'hCG entre patientes qui présenteront une pré-éclampsie ou non ? Des élévations précoces ou plus tardives de l'hCG peuvent-elles engendrer des pathologies différentes ? Avec les tests du 1^{er} trimestre actuellement effectués, pourrait-on mettre cette fois en évidence une différence de β hCG entre patientes pré-éclamptiques ou non pré-éclamptiques ?

La différence dans les résultats de l'hCG entre grossesses normales et grossesses se compliquant d'un syndrome de Down est-elle probablement due au retard du développement placentaire dans les dernières ou à une sécrétion placentaire anormale ?

Les résultats des différentes études étant si contradictoires, nous pourrions aussi émettre l'hypothèse que la fraction β libre de l'hCG est augmentée dans une certaine population à risque de pré-éclampsie (par exemple une augmentation de l'hCG a été retrouvé chez des patients souffrant de lupus) mais ne met pas en évidence toutes les patientes à risque pour cette maladie.

Nous basant sur le processus d'angiogénèse placentaire, il serait peut-être utile de rajouter au dosage de l'hCG, le VEGF ou le sFlt1 pour en

établir des probables corrélations.

Une étude plus étendue prenant en compte non seulement les pré-éclampsies mais aussi d'autres maladies obstétricales avec une insuffisance placentaire et leur corrélation avec l'hCG serait intéressante.

Des travaux sur l'association de marqueurs comme l'hCG et le Doppler fœtal pourraient nous aider à dépister la pré-éclampsie. Vaillant et al. (1996) ont montré que l'hCG à la 17^e SA était un très bon marqueur de la pré-éclampsie, tout aussi bon que le Doppler des artères utérines. L'établissement d'un score comprenant des marqueurs sériques et l'échographie-Doppler au premier trimestre serait probablement d'une grande aide mais difficile à mettre en place.

Leptine et pré-éclampsie

Il aurait été intéressant de doser la leptine chez ces patientes pour voir ses corrélations avec la fraction β libre de l'hCG et la pré-éclampsie.

Son rôle dans l'angiogénèse a été supposé chez les humains après avoir été démontré chez les rats (induction de l'angiogénèse dans la cornée d'un rat). Chez l'homme, on a démontré que la leptine avait une activité mitogène sur les cellules endothéliales, qu'elle jouait un rôle dans l'angiogénèse en régulant l'expression des métalloprotéinases (MMPs) et des inhibiteurs des métalloprotéinases (TIMPs) (Park et al., 2001). Castelluci et. al. (2000) ont suggéré qu'*in vivo*, la leptine jouait un rôle important dans l'invasion du trophoblaste extravilleux en augmentant la sécrétion de métalloprotéinase MMP-2 et -9 et de fibronectine foetale par les cellules cytotrophoblastiques. Ces molécules, régulées par de nombreux autres facteurs, dont les plus importants sont le TGF- β , le TNF et IL-1 α , dégradent la matrice extracellulaire.

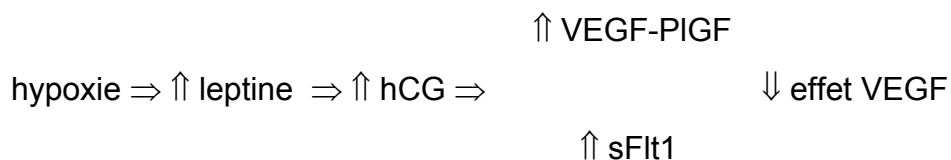
Ces métalloprotéinases se trouvent être les mêmes que celles observées dans l'invasion tissulaire des tumeurs. Des études sur le placenta nous permettront probablement d'apprendre les mécanismes qui régulent ces

métalloprotéinases, impliquées dans l'invasion tumorale, dans le temps et dans l'espace.

De plus Chardonnes et al., (1999) ont montré *in vitro* que la leptine, proportionnellement à sa dose, augmentait la production de l'hCG par le trophoblaste. Plus récemment, il a été mis en évidence *in vitro* que la leptine avait un effet stimulant sur la pulsatilité de l'hCG (Islami et al., 2003-b). Ceci pourrait expliquer *in vivo* comment la leptine agirait sur l'angiogénèse placentaire. La GnRH augmente aussi *in vitro* la sécrétion d'hCG (Gordon et al., 2002).

D'autres travaux *in vitro* ont montré l'effet de la leptine et de l'hCG sur le contrôle de la sécrétion de VEGF à l'interface foeto-maternelle (Islami et al., 2003-a).

Nous pensons que dans la pré-éclampsie, l'hypertension contribue à l'hypoxie placentaire, ce qui engendre un niveau de la leptine élevé. La leptine, en augmentant la sécrétion de l'hCG, pourrait réguler l'angiogénèse en réponse d'une hypoxie trophoblastique, en augmentant le VEGF, le PlGF et le sFlt1, diminuant ainsi l'effet réel du VEGF.



Le VEGF serait capturé par son récepteur soluble et n'agirait plus comme facteur de croissance angiogénique.

Un travail très récent montre que la leptine pourrait être un marqueur précoce de la pré-éclampsie (Baksu et al., 2005).

4.2. Alpha-foetoprotéine et pré-éclampsie

La fonction de l'AFP reste encore spéculative mais elle pourrait agir comme transporteur intra-vasculaire et contribuer au maintien de la pression oncotique . Sa concentration sanguine maternelle augmente jusqu'à la trentième semaine de gestation alors que la concentration fœtale diminue dès la fin du premier trimestre.

Dans notre travail, l'AFP du second trimestre est augmentée chez les patientes qui ont développé une pré-éclampsie et cette augmentation est corrélée à la sévérité de la maladie. Dans nos groupes témoins et pré-éclampsie, les étiologies connues d'élévation de l'AFP ont été exclues et les deux groupes ne diffèrent pas quant à leur âge, leur poids, leur parité et leurs antécédents.

Une élévation des taux sériques maternels de l'AFP du second trimestre, sans explication d'une anomalie fœtale, a déjà été associée à une évolution pathologique de la grossesse comme une hypertension gestationnelle, au retard de croissance intra-utérin, à l'accouchement prématuré, à l'oligo-hydramnios, au décollement placentaire ou à la mort in utero (Brock et al., 1982; Purdie et al., 1983; Walters et al., 1985; Katz et al., 1990; Williams et al., 1992; Wald et al., 1977; Yaron et al., 1999; Maher et al., 1994). Les études se contredisent cependant sur l'AFP comme facteur prédictif de la pré-éclampsie. Simpson et al. (1995), Pouta et al. (1998) et Morssink et al. (1997) ne retrouvent pas d'association, Waller et al. (1996) trouve une AFP diminuée, Wenstrom et al. (1996) et Leung et al. (2000) trouvent une AFP sanguine maternelle augmentée chez les patientes avec une pré-éclampsie.

Une élévation inexpliquée de l'AFP sérique maternelle a été associée à des lésions histologiques de type thrombotique et inflammatoire des vaisseaux placentaires (Salafia et al., 1988 ; Purdie et al., 1983 ; Williams et al., 1992) mais aussi à des lésions macroscopiques comme des hémorragies péri-placentaires et une épaisseur placentaire augmentée (Kelly et al., 1989). Ceci suggère que l'atteinte placentaire pourrait permettre une diffusion plus rapide de l'AFP du compartiment foeto-placentaire à celui maternel résultant en une élévation de l'AFP sérique

maternelle. Cette hypothèse est soutenue par les résultats d'autres études (Yaron et al., 1999 ; Cusick et al., 1996).

Le mécanisme exact de l'élévation de l'AFP devrait actuellement être étudié. Il pourrait en effet s'agir d'une fuite transplacentaire de l'AFP de la circulation fœtale qui pourrait être due à son tour aux défauts de la structure placentaire par déficience de la barrière endothéliale augmentant l'aire de diffusion de cette hormone. L'AFP augmentée peut aussi provenir du fœtus en souffrance chronique. Un décollement placentaire (Purdie et al., 1983), ou une ischémie placentaire due à des thrombi intervillositaires (Salafia et al., 1995) qui engendreraient une souffrance fœtale, pourraient expliquer une augmentation de l'AFP sérique maternel.

L'AFP met probablement en évidence des pré-éclampsies dues uniquement à certaines pathologies. Sachant que les femmes souffrant de thrombophilies ont un risque accru de complications obstétricales comme la pré-éclampsie, mais aussi de décollement placentaire et de mort in utero, et sachant également que l'AFP est augmentée dans les grossesses qui présentent les mêmes complications, ne pourrait-on pas se pencher sur l'association de l'AFP et les thrombophilies ? Des études ont déjà décrit l'élévation de l'AFP associée à certaines thrombophilies comme le syndrome anticorps anti-phospholipidiques (Silver et al., 1994).

Si les études le confirment, une AFP augmentée pourrait pousser le clinicien à effectuer les investigations approfondies des thrombophilies.

Il n'est pas encore possible d'avancer des chiffres exactes du nombre de pré-éclampsies qu'on diagnostiquerait en utilisant l'AFP. La sensibilité et spécificité sont relativement faibles dans notre étude. Pour une valeur cut-off de l'AFP de 1.4, la sensibilité de l'AFP pour la pré-éclampsie est de 35.9 et la spécificité de 87.5. D'autres travaux avec des cohortes plus importantes et des études prospectives doivent suivre.

L'adjonction d'autres tests, comme l'échographie-Doppler, au dosage de l'AFP pourrait augmenter notre spécificité et sensibilité.

L'hormone chorionique gonadotrophique (hCG) ou l'HPL (hormone placentale lactogène) dont nous avons parlé précédemment et dont la

production semble liée à la masse placentaire, pourrait nous aider à détecter la pré-éclampsie, car les placentas des patientes souffrant de pré-éclampsie plus petits que les placentas des patientes sans pré-éclampsie.

4.3. Discussions diverses

Nos résultats ont montré des âges identiques entre le groupe témoin et le groupe des pré-éclampsies. L'âge avancé et la nulliparité, qui sont des facteurs de risque pour la pré-éclampsie, se trouvant aux deux extrêmes, il semble logique de retrouver une moyenne d'âge dans le groupe pré-éclampsie semblable à la population normale.

Si on prend en compte toutes nos patientes avec une pré-éclampsie (primipares et multipares) et toutes les patientes témoins (primipares) le BMI est plus grand lors de la prise de sang du 2^e trimestre chez le groupe qui a présenté une pré-éclampsie. Plusieurs explications peuvent être données. Première explication, les patientes multipares du groupe pré-éclampsie présentent un poids plus élevé que les patientes primipares. Deuxième explications, les patientes ayant un BMI supérieur à la moyenne lors de second trimestre auraient plus le risque de présenter une pré-éclampsie. La leptine jouerait donc un rôle dans l'angiogénèse.

Si on prend en compte à nouveau toutes les patientes avec une pré-éclampsie (primipares et multipares) et toutes les patientes témoins (primipares), la prise de poids entre le deuxième trimestre et l'accouchement est aussi plus grande chez les patientes souffrant de pré-éclampsie malgré leur accouchement prématuré (plus 11 Kg dans le groupe témoin et plus 13 Kg dans la groupe pré-éclampsie). Il est encore difficile à dire s'il y a un lien entre cette prise de poids plus élevée chez les patientes pré-éclampsiques et la leptine qui aurait une influence sur l'invasion placentaire. Existe-t-il un lien entre une AFP augmentée et une plus grande prise de poids ?

Dans ce travail, nous n'avons pas suivi les tensions artérielles depuis le début de la grossesse. Pourrait-il exister une période durant l'angiogénèse placentaire précoce durant laquelle une tension artérielle élevée

épisode qui engendrerait une hypoperfusion placentaire momentanée et déclencherait ainsi le processus de la pré-éclampsie ?

Nous n'avons pas relevé si les accouchements étaient spontanés ou provoqués, car les accouchements des patientes pré-éclamptiques sont souvent provoqués.

Cette étude ne comprend qu'un groupe à bas risque pour la pré-éclampsie car nous avons exclu toutes les patientes présentant des facteurs de risque hormis l'âge. Nous n'avons pas étudié de groupe à haut risque et ces travaux restent à faire.

5. Conclusion

Tant que la physiopathologie de la pré-éclampsie comprenant l'association d'une multitude de systèmes différents ne sera pas complètement élucidée, il sera difficile de proposer des mesures préventives ou prédictives. Actuellement nous possédons une partie des facteurs de risques mais il nous reste à déterminer les marqueurs biologiques puis le profil génétique. L'identification claire de marqueurs pourrait permettre de traiter ou prévenir la pré-éclampsie, diminuer la morbidité et la mortalité fœtale et maternelle. Mais elles pourraient aussi nous faire avancer dans le domaine de l'oncologie car le placenta détient le secret d'une angiogénèse limitée dans le temps et dans l'espace, en utilisant les mêmes processus d'invasion que les tumeurs.

Les recherches se font actuellement dans tous les domaines. Les généticiens cherchent de nombreux loci qui doivent contribuer à créer un profil génétique à risque. Une mutation dans le gène STOX1 qui intervient dans la différenciation des cellules trophoblastiques a été récemment découverte (Arngrisson, 2005).

Les biologistes cherchent des marqueurs sériques. Le sFlt1, l'Inhibine-A, l'Urotensin-II (Balat et al., 2005) sont probablement les futurs marqueurs de la pré-éclampsie. Des cellules fœtales et les gènes de cellules fœtales,

comme le Rhésus D seraient plus présentes en début de grossesse chez les patientes qui vont développer une pré-éclampsie (Cotter et al., 2005).

La prévention de la pré-éclampsie serait un grand pas en avant dans la pratique obstétricale et les soins néonataux. L'étiologie exacte n'étant pas encore connue, une prévention primaire n'est pas encore disponible, la prévention secondaire actuelle (aspirine) n'a pas encore montré son efficacité (Dekker et al., 2001). Il semblait que l'apport de vitamine E et C soient efficace en améliorant le stress oxydatif (Chappell et al., 2002), mais une récente étude (Poston et al., 2006) a montré qu'il n'y a pas de diminution du taux de pré-éclampsie avec la prise de vitamine C et E, mais que ces vitamines augmentent le risque d'hypertension gestationnelle, sont associées à un plus petit poids de naissance et augmentent le taux de mort in utero.

L'intérêt de cette étude réside non seulement dans l'actualité du sujet mais aussi dans l'intérêt médical et financier de trouver des tests de dépistage de la pré-éclampsie. Malgré le nombre relativement restreint de patientes impliquées, nous avons pu montrer des différences significatives de l'AFP.

Au vu des nombreuses retombées médicales de la pré-éclampsie surtout dans les pays en voie de développement où par exemple des centres de soins-intensifs en néonatalogie n'existent pas, Agustin Conde-Agudelo et al. se sont lancés très récemment pour l'Organisation Mondiale de la Santé à effectuer une revue systématique de toutes les publications concernant le tests de dépistage de la pré-éclampsie.

Leur différentes sources étaient tirées des travaux publiés dans toutes ces bases de données : MEDLINE (de 1966 à février 2003), EMBASE (de 1974 à février 2003), POPLINE (de 1982 à février 2003), CINAHL (de 1982 février 2003) et LILACS (de 1982 à février 2003) mais aussi les différents congrès sur la pré-éclampsie, les revues, les chapitres concernés des text-books, les bibliographies des articles recensés et les discussions avec les experts de ces branches. 87 études sur 7191 ont été sélectionnées, comprenant 211369 femmes. Voici les tests

qu'ils ont recueillis et qu'ils ont différenciés en quatre groupes distincts :

SCREENING TESTS FOR PREECLAMPSIA IDENTIFIED IN THE LITERATURE

1. Placental perfusion and vascular resistance dysfunction related tests

Mean blood pressure in second trimester
Roll over test
Isometric exercise test
Intravenous infusion of angiotensin II
Platelet angiotensin II binding
Platelet calcium response to arginine vasopressin
Renin
24-hour ambulatory blood pressure monitoring
Doppler ultrasound

2. Fetoplacental unit endocrinology dysfunction-related tests

Human chorionic gonadotropin
Alpha fetoprotein
Estriol
Inhibin A
Pregnancy-associated plasma protein A
Activin A
Corticotropin release hormone

3. Renal dysfunction-related tests

Serum uric acid
Microalbuminuria
Urinary calcium excretion
Urinary kallikrein
Microtransferrinuria
N-acetyl-_glucosaminidase

4. Endothelial and oxidant stress dysfunction-related tests

Platelet count
Fibronectin
Platelet activation and endothelial cell adhesion molecules
Endothelin
Prostacyclin
Thromboxane
Cytokines
Homocysteine
Isoprostanes
Serum lipids
Insulin resistance
Antiphospholipid antibodies
Plasminogen activator inhibitor

Placenta growth factor
Leptin
Hematocrit
Total proteins
Antithrombin III
Magnesium
Calcium
Ferritin
Transferrin
Haptoglobin
Atrial natriuretic peptide
_2-microglobulin
Genetic markers

Figure 20. (dans: Conde-Agudelo A, Villar J, & Lindheimer M (2004) World Health Organization systematic review of screening tests for preeclampsia. *Obstetrics and Gynecology*, **104**(6), 1367-1391)

Leur conclusion tombée en décembre 2004 nous informait qu'il n'y a pas encore de test de dépistage de la pré-éclampsie pour les patientes à bas et à haut risque utilisable en clinique courante. Ils ont cependant mis en évidence que trois de ces tests avaient une valeur prédictive modérée chez les patientes à bas risque: les anticorps anti-cardiolipine, la présence d'un notch bilatéral des artères utérines à l'échographie-Doppler et la kallikréine urinaire mais ces tests ne peuvent pas être adressés à la population générale. Selon eux, il y a encore trop peu d'études sur les autres tests pour pouvoir évaluer leur efficacité clinique.

Notre conclusion: les recherches doivent continuer à travers des études retrospectives, prospectives et transversales. Pour la pré-éclampsie, utilisant probablement différentes voies physiopathologiques, il est difficile de trouver un seul marqueur mettant en évidence toutes les pré-éclampsies. Certains types de pré-éclampsie vont être détectés par des marqueurs placentaires élevés, d'autres par une échographie Doppler utérine pathologique. Il y a de plus en plus d'intérêt pour l'apparition de tests combinés comme pour le dépistage de la trisomie 21. Peu de travaux s'y sont déjà penchés. Deux récentes études montrent une forte association entre la pré-éclampsie et la combinaison de trois marqueurs placentaire : la première comprenait la combinaison du *plasminogen activator inhibitor (PAI-1/PAI-2)*, la *leptine* et le *PIGF* ; la deuxième

combinaison est le *sFLT1* et le *PIGF* (Levine et al., 2004; Thadhani et al., 2004). Un risque calculé comprenant l'analyse de Doppler utérin associé à des marqueurs placentaires, comme par exemple dans le dépistage du syndrome de Down, semble être le prochain pas à franchir sans oublier que le test idéal doit rester simple, rapide, bon marché, non invasif et non nuisible.

Les études sur les risques cardio-vasculaires que courent les patientes qui ont eu une pré-éclampsie (Smith et al., 2001) et leurs nouveau-nés nous poussent aussi à identifier la pathogénèse de cette maladie et à en trouver la prévention primaire (Goswami et al., 2004, Moffet-King, 2002, Vainio et al., 2005).

6. Bibliographie

Agrawal S & Pandey MK (2003) The potential role of HLA-G polymorphism in maternal tolerance to the developing fetus. *Journal of Hematotherapy Stem Cell Research*, **12(6)**, 749-756.

Ahmed A, Dunk C, Ahmad S, & Khaliq A (2000) Regulation of placental vascular endothelial growth factor (VEGF) and placenta growth factor (PlGF) and soluble Flt-1 by Oxygen - A Review. *Placenta*, **21, Suppl.A**, S16-S24.

Ahmed Y, Vaniddekinge B, Paul C, Sullivan MHF & Elder MG (1993) Retrospective analysis of platelet numbers and volumes in normal-pregnancy and in preeclampsia. *British Journal of Obstetrics and Gynecology*, **100(3)**, 216-220.

Aitken DA, Wallace EM, Crossley JA, Swanston IA, van Pareren Y, van Maarle M, Groome NP, Macri JN, & Connor JM (1996) Dimeric inhibin A as a marker for Down's syndrome in early pregnancy. *New England Journal of Medicine*, **334(19)**, 1231-1236.

Aquilina J, Maplethorpe R, Ellis P, & Harrington K (2000) Correlation between second trimester maternal serum inhibin-A and human chorionic gonadotrophin for the prediction of preeclampsia. *Placenta*, **21**, 487-492.

Arngrimsson R (2005) Epigenetics of hypertension in pregnancy. *Nature Genetics*, **37(5)**, 460-461.

Ashour AM, Liberman ES, Haug LE, & Repke JT (1997) The value of elevated second-trimester beta-human chorionic gonadotropin in predicting development of preeclampsia. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, **176**, 438-442.

Audibert F (2005) Screening for pre-eclampsia: the quest for the Holy Grail? *Lancet*, **365(9468)**, 1367-1369.

Baksu A (2004) The third-trimester maternal plasma estradiol levels in normotensive pregnant women. *Acta Obstetrica et Gynecologica Scandinavica*, **83(11)**, 1097.

Baksu A, Ozkan A, Goker N, Baksu B, & Uluokac A (2005) Serum leptin levels in preeclamptic pregnant women: relationship to thyroid-stimulating hormone, body mass index, and proteinuria. *American Journal of Perinatology*, **22(3)**, 161-164.

Balat O, Aksoy F, Kutlar I, Ugur MG, Iyikosker H, Balat A, & Anarat R (2005) Increased plasma levels of Urotensin-II in preeclampsia-eclampsia: a new mediator in pathogenesis? *European Journal of Obstetrics, Gynecology and Reproductive Biology*, **120(1)**, 33-38.

Barros JS, Baptista MG, & Bairos VA (2002) Human chorionic gonadotropin in human placentas from normal and preeclamptic pregnancies. *Archives of Gynecology and Obstetrics*, **266(2)**, 67-71.

Bartha JL, Harrison G, Kyle PM, & Soothill PW (2003) Fetal serum alpha-fetoprotein in alloimmunised pregnancies. *Prenatal Diagnosis*, **23**, 917-920.

Bersinger NA, Noble P, & Nicolaides KH (2003) First-trimester maternal serum PAPP-A, SP1 and M-CSF levels in normal and trisomic twin pregnancies. *Prenatal Diagnosis*, **23(2)**, 157-162.

Bersinger NA, Smarason AK, Muttukrishna S, Groome NP & Redman CW (2003) Women with preeclampsia have increased serum levels of pregnancy-associated plasma protein a (PAPP-A), inhibin A, activin A, and soluble E-selectin. *Hypertension in Pregnancy*, **22(1)**, 45-55.

Bewley S, Cooper D & Campbell S (1991) Doppler investigation of uteroplacental blood-flow resistance in the 2nd trimester - A screening study for preeclampsia and intrauterine growth-retardation. *British Journal of Obstetrics and Gynecology*, **98(9)**, 871-879.

Blackburn CA, Keelan JA, Taylor RS & North RA (2003) Maternal serum activin A is not elevated before preeclampsia in women who are at high risk. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, **188(3)**, 807-811.

Bogart MH, Golbus MS, Sorg ND, & Jones OW (1989) Human chorionic gonadotropin levels in pregnancies with aneuploid fetuses. *Prenatal Diagnosis*, **9(6)**, 379-384.

Borzychowski,AM, Croy,BA, Chan,WL, Redman,CW & Sargent IL (2005) Changes in systemic type 1 and type 2 immunity in normal pregnancy and pre-eclampsia may be mediated by natural killer cells. *European Journal of Immunology*, **35(10)**, 3054-3063.

Branch DW, Andres R, Digre KB, Rote NS, & Scott JR (1989) The association of antiphospholipid antibodies with severe preeclampsia. *Obstetrics and Gynecology*, **73(4)**, 541-545.

Breier G (2000) Angiogenesis in embryonic development. *Placenta*, **21 (Suppl.A)**, 511-515.

Brock DJ, Barron L, Watt M, Scrimgeour JB, & Keay AJ (1982) Maternal plasma alpha-fetoprotein and low birthweight: a prospective study throughout pregnancy. *British Journal of Obstetrics and Gynaecology*, **89(5)**, 348-351.

Brubaker DB, Ross MG & Marinoff D (1992) The function of elevated plasma fibronectin in preeclampsia. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, **166(2)**, 526-531.

Campbell DM, MacGillivray I & Carrhill R 1985. Pre-eclampsia in 2nd pregnancy. *British Journal of Obstetrics and Gynaecology*, **92(2)**, 131-140.

Caniggia I, Grisaru-Gravnovsky S, Kuliszewsky M, Post M, & Lye SJ (1999) Inhibition of TGF-beta 3 restores the invasive capability of extravillous trophoblasts in preeclamptic pregnancies. *Journal of Clinical Investigation*, **103(12)**, 1641-1650.

Caniggia I, Winter J, Lye SJ, & Post M (2000) Oxygen and placental development during the first trimester: implications for the pathophysiology of pre-eclampsia. *Placenta*, **21 (Suppl.A)**, 25-30.

Castellucci M, De Matteis R, Meisser A, Cancellio R, Monsurro V, Islami D, Sarzani R, Marzioni D, Cinti S, & Bischof P (2000) Leptin modulates extracellular matrix molecules and metalloproteinases: possible implications for trophoblast invasion. *Molecular Human Reproduction*, **6(10)**, 951-958.

Cetin I, Morpurgo PS, Radaelli T, Taricco E, Cortelazzi D, Belotti M, Pardi G, & Beck-Peccoz P (2000) Fetal plasma leptin concentrations: relationship with different intrauterine growth patterns from 19 weeks to term. *Pediatric Research*, **48(5)**, 646-650.

Chappell L & Bewley S (1998) Pre-eclamptic toxemia: the role of uterine artery Doppler. *British Journal of Obstetrics and Gynecology*, **105(4)**, 379-382.

Chappell LC, Seed PT, Briley A, Kelly FJ, Hunt BJ, Charnock-Jones DS, Mallet AI, & Poston L (2002) A longitudinal study of biochemical variables in women at risk of preeclampsia. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, **187(1)**, 127-136.

Chappell LC, Seed PT, Kelly FJ, Briley A, Hunt BJ, Charnock-Jones DS, Mallet A, & Poston L (2002) Vitamin C and E supplementation in women at risk of preeclampsia is associated with changes in indices of oxidative stress and placental function. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, **187(3)**, 777-784.

Chardonens D, Cameo P, Aubert ML, Pralong FP, Islami D, Campana A, Gaillard RC, & Bischof P (1999) Modulation of human cytotrophoblastic leptin secretion by interleukin-1alpha and 17beta-oestradiol and its effect on HCG secretion. *Molecular Human Reproduction*, **5(11)**, 1077-1082.

Chavarria ME, Lara-Gonzalez L, Gonzalez-Gleason A, Sojo I, & Reyes A (2002) Maternal plasma cellular fibronectin concentrations in normal and preeclamptic pregnancies: a longitudinal study for early prediction of preeclampsia. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, **187(3)**, 595-601.

Chien PF, Arnott N, Gordon A, Owen P, & Khan KS (2000) How useful is uterine artery Doppler flow velocimetry in the prediction of pre-eclampsia, intrauterine growth retardation and perinatal death? An overview. *British Journal of Obstetrics and Gynaecology*, **107(2)**, 196-208.

Choi H, Kang JY, Yoon HS, Han SS, Whang CS, Moon IG, Shin HH, & Park JB (2004) Association of Angiotensin-converting enzyme and angiotensinogen gene polymorphisms with preeclampsia. *Journal of Korean Medical Science*, **19(2)**, 253-257.

Choy MY, Leung TN, & Lau TK (2004) Corticotropin-releasing hormone peptide and human first-trimester placental growth . *Early Human Development*, **79(1)**, 77-80.

Cicero S, Bindra R, Rembouskos G, Spencer K, & Nicolaides KH (2003) Integrated ultrasound and biochemical screening for trisomy 21 using fetal nuchal translucency, absent fetal nasal bone, free beta-hCG, and PAPP-A at 11 to 14 weeks. *Prenatal Diagnosis*, **23**, 306-310.

Cicero S, Rembouskos G, Vandecruys H, Hogg M, & Nicolaides KH (2004) Likelihood ratio for trisomy 21 in fetuses with absent nasal bone at the 11-14-week scan. *Ultrasound Obstetrics and Gynecology*, **23(3)**, 218-223.

Clark DE, Smith SK, Sharkey AM, & Charnock Jones DS (1996) Localization of VEGF and expression of its receptors flt and KDR in human placenta throughout pregnancy . *Human Reproduction*, **11(5)**, 1090-1098.

Conde-Agudelo A, Villar J, & Lindheimer M (2004) World Health Organization systematic review of screening tests for preeclampsia. *Obstetrics and Gynecology*, **104(6)**, 1367-1391.

Cotter AM, Martin CM, O'Leary JJ, & Daly SF (2005) Increased fetal RhD gene in the maternal circulation in early pregnancy is associated with an increased risk of pre-eclampsia. *British Journal of Obstetrics and Gynaecology*, **112(5)**, 584-587.

Crescimanno C, Marzioni D, Persico MG, Vuckovic M, Muhlhauser J, & Castellucci M (2000) Expression of bFGF, PlGF and their receptor in the human placenta (Abstract). *Placenta*, **16** .

Cross JC (2000) Genetic insights into trophoblast differentiation and placental morphogenesis . *Seminars in Cell & Developmental Biology*, **11(2)**, 105-113.

Cunningham FG et al. (2005) *Williams Obstetrics*. 22nd edition. McGraw-Hill, New York (etc).

Cusick W, Rodis JF, Vintzileos AM, Albin SM, McMahon M, & Campbell WA (1996) Predicting pregnancy outcome from the degree of maternal serum alpha-fetoprotein elevation. *Journal of Reproductive Medicine*, **41(5)**, 327-332.

Dekker G & Sibai B (2001) Primary, secondary, and tertiary prevention of pre-eclampsia. Review. *Lancet (The)*, **357(9251)**, 209-215.

Dekker GA & Sibai BM (1998) Etiology and pathogenesis of preeclampsia: current concepts. Review. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, **179(5)**, 1359-1375.

Dekker GA, de Vries JL, Doelitzsch PM, Huijgens PC, von Blomberg BM, Jakobs C, & van Geijn HP (1995) Underlying disorders associated with severe early-onset preeclampsia. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, **173(4)**, 1042-1048.

Dietl J (2000) The pathogenesis of pre-eclampsia: new aspects. Review. *Journal of Perinatal Medicine*, **28(6)**, 464-471.

Duckitt K & Harrington D 2005. Risk factors for pre-eclampsia at antenatal booking: systematic review of controlled studies. *British Medical Journal*, **330 (7491)**, 565-567.

Dugoff L, Hobbins JC, Malone FD, Porter TF, Luthy D, Comstock CH, Hankins G, Berkowitz RL, Merkatz I, Craigo SD, Timor-Tritsch IE, Carr SR, Wolfe HM, Vidaver J & D'Alton ME (2004) First-trimester maternal serum PAPP-A and free-beta subunit human chorionic gonadotropin concentrations and nuchal translucency are associated with obstetric complications: A population-based screening study (The FASTER Trial). *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, **191(4)**, 1446-1451.

Dukler D, Porath A, Bashiri A, Erez O & Mazor M 2001. Remote prognosis of primiparous women with preeclampsia . *European Journal of Obstetrics, Gynecology and Reproductive Biology*, **96(1)**, 69-74.

Dunk C, Shams M, Nijjar S, Rhaman M, Qiu Y, Bussolati B, & Ahmed A (2000) Angiopoietin-1 and angiopoietin-2 activate trophoblast Tie-2 to promote growth and migration during placental development . *American Journal of Pathology*, **156(6)**, 2185-2199.

Duric K, Skrabin S, Lesin J, Kalafatic D, Kuvacic I, & Suchanek E (2003) Second trimester total human chorionic gonadotropin, alpha-fetoprotein and unconjugated estriol in predicting pregnancy complications other than fetal aneuploidy. *European Journal of Obstetrics, Gynecology and Reproductive Biology*, **110(1)**, 12-15.

Ferriani RA, Ahmed A, Sharkey A, & Smith SK (1994) Colocalization of acid and basic fibroblast growth-factor (FGF) in human placenta and the cellular effects of BGFG in trophoblast cell-line JEG-3. *Growth Factors*, **10(4)**, 259-268.

Gant NF, Daley GL, Chand S, Whalley PJ, & MacDonald PC (1973) A study of angiotensin II pressor response throughout primigravid pregnancy. *Journal of Clinical Investigation*, **52(11)**, 2682-2689.

Genbacev O, Joslin R, Damsky CH, Polliotti BM, & Fisher SJ (1996) Hypoxia alters early gestation human cytotrophoblast differentiation invasion in vitro and models the placental defects that occur in preeclampsia . *Journal of Clinical Investigation*, **97(2)**, 540-550.

Genbacev O, Zhou Y, Ludlow JW, & Ficher SJ (1997) Regulation of human placental development by oxygen tension . *Science*, **277 (5332)**, 1669-1672.

Giles WB, McLean M, Davies JJ, & Smith R (1996) Abnormal umbilical artery Doppler waveforms and cord blood corticotropin-releasing hormone . *Obstetrics and Gynecology*, **87(1)**, 107-111.

Goldman-Wohl D & Yagel S (2002) Regulation of trophoblast invasion: from normal implantation to pre-eclampsia. Review. *Molecular and Cellular Endocrinology*, **187(1-2)**, 233-238.

Gordon JL, Speroff L (2002) *Handbook for clinical gynecologic endocrinology and infertility*, 6th edition edn, Lippincott Williams & Wilkins, Baltimore

Goswami,D., Tannetta,DS, Magee LA, Fuchisawa,A., Redman,CW, Sargent IL & von Dadelszen,P (2006) Excess syncytiotrophoblast microparticle shedding is a feature of early-onset pre-eclampsia, but not normotensive intrauterine growth restriction. *Placenta*, **27(1)**, 56-61.

Graham CH & McCrae KR (1996) Altered expression of gelatinase and surface-associated plasminogen activator activity by trophoblast cells isolated from placentas of preeclamptic patients. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, **175(3 Pt 1)**, 555-562.

Granger JP, Alexander BT, Llinas MT, Bennett WA, & Khalil RA (2002) Pathophysiology of preeclampsia: linking placental ischemia/hypoxia with microvascular dysfunction. Review. *Microcirculation*, **9(3)**, 147-160.

Grobman WA & Wang EY (2000) Serum levels of activin A and inhibin A and the subsequent development of preeclampsia. *Obstetrics and Gynecology*, **96(3)**, 390-394.

Halligan A, Bonnar J, Sheppard B, Darling M & Walshe J (1994) Hemostatic, fibronolytic and endothelial variables in normal pregnancies and preeclampsia. *British Journal of Obstetrics and Gynecology*, **101(6)**, 488-492.

Harigaya A, Nagashima K, Nako Y, & Morikawa A (1997) Relationship between concentration of serum leptin and fetal growth . *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, **82(10)**, 3281-3284 Erratum in the same journal, 84(3), 1999, 3106.

Harigaya A., Onigata K, Nako K, Nagashima K, & Morikawa A (1999) Role of serum leptin in the regulation of weight gain in early infancy. *Biology of the Neonate*, **75(4)**, 234-238.

Henson M & Castracane VD (2000) Leptin in pregnancy. *Biology of Reproduction*, **63(5)**, 1219-1228.

Hirose H, Saito I, Kawai T, Nakamura K, Maruyama H, & Saruta T (1998) Serum leptin level: possible association with haematopoiesis in adolescents, independent of body mass index and serum insulin . *Clinical Science*, **94**(6), 633-636.

Houghton DJ, Newnham JP, Lo K, Rice A, & Chard T (1982) Circadian variation of circulating levels of 4 placental proteins. *British Journal of Obstetrics and Gynaecology*, **89**(10), 831-835.

Hubel CA (1999) Oxidative stress in the pathogenesis of preeclampsia. Review. *Proceedings of the Society of Experimental Biology and Medicine*, **222**(3), 222-235.

Hui PW, Lam YH, Tang MH, Ng EH, Yeung WS, & Ho PC (2003) Amniotic fluid human chorionic gonadotrophin and alpha-fetoprotein levels in pregnancies conceived after assisted reproduction. *Prenatal Diagnosis*, **23**(6), 484-487.

Irgens HU, Reisaeter L, Irgens LM & Lie RT 2001. Long term mortality of mothers and fathers after pre-eclampsia: population based cohort study . *British Medical Journal*, **323** (7323), 1213-1216.

Irion O, Masse J, Forest JC, & Moutquin JM (1998) Prediction of pre-eclampsia, low birthweight for gestation and prematurity by uterine artery blood flow velocity waveforms analysis in low risk nulliparous women. *British Journal of Obstetrics and Gynaecology*, **105**(4), 422-429.

Islami D, Bischof P, & Chardonens D (2003) Modulation of placental vascular endothelial growth factor by leptin and hCG . *Molecular Human Reproduction*, **9**(7), 395-398.

Islami D, Bischof P, & Chardonens D (2003) Possible interactions between leptin, gonadotrophin-releasing hormone (GnRH-I and II) and human chorionic gonadotrophin (hCG). *European Journal of Obstetrics, Gynecology and Reproductive Biology*, **110**(2), 169-175.

Jackson L (2003) Fetal cells and DNA in maternal blood. Review. *Prenatal Diagnosis*, **23**, 837-846.

Jacobson SL, Imhof R, Manning N, Mannion V, Little D, Rey E & Redman C (1990) The value of doppler assessment of the uteroplacental circulation in predicting preeclampsia or intrauterine growth-retardation. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, **162**(1), 110-114.

James WH (2002) Hormone levels in pre-eclampsia. *Acta Obstetrica et Gynecologica Scandinavica*, **81**(12), 1152.

Kashida S, Sugino N, Takiguchi S, Karube A, Takayama H, Yamagata Y, Nakamura Y, & Kato H (2001) Regulation and role of vascular endothelial growth factor in the corpus luteum during mid-pregnancy in rats. *Biology of Reproduction*, **64**(1), 317-323.

Katz VL, Chescheir NC, & Cefalo RC (1984) Unexplained elevations of maternal serum alpha-fetoprotein. Review. *Obstetrical and Gynecological Survey*, **45(11)**, 719-726.

Keelan JA, Taylor R, Schellenberg JC, Groome NP, Mitchell MD & North RA (2002) Serum activin A, inhibin A, and follistatin concentrations in preeclampsia or small for gestational age pregnancies. *Obstetrics and Gynecology*, **99(2)**, 267-274.

Kelly RB, Nyberg DA, Mack LA, Fitzsimmons J, & Uhrich S (1989) Sonography of placental abnormalities and oligohydramnios in women with elevated alpha-fetoprotein levels - comparison with control subjects. *American Journal of Roentgenology*, **153(4)**, 815-819.

Khaliq A, Dunk C, Jiang J, Shams M, Li XF, Acevedo C, Weich H, Whittle M, & Ahmed A (1999) Hypoxia down-regulates placenta growth factor, whereas fetal growth restriction up-regulates placenta growth factor expression: molecular evidence for "placental hyperoxia" in intrauterine growth restriction. *Laboratory Investigation*, **79(2)**, 151-170.

Khaliq A, Li XF, Sharms M, Sisi P, Acevedo CA, Whittle MJ, Weich H, & Ahmed A (1996) Localisation of placenta growth factor (P1GF) in human term placenta . *Growth Factors*, **13(3-4)**, 243-250.

Kilby M, Whittle M, & Strain A (1996) Hepatocyte growth factor and placental development . *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, **174(6)**, 1946.

Kingdom J, Huppertz B, Seaward G, & Kaufmann P (2000) Development of the placental villous tree and its consequences for fetal growth. *European Journal of Obstetrics, Gynecology and Reproductive Biology*, **92(1)**, 35-43.

Kobashi G, Shido K, Hata A, Yamada H, Kato EH, Kanamori M, Fijimoto S, & Kondo K (2001) Multivariate analysis of genetic and acquired factors; T235 variant of the angiotensinogen gene is a potent independent risk factor for preeclampsia. *Seminars in Thrombosis and Hemostasis*, **27(2)**, 143-147.

Krzesinski JM (1999) [Hypertension at pregnancy]. *Revue médicale de Liège*, **54(5)**, 415-423.

Kupferminc MJ, Daniel Y, Englender T, Baram A, Many A, Jaffa AJ, Gull I, & Lessing JB (1997) Vascular endothelial growth factor is increased in patients with preeclampsia. *American Journal of Reproduction and Immunology*, **38(4)**, 302-306.

Lachmeijer AM, Dekker GA, Pals G, Aarnoudse JG, ten Kate LP, & Arngrimsson R (2002) Searching for preeclampsia genes: the current position. Review. *European Journal of Obstetrics, Gynecology and Reproductive Biology*, **105(2)**, 94-103.

- Landau R, Xie HG, Dishy V, Wood AJ, Stein CM, & Smiley RM (2004) No association of the Asp298 variant of the endothelial nitric oxide synthase gene with preeclampsia. *American Journal of Hypertension*, **17(5 Pt 1)**, 391-394.
- Lansac J & Lecomte P (1999). *Gynécologie pour le praticien*. 52 éd., Masson, Paris.
- Larsen WL (2003). *Embryologie humaine*. 2^e éd. française, De Boeck, Bruxelles.
- Lawrence D (2003) Placental protein may have a role in preeclampsia. *Lancet (The)*, **361(9361)**, 940.
- Le Boutellier P, Solier C, Proll J, Aguerre-Girr M, Fournel S, & Lenfant F (1999) Placental HLA-G protein expression in vivo: where and what for? Review. *Human Reproduction Update*, **5(3)**, 223-233.
- Lee CJ, Hsieh TT, Chiu TH, Chen KC, Lo LM & Hung TH 2000. Risk factors for pre-eclampsia in an Asian population . *International Journal of Gynecology and Obstetrics*, **70(3)**, 327-333.
- Lee LC, Sheu BC, Shau WY, Liu DM, Lai TJ, Lee YH, & Huang SC (2000) Mid-trimester beta-hCG levels incorporated in a multifactorial model for the prediction of severe pre-eclampsia. *Prenatal Diagnosis*, **20(9)**, 738-743.
- Leung TN, Chung TK, Madsen G, Lam CW, Lam PK, Walters WA, & Smith R (2000) Analysis of mid-trimester corticotrophin-releasing hormone and alpha-fetoprotein concentrations for predicting pre-eclampsia. *Human Reproduction*, **15(8)**, 1813-1818.
- Levine RJ, Maynard SE, Qian C, Lim KH, England LJ, Yu KF, Schisterman EF, Thadhani R, Sachs BP, Epstein FH, Sibai BM, Sukhatme VP, & Karumanchi SA (2004) Circulating angiogenic factors and the risk of preeclampsia. *New England Journal of Medicine*, **350(7)**, 672-683.
- Librach CL, Werb Z, Fitzgerald ML, Chiu K, Corwin NM, Esteves RA, Grobelyny D, Galardy R, Damsky CH, & Fisher SJ (1991) 92-KD Type-IV collagenase mediates invasion of human cytotrophoblasts . *Journal of Cell Biology*, **113(2)**, 437-449.
- Lim KH, Friedman SA, Ecker JL, Kao L & Kilpatrick SJ (1998) The clinical utility of serum uric acid measurements in hypertensive diseases of pregnancy. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, **178(5)**, 1067-1071.
- Lim KH, Zhou Y, Janatpour M, McMaster M, Bass K, Chun SH, & Fisher SJ (1997) Human cytotrophoblast differentiation/invasion is abnormal in pre-eclampsia. *American Journal of Pathology*, **151(6)**, 1809-1818.

Linnemann K, Malek A, Sager R, Blum WF, Schneider H., & Fusch C (2000) Leptin production and release in the dually in vitro perfused human placenta . *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, **85(11)**, 4298-4301.

Liu DF, Dickerman LH, & Redline RW (1999) Pathologic findings in pregnancies with unexplained increases in midtrimester maternal serum human chorionic gonadotropin levels. *American Journal of Clinical Pathology*, **111(2)**, 209-215.

Luckas M, Hawe J, Meekins J, Neilson J, & Walkinshaw S (1998) Second trimester serum free beta human chorionic gonadotrophin levels as a predictor of preeclampsia. *Acta Obstetrica et Gynecologica Scandinavica*, **77**, 381-384.

Luttun A & Carmeliet P (2003) Soluble VEGF receptor Flt1: the elusive preeclampsia factor discovered? *Journal of Clinical Investigation*, **111(5)**, 600-602.

Lyall F, Young A, Boswell F, Kingdom JC, & Greer IA (1997) Placental expression of vascular endothelial growth factor in placentae from pregnancies complicated by pre-eclampsia and intrauterine growth restriction does not support placental hypoxia at delivery. *Placenta*, **18(4)**, 269-276.

Maher JE, Davis RO, Goldenberg RL, Boots LR, & DuBard MB (1994) Unexplained elevation in maternal serum alpha-fetoprotein and subsequent fetal loss. *Obstetrics and Gynecology*, **83(1)**, 138-141.

Makkonen N, Heinonen S & Kirkinen P 2000. Obstetric prognosis in second pregnancy after preeclampsia in first pregnancy . *Hypertension in pregnancy*, **19(2)**, 173-181.

Marti A & Martinez JA (1999) La leptina y la regulation del peso corporal. Leptin and body weight regulation. *Anales del Sistema Sanitario de Navarra*, **22(3)**, 353-363.

Matijevic R & Johnston T (1999) In vivo assessment of failed trophoblastic invasion of the spiral arteries in pre-eclampsia. *British Journal of Obstetrics and Gynaecology*, **106(1)**, 78-82.

Maynard SE, Min JY, Merchan J, Lim KH, Li JY, Mondal S, Libermann TA, Morgan LP, Sellke FW, Stillman IE, Epstein FH, Sukhatme VP, & Karumanchi SA (2003) Excess placental soluble fms-like tyrosine kinase 1 (sFlt1) may contribute to endothelial dysfunction, hypertension, and proteinuria in preeclampsia. *Journal of Clinical Investigation*, **111(5)**, 649-658.

Meekins JW, Pijnenborg R, Hanssens M, McFadyen IR, & van Asshe A (1994) A study of placental bed spiral arteries and trophoblast invasion in normal and severe preeclamptic pregnancies. *British Journal of Obstetrics and Gynaecology*, **101(8)**, 669-674.

Meisser A, Cameo P, Islami D, Campana A, & Bischof P (1999) Effects of interleukin-6 (IL-6) on cytotrophoblastic cells. *Molecular Human Reproduction*, **5(11)**, 1055-1058.

Merkatz IR, Nitowsky HM, Macri JN, & Johnson WE (1984) An association between low maternal serum alpha-fetoprotein and fetal chromosomal abnormalities. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, **148(7)**, 886-894.

Moffett-King A (2002) Natural killer and pregnancy. *Nature Reviews Immunology*, **2(9)**, 656-663.

Morssink LP, Heringa MP, Beekhuis JR, De Wolf BT, & Mantingh A (1997) The association between hypertensive disorders of pregnancy and abnormal second-trimester maternal serum levels of hCG and alpha-fetoprotein. *Obstetrics and Gynecology*, **89**, 666-670.

Muhlhauser J, Crescimanno C, Kasper M, Zaccheo D, & Castellucci M (1995) Differentiation of human trophoblast populations involves alterations in cytokeratin patterns. *Journal of Histochemistry & Cytochemistry*, **43(6)**, 579-589.

Muhlhauser J, Marzioni D, Morroni M, Vuckovic M, Crescimanno C, & Castellucci M (1996) Codistribution of basic fibroblast growth factor and heparan sulfate proteoglycan in the growth zones of the human placenta. *Cell and Tissue Research*, **285(1)**, 101-107.

Muller F, Savey L, Le Fiblec B, Bussieres L, Ndayizamba G, & Colau JC (1996) Maternal serum human chorionic gonadotropin level at fifteen weeks is a predictor for preeclampsia. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, **175**, 37-40.

Myatt L & Miodovnik M (1999) Prediction of preeclampsia. *Seminars in Perinatology*, **23(1)**, 45-57.

Ness RB & Roberts JM (1996) Heterogeneous causes constituting the single syndrome of preeclampsia: a hypothesis and its implications. Review. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, **175(5)**, 1365-1370.

Ng EKO, Leung TN, Tsui NBY, Lau TK, Panesar NS, Chiu RWK & Lo YMD (2003) The concentration of circulating corticotropin-releasing hormone mRNA in maternal plasma is increased in preeclampsia. *Clinical Chemistry*, **49(5)**, 727-731.

Nicolaides KH (2004) The 11-13+6 weeks scan. Fetal Medicine Foundation, London. <http://www.fetalmedicine.com/f-fmf.htm>

Nicolaides KH, Bindra R, Turan OM, Chefetz I, Sammar M, Meiri H, Tal J & Cuckle HS 2006. A novel approach to first-trimester screening for early pre-eclampsia combining serum PP-13 and Doppler ultrasound. *Ultrasound in obstetrics and gynecology*, **27(1)**, 13-17.

Onderoglu LS & Kabukçu A (1997) Elevated second trimester human chorionic gonadotropin level associated with adverse pregnancy outcome. *International Journal of Gynecology & Obstetrics*, **56(3)**, 245-249.

Out HJ, Bruinse HW, Christiaens GC, van Vliet M, de Groot PG, Nieuwenhuis HK, & Derksen RH (1992) A prospective, controlled multicenter study on the obstetric risks of pregnant women with antiphospholipid antibodies. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, **167(1)**, 26-32.

Park HY, Kwon HM, Lim HJ, Hong BK, Lee JY, Park JE, Jang Y, Cho SY, & Kim HS (2001) Potential role of leptin in angiogenesis: leptin induces endothelial cell proliferation and expression of matrix metalloproteinases in vivo and in vitro. *Experimental and Molecular Medicine*, **33(2)**, 95-102.

Pell JP, Smith GCS & Walsh D 2004. Pregnancy complications and subsequent maternal cerebrovascular events: A retrospective cohort study of 119,668 births . *American Journal of Epidemiology*, **159(4)**, 336-342.

Poole TJ & Coffin JD (1989) Vasculogenesis and angiogenesis - 2 distinct morphogenetic mechanisms establish embryonic vascular patterns . *Journal of Experimental Zoology*, **251(2)**, 224-231.

Poston L, Briley AL, Seed PT, Kelly FJ, Shennan AH (2006) Vitamin C and vitamin E in pregnant women at risk for pre-eclampsia (VIP trial): randomised placebo-controlled trial. *Lancet*, **367(9517)**, 1145-1154 .

Pouta AM, Hartikainen AL, Vuolteenaho OL, Ruokinen AO, & Laatikainen TJ (1998) Midtrimester N-terminal proatrial natriuretic peptide, free beta hCG, and alpha-fetoprotein in predicting preeclampsia. *Obstetrics and Gynecology*, **91**, 940-944.

Purdie DW, Young JL, Guthrie KA, & Picton CE (1983) Fetal growth achievement and elevated maternal serum alpha-fetoprotein. *British Journal of Obstetrics and Gynaecology*, **90(5)**, 433-436.

Qiu Q, Basak A, Mbikay M, Tsang BK, Gruslin A (2005) Role of pro-IGF-II processing by proprotein convertase 4 in human placental development. *Proceedings of the National Academy of the Sciences of the United States of America*, **102(31)**, 11047-11052.

Raty R, Anttila L, Virtanen A, Koskinen P, Laitinen P, Morsky P, Tiitinen A, Martikainen H, & Ekblad U (2003) Maternal midtrimester free beta-HCG and AFP serum levels in spontaneous singleton pregnancies complicated by gestational diabetes mellitus, pregnancy-induced hypertension or obstetric cholestasis. *Prenatal Diagnosis*, **23(13)**, 1045-1048.

Raty R, Koskinen P, Alanen A, Irjala K, Matinlahti I, & Ekblad U (1999) Prediction of pre-eclampsia with maternal mid-trimester total renin, inhibin A, AFP and free beta-hCG levels. *Prenatal Diagnosis*, **19(2)**, 122-127.

Redline RW & Patterson P (1995) Preeclampsia is associated with an excess of proliferative immature intermediate trophoblast. *Human Pathology*, **26(6)**, 594-600.

Redman CW, Sacks GP, & Sargent IL (1999) Preeclampsia: an excessive maternal inflammatory response to pregnancy. Review. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, **180(2 Pt 1)**, 499-506.

Redman CWG (1991) Preeclampsia and the placenta. *Placenta*, **12(4)**, 301-308.

Redman,CW & Sargent IL (2005) Latest advances in understanding preeclampsia. *Science*, **308(5728)**, 1592-1594.

Roberts JM (1998) Endothelial dysfunction in preeclampsia. Review. *Seminars in Reproduction Endocrinology*, **16(1)**, 5-15.

Robillard PY, Hulsey TC, Perianin J, Janky E, Miri EH, & Papiernik E (1994) Association of pregnancy-induced hypertension with duration of sexual cohabitation before conception. *Lancet*, **344(8928)**, 973-975.

Rode L, Wojdemann KR, Shalmi AC, Larsen SO, Sundberg K, Norgaard-Pedersen B, Christiansen M, & Tabor A (2003) Combined first- and second-trimester screening for Down syndrome: an evaluation of proMBP as a marker. *Prenatal Diagnosis*, **23**, 593-598.

Roig MD, Sabria J, Valls C, Borrás M, Miro E, Ponce J, & Vicens JM (2005) The use of biochemical markers in prenatal diagnosis of intrauterine growth retardation: insulin-like growth factor I, Leptin, and alpha-fetoprotein. *European Journal of Obstetrics, Gynecology and Reproductive Biology*, **120(1)**, 27-32.

Rosenbaum M, Leibel RL, & Hirsch J (1997) Medical progress - Obesity. *New England Journal of Medicine*, **337(6)**, 396-407.

Rosenbaum M, Leibel RL, & Hirsch J (1998) Medical progress - Obesity. Erratum. *New England Journal of Medicine*, **338(3)**, 555.

Sacks GP, Studena K, Sargent K, & Redman CW (1998) Normal pregnancy and preeclampsia both produce inflammatory changes in peripheral blood leukocytes akin to those of sepsis. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, **179(1)**, 80-86.

Said ME, Campbell DM, Azzam ME, & MacGillivray I (1984) Beta-human chorionic gonadotrophin levels before and after the development of pre-eclampsia. *British Journal of Obstetrics and Gynaecology*, **91(8)**, 772-775.

Salafia CM, Pezzullo JC, Lopez-Zeno JA, Simmens S, Minior VK, & Vintzileos AM (1995) Placental pathologic features of preterm preeclampsia. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, **173(4)**, 1097-1105.

Salafia CM, Silberman L, Herrera NE, & Mahoney MJ (1988) Placental pathology at term associated with elevated midtrimester maternal serum alpha-fetoprotein concentration. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, **158(5)**, 1064-1066.

Sargent IL (2005) Does 'soluble' HLA-G really exist? Another twist to the tale. *Molecular Human Reproduction*, **11(10)**, 695-698.

Savvidou MD, Lees CC, Parra M, Hingorani AD & Nicolaides KH (2002) Levels of C-reactive protein in pregnant women who subsequently develop pre-eclampsia. *British Journal of Obstetrics and Gynecology*, **109(3)**, 297-301.

Serin IS, Kula M, Basbug M, Unluhizarci KA, Gucer S, & Tayyar M (2001) Androgen levels of preeclamptic patients in the third trimester of pregnancy and six weeks after delivery. *Acta Obstetrica et Gynecologica Scandinavica*, **80(11)**, 1009-1013.

Serrano NC, Casas JP, Diaz LA, Paez C, Mesa CM, Cifuentes R, Monterrosa A, Bautista A, Hawe E, Hingorani AD, Vallance P, & Lopez-Jaramillo P (2004) Endothelial NO synthase genotype and risk of preeclampsia: a multicenter case-control study. *Hypertension*, **44(5)**, 702-707.

Sharkey AM, Charnock Jones DS, Boocock CA, Brown KD, & Smith SK (1993) Expression of messenger-RNA for vascular endothelial growth-factor in human placenta. *Journal of Reproduction and Fertility*, **99(2)**, 615.

Sharms M & Ahmed A (1994) Localization of messenger-RNA for basic fibroblast growth-factor in human placenta. *Growth Factors*, **11(2)**, 101-111.

Sharony R, Zadik I, & Parvari R (2004) Congenital deficiency of alpha fetoprotein. *European Journal of Human Genetics*, **12(10)**, 871-874.

Shenhav S, Gemer O, Sassoon E, Volodarsky M, Peled R, & Segal S (2002) Mid-trimester triple test levels in early and late onset severe pre-eclampsia. *Prenatal Diagnosis*, **22(7)**, 579-582.

Shimonovitz S, Hurwitz A, Dushnik M, Anteby E, Gevaeldar T, & Yagel S (1994) Developmental regulation of the expression of 72 and 92 KD Type-IV collagenases in human trophoblasts - a possible mechanism for control of trophoblast invasion. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, **171(3)**, 832-838.

Shore VH, Wang TH, Wang CL, Torry RJ, Caudle MR, & Torry DS (1997) Vascular endothelial growth factor, placenta growth factor and their receptors in isolated human trophoblast. *Placenta*, **18(8)**, 657-665.

Sibai BM, Elnazer A & Gonzalez-Ruiz A 1986. Severe preeclampsia-eclampsia in young primigravid women - subsequent pregnancy outcome and remote prognosis. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, **155(5)**, 1011-1016.

Siddiqi T, Rosenn B, Mimouni F, Khoury J, & Miodovnik M (1991) Hypertension during pregnancy in insulin-dependent diabetic women. *Obstetrics and Gynecology*, **77(4)**, 514-519.

Silver RM, Draper ML, Byrne JL, Ashwood EA, Lyon JL, & Branch DW (1994) Unexplained elevations of maternal serum alpha-fetoprotein in women with antiphospholipid antibodies: a harbinger of fetal death. *Obstetrics and Gynecology*, **83(1)**, 150-155.

Simpson JL, Palomaki GE, Mercer B, Hassow JE, Andersen R, Sibai B, & Elias S (1995) Association between adverse perinatal outcome and serially obtained second- and third trimester maternal serum alpha-fetoprotein measurements. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, **173(3)**, 1742-1748.

Smith GCS, Pell JP & Walsh D (2001) Pregnancy complications and maternal risk of ischaemic heart disease: a retrospective cohort study of 129,290 births. *Lancet (The)*, **357 (9273)**, 2002-2006.

Smith GCS, Stenhouse EJ, Crossley JA, Aitken DA, Cameron AD & Connor JM (2002) Early pregnancy levels of pregnancy-associated plasma protein A and the risk of intrauterine growth restriction, premature birth, preeclampsia, and stillbirth. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, **87(4)**, 1762-1767.

Smith GN, Walker M, Tessier JL, & Millar KG (1997) Increased incidence of preeclampsia in women conceiving by intrauterine insemination with donor versus partner sperm for treatment of primary infertility. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, **177(2)**, 455-458.

Sorensen TK, Williams MA, Zingheim RW, Clement SJ, & Hickok DE (1993) Elevated second-trimester human chorionic gonadotropin and subsequent pregnancy-induced hypertension. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, **169(4)**, 834-838.

Spencer K, Liao AW, Ong CY, Geerts L, & Nicolaides KH (2001) Maternal serum levels of dimeric inhibin A in pregnancies affected by trisomy 21 in the first trimester. *Prenatal Diagnosis*, **21(6)**, 441-444.

Spencer K, Yu CKH, Cowans NJ, Otigbah C & Nicolaides KH (2005) Prediction of pregnancy complications by first-trimester maternal serum PAPP-A and free beta-hCG and with second-trimester uterine artery Doppler. *Prenatal Diagnosis*, **25(10)**, 949-953.

Spencer K, Macri JN, Coombes EJ, & Ward AM (1993) Antenatal screening for Down's syndrome. *British Medical Journal*, **306(6892)**, 1616.

Speroff L, Glass RH, & Kase NG (1999) *Clinical gynecology endocrinology and infertility*, 6th edition edn, Lippincott Williams & Wilkins, Baltimore.

Stamilio DM, Sehdev HM, Morgan MA, Propert K, & Macones GA (2000) Can antenatal clinical and biochemical markers predict the development of severe preeclampsia? *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, **182**, 598-594.

Sugino N, Kashida S, Takiguchi S, Karube A, & Kato H (2000) Expression of vascular endothelial growth factor and its receptors in the human corpus luteum during the menstrual cycle and in early pregnancy. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, **85(10)**, 3924.

Takacs P, Green KL, Nikaeo A & Kauma SW (2003) Increased vascular endothelial cell production of **interleukin-6** in severe preeclampsia. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, **188(3)**, 740-744.

Taylor CM, Stevens H, Anthony FW, & Wheeler T (1997) Influence of hypoxia on vascular endothelial growth factor and chorionic gonadotrophin production in the trophoblast-derived cell lines: JEG, JAr and BeWo. *Placenta*, **18(5-6)**, 451-458.

Tempfer CB, Jirecek S, Riener EK, Zeisler H, Denschlag D, Heffler L, & Husslein PW (2004) Polymorphisms of thrombophilic and vasoactive genes and severe preeclampsia: a pilot study. *Journal of the Society for Gynecologic Investigation*, **11(4)**, 227-231.

Thadhani R, Mutter WP, Wolf M, Levine RJ, Taylor RN, Sukhatme VP, Ecker J, & Karumanchi SA (2004) First trimester placental growth factor and soluble Fms-like tyrosine kinase 1 and risk for preeclampsia. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, **89(2)**, 770-775.

Utoro T, Jadi H, Nishimura Y, & Itoh H (1989) An immunopathological study on the placenta in pre-eclampsia. *Kobe Journal of Medical Science*, **35(4)**, 217-228.

Vaillant P, David E, Constant I, Athmani B, Devulder G, Fievet P, Gondry J, Boulanger JC, Fardelone P, & Fournier A (1996) Validity in nulliparas of increased beta-human chorionic gonadotrophin at mid-term for predicting pregnancy-induced hypertension complicated with proteinuria and intrauterine growth retardation. *Nephron*, **72(4)**, 557-563.

Vainio M, Kujansuu E, Koivisto AM & Maenpaa J 2005. Bilateral notching of uterine arteries at 12-14 weeks of gestation for prediction of hypertensive disorders of pregnancy . *Acta obstetrica et gynecologica scandinavica*, **84(11)**, 1062-1067.

Van Lith JM (1991) First-trimester screening for fetal chromosomal abnormalities. Preliminary results. Dutch Working Party on Prenatal Diagnosis. *Prenatal Diagnosis*, **11(8)**, 621-624.

van Wijk MJ, Kublickiene K, Boer K, & van Bavel E (2000) Vascular fonction in prééclampsia. *Cardiovascular Research*, **47**, 38-48.

Villar J, Carroli G, Wojdyla D, Abalos E, Giordano D, Ba'aqueel H, Farnot U, Bergsjö P, Bakketeig L, Lumbiganon P, Campodonico L, Al-Mazrou Y, Lindheimer M, Kramer M & World Health Organization Antenatal Care Trial Research Group 2006. Preeclampsia, gestational hypertension and intrauterine growth restriction, related or independent conditions? *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, **194(4)**, 921-931.

Vuorela P, Hatva E, Lymboussaki A, Kaipainen A, Joukov V, Persico MG, Alitalo K, & Halmesmaki E (1997) Expression of vascular endothelial growth factor and placenta growth factor in human placenta . *Biology of Reproduction*, **56(2)**, 489-494.

Vuorela P, Matikainen MT, Kuusela P, Ylikorkala O, Alitalo K, & Halmesmaki E (1998) Endothelial tie receptor antigen in maternal and cord blood of healthy and preeclamptic subjects. *Obstetrics and Gynecology*, **92(2)**, 179-183.

Wald N, Cuckle H, Stirrat GM, Bennett MJ, & Turnbull AC (1977) Maternal serum-alpha-fetoprotein and low birth-weight. *Lancet (The)*, **2(8032)**, 268-270.

Waller DK, Lustig LS, Cunnimgham GC, Feuchtbaum LB, & Hook EB (1996) The association between maternal serum alpha-fetoprotein and preterm birth, small for gestational age infants, preeclampsia and placental complications. *Obstetrics and Gynecology*, **88**, 816-822.

Walsh SW (1998) Maternal-placental interactions of oxidative stress and antioxidants in preeclampsia. Review. *Seminars in Reproduction Endocrinology*, **16(1)**, 93-104.

Walters BN, Lao T, Smith V, & De Swiet M (1985) alpha-Fetoprotein elevation and proteinuric pre-eclampsia. *British Journal of Obstetrics and Gynaecology*, **92(4)**, 341-344.

Wenstrom KD, Owen J, Boots LR, & DuBard MB (1994) Elevated second-trimester human chorionic gonadotropin levels in association with poor pregnancy outcome. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, **171(4)**, 1038-1041.

Wenstrom KD, Owen J, Davis RO, & Brumfield CG (1996) Prognostic significance of unexplained elevated amniotic fluid alpha-fetoprotein. *Obstetrics and Gynecology*, **87**, 213-216.

Wheeler T, Elcock CL, & Anthony FW (1995) Angiogenesis and the placental environment. *Placenta*, **16(3)**, 289-296.

Williams MA, Hickok DE, Zingheim RW, Luthy DA, Kimelman J, Nyberg DA, & Mahony BS (1992) Elevated maternal serum alpha-fetoprotein levels and midtrimester placental abnormalities in relation to subsequent adverse pregnancy outcomes. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, **167(4 Pt 1)**, 1032-1037.

Wilson BJ, Watson MS, Prescott GJ, Sunderland S, Campbell DM, Hannaford P & Smith WCS (2003) Hypertensive diseases of pregnancy and risk of hypertension and stroke in later life: results from cohort study . *British Medical Journal*, **326 (7394)**, 845-849.

Yaron Y, Cherry M, Kramer RL, O'Brien JE, Hallak M, Johnson MP, & Evans MI (1999) Second-trimester maternal serum marker screening: maternal serum alpha-fetoprotein, beta-human chorionic gonadotropin, estriol, and their various combinations as predictors of pregnancy outcome. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, **181(4)**, 968-974.

Yoshimura T, Yoshimura M, Tabata A, Shimasaki Y, Nakayama M, Miyamoto Y, Saito Y, Nakao K Yasue H, & Okamura H (2000) Association of the missense Glu298Asp variant of the endothelial nitric oxide synthase gene with severe preeclampsia. *Journal of the Society for Gynecologic Investigation*, **7(4)**, 238-241.

Zeeman GG, Alexander JM, McIntire DD, Byrd W & Leveno KJ (2002) Inhibin-A levels and severity of hypertensive disorders due to pregnancy. *Obstetrics and Gynecology*, **100(1)**, 140-144.

Zhou Y, Damsky CH, & Fisher SJ (1997) Preeclampsia is associated with failure of human cytotrophoblasts to mimic a vascular adhesion phenotype. One cause of defective endovascular invasion in this syndrome? *Journal of Clinical Investigation*, **99(9)**, 2152-2164.

Zhou Y, Fisher SJ, Janatpour M, Genbacev O, Dejana E, Wheelock M, & Damsky CH (1997) Human cytotrophoblasts adopt a vascular phenotype as they differentiate. A strategy for successful endovascular invasion? *Journal of Clinical Investigation*, **99(9)**, 2139-2151.

Zoppi MA, Ibba RM, Axiana C, Floris M, Manca F, & Monni G (2003) Absence of fetal nasal bone and aneuploidies at first-trimester nuchal translucency screening in unselected pregnancies. *Prenatal Diagnosis* , **23(6)**, 496-500.

Zygmunt M, Hahn D, Munstedt K, Bischof P, & Lang U (1998) Invasion of cytotrophoblastic JEG-3 cells is stimulated by hCG in vitro. *Placenta*, **19(8)**, 587-593.