

RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR
ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

Université Frères Mentouri Constantine
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Biochimie et Biologie Moléculaire et Cellulaire

N° d'ordre :

N° de série :

Mémoire
En vue de l'obtention du diplôme de master 2

THÈME

Etude du polymorphisme G1691A du facteur V Leiden chez une population thrombotique de l'Est-Algérien

Présentée par : **M^{elle} ZADI HADJER**
M^{elle} BEZIANE NOUR

Soutenue publiquement le : 28/06/2017

Membres du jury :

M^r Khelifi D.

Professeur UFM Constantine

M^r Kaabouche S.

Maitre-assistant UFM Constantine

Encadrant :

M^{elle} MOUSSAOUI S.

Maitre assistante UFM Constantine

Année universitaire : 2016/2017

TABLE DES MATIÈRES

REMERCIEMENTS ET DEDICACES

LISTE DES ABREVIATIONS

LISTE DES FIGURES

LISTE DES TABLEAUX

INTRODUCTION..... 1

ANALYSE BIBLIOGRAPHIQUE

I- La maladie thromboembolique veineuse	3
II- Epidémiologie	3
III-Mécanisme physiologique de la coagulation	4
IV-Physiopathologie	6
V -Facteurs de risque de la MTEV	7
V.1. Les facteurs de risque acquis	8
V.1.1 L'Age	8
V.1.2 Le syndrome des antis phospholipides	8
V.1.3 Chirurgie et traumatisme des membres inférieurs	9
V.1.4 Cancer et chimiothérapie	9
V.1.5 Institutionnalisation, immobilisation, paralysie	9
V.1.6 Grossesse et le post-partum	9
V.1.7 Contraception orale	10
V.2 Les facteurs de risque génétiques	10
V.2.1 Les déficits en antithrombine	10
V.2.2 Les déficits en protéine C	11
V.2.3 Les déficits en protéine S	11
V.2.4 .Polymorphismes génétiques	11
VI. Polymorphisme G1691A du facteur V Leiden et risque de thrombose.....	12
VI.1 Protéine.....	12
VI.2 Gène.....	13
VI.3 mutation G1691A La résistance à la protéine C activée	13

PATIENTS ET METHODES

I. Populations d'étude.....	16
I.1. Patients	16
I.2. Témoins	16
II. Prélèvement sanguin et recueil des données	16

III. Analyse moléculaire	17
III.1. Extraction d'ADN à partir de sang total	17
III.2. Quantification et contrôle de la pureté de l'ADN.....	17
III.3. Génotypage du polymorphisme G1691A du facteur V Leiden.....	17
III.3.1. Préparation du mélange réactionnel de la PCR.....	18
III.3.2. Programme d'amplification PCR du facteur V Leiden.....	18
III.3.3. Électrophorèse du produit de PCR	18
III.3.4. Digestion enzymatique	18
III.3.5. Électrophorèse des produits de la digestion	18
IV. Analyse statistique	19

RESULTATS

I. Étude descriptive des cas et des témoins :.....	20
I.1. Moyenne d'âge :.....	20
I.2. Répartition par tranches d'âge :.....	20
I.3. Répartition selon le sexe :.....	21
I.4. Caractéristiques relatives à la MTEV :.....	21
I.5. Caractéristiques cliniques des témoins et patients :.....	22
II. Etude d'association du polymorphisme G1691A et le risque de Développement de la maladie	23

DISCUSSION

I. Étude des facteurs de risque acquis	24
I.1. Age	24
I.2. Sexe.....	24
I.3. Tabac	24
I.4. Obésité	24
I.5. Immobilisation	25
I.6. Contraception orale	25
I.7. Grossesse /post-partum	26
II. Etude de la Fréquence du facteur V Leiden et de son association à la MTEV	26

CONCLUSION.....	28
------------------------	-----------

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

ANNEXES

RESUME

*Remerciements
et dédicaces*

Remerciement

Au terme de ce travail, nous tenons à remercier Dieu le tout puissant de nous avoir donné le courage, la volonté et la patience pour achever ce travail.

Nous avons l'honneur et le plaisir de présenter notre profonde gratitude et nos sincères remerciements à notre encadreur Melle MOUSSAOUIS pour sa précieuse aide, ces orientations et le temps qu'elle m'a accordé pour notre encadrement.

Nous remercions également ZADI NAWEL qui a contribué de loin à la réalisation de notre mémoire.

« « Merci » »

Dédicace

Je dédie ce mémoire à « vous » mes très chers parents.

merci d'être là pour moi.

A mes très chers frères et soeurs, nièces et neveux,

Ainsi qu'à toute la famille Zadi

A toutes les équipes de recherche scientifique du monde entier.

Dédicace

Je dédie ce mémoire à « vous » mes très chers parents.

merci d'être là pour moi.

A mes très chers frères et soeurs,

Ainsi qu'à toute la famille BEZIANE

A toutes les équipes de recherche scientifique du monde entier.

LISTE DES ABREVIATIONS :

BET	Bromure d’Ethidium
MTHFR	Méthylène Tétrahydrofolate Réductase
EP	Embolie Pulmonaire
FT	Facteur Tissulaire
FVa	Facteur V activé
FVL	Facteur V Leiden
Hcy	Homocystéine
Hcyt	Homocystéine totale
MTEV	Maladie Thromboembolique Veineuse
RPCa	Résistance à la Protéine C activée
SDS	Sodium Dodécyle Sulfate
TE	Thrombocythomie Essentielle
Thr	Thrombine
OMS	l'Organisation Mondiale de la Santé
TVP	la thrombose veineuse profonde ()
ELISA	Enzyme-Linked Immunosorbent Assay
EPI- GETBO	Groupe d'Etude de la Thrombose de Bretagne Occidentale.
APC	Protein Phosphatase
AT	Antithrombine
PS	Protéine S
ATIII	Antithrombine III
PC	Protéine C
nAPC –sr	Normalized activated protein C sensitivity ratio
ADN	Acide désoxyribonucléique
ARNm	Acide_ribonucléique
A	Adénine
G	Guanine
EDTA	Acide éthylène-Diamine-tétra-Acétique

NaCl	Chlorure de sodium
PCR	PoLymorphism Chain Reaction
RFLP	Restriction Fragment Lenght PoLymorphism
MgCl₂	Chlorure de magnésium
OR	Odds ratio

LISTE DES FIGURES :

Figure 01 : Activation et propagation de la coagulation (Dahlbäck and Villoutreix, 2005a).	5
Figure 02 : La triade de Virchow (09)	7
figure 03 : Incidence annuelle de la maladie veineuse thromboembolique dans la region de bresil[12]	8
Figure 04 : facteur V structure avant et après activation [25]	13
Figure 05 : Représentation schématique du gène du facteur V [30]	13
Figure 06 : Molécule de FV montrant l'arginine 506 comme un point d'action principal pour APC qui est affecté négativement par FVL [31]	14
Figure 07 : Profil de digestion du polymorphisme G1691A du facteur V Leiden.	19

LISTE DES TABLEAUX :

Tableau 01 : Séquences des amorces, longueur des produits de PCR et la taille des fragments de la digestion (pb)	17
Tableau 2 : Age moyen des deux populations d'étude.	20
Tableau 3 : Répartition des patients et témoins par tranches d'âge	20
Tableau 4 : Répartition des cas et des témoins selon le sexe	21
Tableau 5 : Caractéristiques cliniques liées à la MTEV	21
Tableau 6 : Caractéristiques cliniques des témoins et patients	22
Tableau 7 : Risque thrombotique lié au FVL par l'analyse de l'OR	23

Introduction

Introduction

De multiples publications ont réaffirmé que les maladies veineuses thromboemboliques (MVTE), de par leur implication dans l'aggravation de la morbi-mortalité hospitalière, restent un problème de santé majeur dans les pays occidentaux.[1,2], Elles viennent au 3^{ème} rang des maladies cardio-vasculaires dans les registres de l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS); (après les cardiopathies ischémiques et les accidents vasculaires cérébraux) avec une incidence annuelle de 160/100.000. Elle se présente principalement comme des thromboses veineuses profondes (TVP) et/ou comme des embolies pulmonaires (EP).³En Algérie; cette maladie a une incidence annuelle de 1-2 par 1000 dans la population générale ;et elle peut être fatale ou entraîner un handicap fonctionnel grave [1,2].

La MTEV résulte d'un jeu complexe de facteurs de risque génétiques et environnementaux [3]; les facteurs de risque hérités sont principalement liés au système hémostatique [4,5].L'un des premiers facteurs établi est la mutation G1691A de l'exon 10 au niveau du facteur V de la coagulation dite la mutation Leiden (Bertina et al, 1994). Ce polymorphisme génétique est caractérisé par un état de résistance à la protéine C activée et il est considéré comme le facteur de risque le plus commun de la MTEV (Kujovich, 2010).Les porteurs hétérozygotes de la mutation augmentent 5 à 10 fois le risque de thrombose cependant les homozygotes sont associés à un risque de 50 à 100 fois (Castoldi et al, 2004 ; Dahlbäck and Villoutreix, 2005 ; Brugge et al, 2005).

Chez les patients caucasiens en Amérique et en Europe, le facteur V Leiden est considéré comme le facteur de risque majeur de la MTEV (Ridker et al, 1995 ; Bertina et al,

1994). L'incidence de ce polymorphisme génétique varie chez les populations arabes ainsi que son association à la MTEV (Eid, 2001 ; Bouaziz-Borgiet al, 2006 ; Ameen et al, 2005). Des études algériennes ont traité la prévalence de ces polymorphismes génétiques chez les deux populations saine et malade (Bourouba et al, 2008 ; Chafaet al, 1993 ; Chafaet al, 1997), cependant les données publiées demeurent peu suffisantes pour définir le contexte constitutionnel des patients thrombotiques algériens et les situations à risque de développement de la maladie.

Introduction

Ce présent travail a pour objectifs de :

Définir la fréquence des facteurs de risque acquis de la maladie thromboembolique veineuse chez une population de l'Est-Algérien.

Déterminer la fréquence du polymorphisme de G1619A du facteur V Leiden la prothrombine, ainsi que le risque de la MTEV lié à son expression dans une population des patients ayant présenté une MTEV unique ou récidivante, s'intégrant ou non dans un contexte familial, en les comparants à une population témoin.

*Analyse
bibliographique*

Analyse bibliographique

I. La maladie thromboembolique veineuse :

La maladie thromboembolique veineuse (MTEV) se manifeste habituellement par une thrombose veineuse profonde des membres inférieurs ou une embolie pulmonaire, plus rarement par des thromboses veineuses cérébrales, des thromboses des membres supérieurs ou mésentériques

La définition du terme « phlébite » a évolué au fil des années. Elle a été définie pour la première fois en 1818 par l'anatomiste français Gilbert Breschet comme étant l'inflammation d'une veine. En 1941 Oschsner et Bakey désigne par le terme thrombophlébite une variété de thrombose veineuse caractérisée par une large et solide adhérence du caillot, ou thrombus, à la paroi de la veine qui est totalement obstruée, enflammée et spasmée [7].

Des documents plus récents définissent la thrombose veineuse profonde (TVP) par la constitution, le développement, la fixation d'un caillot sanguin cruorique dans une ou plusieurs veines, et/ou éventuellement sa migration embolique. La TVP est indissociable de sa complication immédiate et redoutée qu'est l'embolie pulmonaire (EP). Cette dernière se définit comme l'oblitération brusque, totale ou partielle, du tronc ou d'une branche de l'artère pulmonaire, généralement par un thrombus fibrino-cruorique (EP cruorique), rarement par des cellules tumorales. Ce thrombus a le plus souvent migré à partir d'une TVP des membres inférieurs (75% à 80% des cas), beaucoup plus rarement à partir d'une thrombose pelvienne, des cavités cardiaques droites ou des veines des membres supérieurs [8, 9, 10]. Actuellement le concept de MTEV est unanimement admis par les auteurs pour se référer à la TVP qui se complique souvent d'EP infraclinique ou d'EP associée souvent à une TVP cachée.

II. Epidémiologie :

Selon les estimations retenues lors de la conférence de consensus de 1997 sur la prévention des accidents thromboemboliques veineux, l'incidence annuelle des TVP était de 160/100.000, celle des EP symptomatiques (non mortelles) de 20/100.000, et celle des EP mortelles (diagnostiquées en postmortem) de 50/100.000.

L'étude d'Anderson et al fournit des taux d'incidence annuelle de 48/100.000 et 23/100.000 respectivement pour les TVP et EP. Les mêmes auteurs, considérant la part des MTEV non hospitalisées, ont convenu que, dans la population générale des Etats-Unis, l'incidence annuelle des TVP devait plutôt se situer autour de 245/100.000, estimation assez proche de l'étude canadienne mais plus élevée que celle des études américaines et suédoises [11].

En France l'étude de Oger (EPI-GETBO), réalisée en population générale a estimé l'incidence annuelle globale de la MTEV à 180/100.000 (120/100.000 de TVP et 60/100.000 d'EP). Dans l'étude de Dhote et al, réalisée chez des patients hospitalisés en médecine, la prévalence des TVP a été estimée à 1,4% et celle des EP à 0,17% [10]. Au Maroc, nous ne disposons pas de statistiques exactes, mais les cas rapportés sont en faveur d'une fréquence assez élevée.

III. Mécanisme physiologique de la coagulation :

Normalement, la perte de sang par les vaisseaux blessés sont empêchés par un processus appelé "hémostase". Cette dernière est un système équilibré qui, d'une part, empêche les saignements excessifs de tout site blessé, tandis que d'autre part maintient la circulation sanguine à l'intérieur de vaisseaux sanguins intacts par inhibition intra vasculaire de la coagulation. Un processus hémostatique efficace possède des systèmes de réglementation intrinsèques est bien équilibrés, impliquant nombre de mécanismes dynamiques, chimiques et de réactions physiques. Il comprend habituellement des plaquettes du sang et le système de coagulation.

Le mécanisme de la coagulation, est un ensemble (cascade) d'interactions chimiques conduisant à la formation de fibrine. Ce système complexe implique certaines protéines appelées facteurs de coagulation : II, VII, IX, X et XI, qui développent une activité catalytique de type sérine protéase en présence de deux cofacteurs (FV et FVIII). Le déclenchement se fait grâce au facteur tissulaire (FT), une protéine membranaire présente sur la plupart des cellules mais dont l'expression est réprimée dans les cellules du sang circulant et les cellules endothéliales vasculaires. Toute blessure vasculaire entraîne l'exposition du FT et la fixation du FVII activé (FVIIa) présent en petite quantité dans le sang circulant.

Les complexes FT-FVIIa activent d'autres molécules de FVII et active les FIX et X (**Figure**

1). Les premières traces de thrombine formée par l'action du FXa sur la prothrombine (FII) vont permettre la mise en place de plusieurs boucles d'amplification :

- L'activation des plaquettes qui exposent des phospholipides anioniques procoagulants ;
- l'activation du FV qui se fixe sur les phospholipides anioniques en même temps que le FXa, engendrant un complexe enzymatique la prothrombinase capable d'activer beaucoup plus efficacement la prothrombine ;
- L'activation du FVIII qui s'assemble avec le FIXa et le FX sur les phospholipides anioniques pour accélérer la production du FXa ;
- L'activation du FXI pour renforcer l'activation du FIX.

Ce système d'interactions complexes permet la production d'une concentration élevée de thrombine capable de transformer le fibrinogène soluble en un réseau de fibrine polymérisée [6].

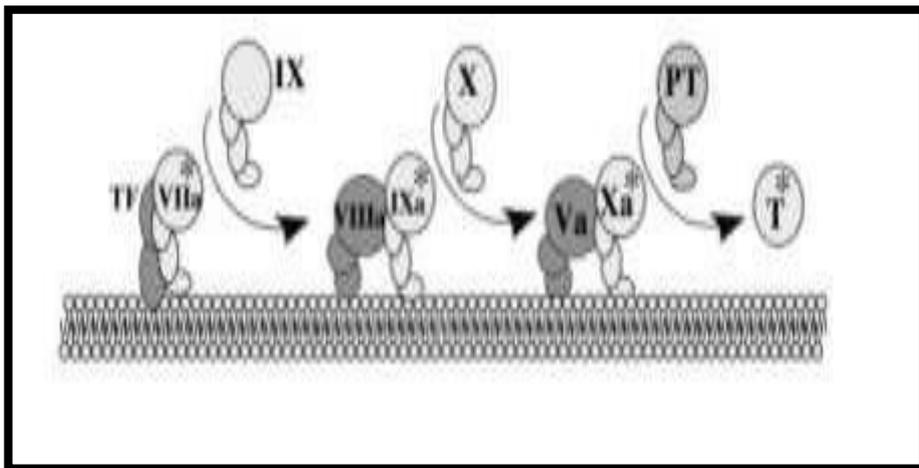


Figure 1 : Activation et propagation de la coagulation [7].

Après la guérison, le caillot de fibrine est dissous par l'enzyme Plasmine dans un processus appelé fibrinolyse. La totalité le processus est soumis à une surveillance minutieuse par trois des protéines qui circulent normalement dans le sang; à savoir la protéine C (et sa protéine C activée par la forme active; APC), protéine S (PS) et antithrombine (AT).

Ceux-ci «Anticoagulants naturels» surveillent les processus de la coagulation et de la fibrinolyse afin de prévenir coagulation excessive [8,9,10].

Anomalies des facteurs de coagulation peuvent entraîner des problèmes de saignement (hémophilie), tandis que des anomalies chez les anticoagulants naturels peuvent conduire à L'hypercoagulabilité et la thrombose, avec certaines exceptions dans les deux.

IV. Physiopathologie

La maladie thromboembolique veineuse (MTEV) regroupe la notion de thrombose veineuse profonde (TVP) et son risque vital immédiat : l'embolie pulmonaire (EP).

La thrombose veineuse résulte d'une activation localisée de la coagulation avec formation d'un thrombus dans le système veineux. La majorité des thromboses débute dans les membres inférieurs parce qu'ils sont plus souvent et plus facilement immobilisés que les membres supérieurs. Le thrombus apparaît dans un nid valvulaire puis s'étend en amont et surtout en aval entraînant un risque important d'EP. Ensuite le thrombus peut adhérer à la paroi et obstruer complètement la lumière vasculaire. Ce syndrome obstructif est responsable de phénomènes douloureux, d'inflammation de la paroi veineuse c'est la phlébite ou TVP [11] [12].

La formation d'une thrombose veineuse (TV) a été expliquée par la triade décrite par Rudolf Virchow en 1856 qui réunit trois conditions à la formation d'un caillot de sang dans les veines (**Figure 2**) :

- Le ralentissement de l'écoulement sanguin lié à la stase veineuse ou à la mauvaise circulation veineuse entraîne la non dilution des substances thrombogènes dans la circulation générale et induit leurs concentrations localement et /ou les inhibiteurs circulants de la coagulation n'atteignent pas le site de la thrombose en quantités suffisantes. Ce ralentissement est lié à l'alitement ou à l'immobilisation prolongés (position prolongée assise jambes repliées par exemple), à l'insuffisance veineuse chronique, aux compressions extrinsèques (adénopathies, cancers digestifs ou pelviens) ;
- Une lésion des cellules endothéliales qui tapissent la paroi des veines qui reste un facteur mineur, sauf dans certaines situations (cathéter veineux central, foyers septiques locorégionaux...) ;

- Altération de l'équilibre de l'hémostase, plaquettes sanguines ou protéines de la coagulation à l'origine d'une thrombophilie ou tendance à l'hypercoagulabilité (déficit en antithrombine III (ATIII), en protéine C (PC), en protéine S (PS), en cofacteur II de l'héparine (HCII) et résistance à la PC activée). Cette altération est favorisée par les traumatismes, l'accouchement, la chirurgie, les déficits acquis ou congénitaux en certains facteurs protecteurs.

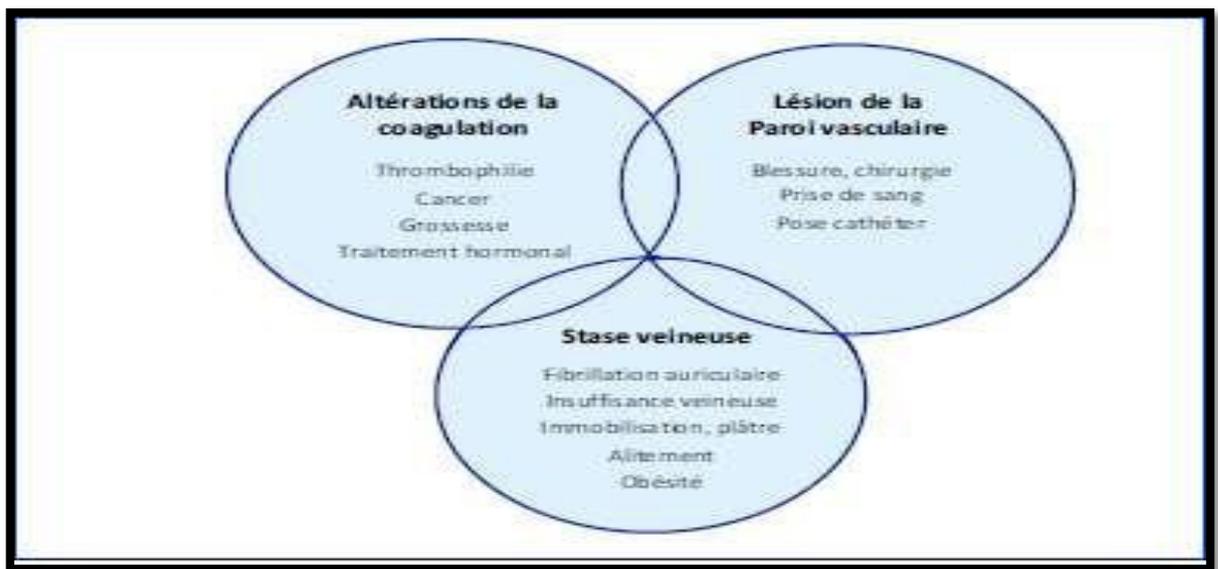


Figure 2 : La triade de Virchow [9].

V. Facteurs de risque de la MTEV :

La MTEV est une maladie multifactorielle. Les patients peuvent présenter plusieurs facteurs de risque ; l'effet entre ces facteurs peut être additif ou multiplicatif. Les facteurs de risque, environnementaux et génétiques sont nombreux. C'est la combinaison de plusieurs facteurs de risque qui joue un rôle important dans la survenue de la MTEV [13].

V.1. Les facteurs de risque acquis :

V.1.1. L'Age :

Il est le facteur de risque majeur de la MTEV. L'incidence annuelle de la MTEV augmente quasi exceptionnellement avec l'Age, passant d'environ de 0,49 pour 1 000 personnes entre 20 et 39 ans à 1,16 pour 100 personnes après 75 ans [14]. Ce qui correspond à un risque relatif supérieur à 20 (**Figure 3**).

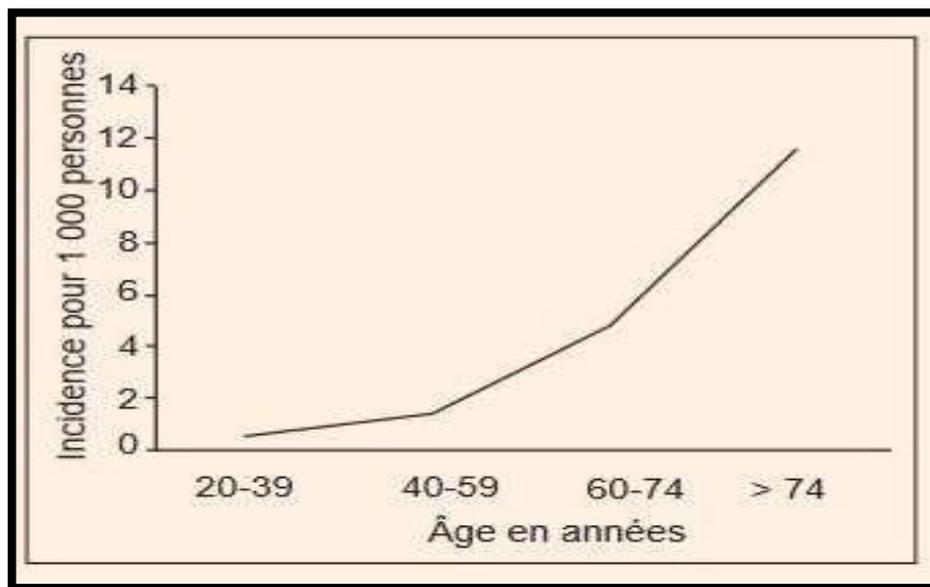


Figure 3 : Incidence annuelle de la maladie veineuse thromboembolique dans la région du Brésil [12].

V.1.2 Le syndrome des antis phospholipides :

Dans le cadre du lupus érythémateux disséminé, la présence d'anticorps antiphospholipides (ce qui concerne près d'un patient sur deux) est associée à un risque accru de thrombose veineuse. Les anticorps antiphospholipides constituent une famille hétérogène d'anticorps dirigés contre des protéines ayant une affinité pour les surfaces phospholipidiques (bêta 2-glycoprotéine I, prothrombine, kininogène, annexine V, protéine C et S activées). En dehors de toute pathologie lupique, le risque thrombotique veineux est multiplié par près de 9 chez les patients porteurs d'un anticorps antiprothrombinase [15].

V.1.3 Chirurgie et traumatisme des membres inférieurs :

Le contexte postopératoire est hautement thrombogène, en particulier en chirurgie orthopédique, traumatologie et neurochirurgie. Les essais cliniques de prévention rapportent des fréquences élevées de thromboses veineuses asymptomatiques détectées par phlébographie dans les groupes de patients ne recevant pas de prophylaxie : 50 à 70 % après la mise en place d'une prothèse de hanche ou de genou, 30 à 60 % après un traumatisme majeur, 20 % en neurochirurgie, 16 % en chirurgie gynécologique. Le risque est majoré s'il s'agit d'une chirurgie carcinologique [16].

V.1.4 Cancer et chimiothérapie :

Le facteur de risque, cancer, est en cause dans environ 15 à 20 % des cas de MTEV inexplicables ambulatoires. Le cancer multiplie par quatre à six le risque de MTEV et par deux le risque postopératoire [17]. Un état procoagulant lié au cancer (adénocarcinomes digestifs, cancer de l'ovaire, lymphome et cancers cérébraux) [18], des phénomènes compressifs veineux et l'utilisation de chimiothérapie expliquent un excès de risque de thrombose veineuse. Une thrombose veineuse est une complication fréquente d'un cancer connu et traité, mais peut aussi révéler un néoplasme qui deviendra symptomatique dans les mois à venir [19], d'autant plus qu'il s'agit d'une thrombose idiopathique ou récidivante.

V.1.5 Institutionnalisation, immobilisation et paralysie

L'hospitalisation (en milieu non chirurgical) ou l'institutionnalisation (maison de retraite ou centre de convalescence) sont des facteurs de risque indépendants de thrombose veineuse. Cet état sous-entend une pathologie médicale aiguë ou chronique, un certain degré d'immobilisation ou d'alitement [20]. Chez les patients atteints d'une paralysie d'un membre inférieur secondaire à un accident vasculaire cérébral ischémique et ne recevant pas de traitement anti thrombotique, une thrombose veineuse profonde est détectée dans 55% des cas, en particulier au niveau du membre paralysé [16].

V.1.6 Grossesse et le post-partum :

L'incidence annuelle de la MTEV durant la grossesse et le post-partum est d'environ 0,5 à 1 pour 1 000, ce qui correspond à un risque relatif de 10. La grossesse s'accompagne de modifications des facteurs de coagulation et en particulier d'un état de résistance acquise à l'action de la protéine C activée, deux tiers des accidents thrombotiques surviennent pendant la grossesse (surtout au 3e trimestre) et un tiers dans la période du post-partum.

Chez les femmes porteuses du FV Leiden le risque a été évaluée de 7 à 9, et un peu plus élevé chez les porteuses de la mutation 20210A du FII. Une naissance par césarienne contribue à l'excès de risque du post-partum [21].

V.1. Contraception orale :

La prise d'une contraception orale estro-progestative augmente le risque de thrombose veineuse. Le risque est plus important durant la première année d'utilisation.

Le risque absolu de thrombose veineuse chez les femmes en âge de procréer est d'environ 4 pour 10 000 par an. La contraception orale est souvent associée aux autres facteurs de risque de TV comme l'âge supérieurs à 35 ans, l'obésité, et les antécédents de TV.

L'EP est responsable de 10 décès par million d'utilisatrices de contraception et par an. L'excès de risque lié à la contraception orale n'apparaît donc pas important en risque absolu, mais il s'agit tout de même de la première cause de thrombose veineuse dans la tranche d'âge de 20 à 39 ans, de plus cet excès de risque est évitable. [22] [23] [24].

V.2 Les facteurs de risque génétiques :

Des différentes anomalies congénitales ou thrombophilies ont été découvertes. Celles-ci peuvent être à l'origine d'une augmentation importante du risque de MTEV.

Jusqu'en 1993, la recherche d'une anomalie constitutionnelle de l'hémostase ayant pu contribuer à la genèse d'une thrombose veineuse idiopathique n'était fructueuse que dans 5 à 10 % des cas, selon que les sujets étaient sélectionnés (antécédents familiaux, survenue avant 50 ans) ou non : il s'agissait de déficits en inhibiteurs de la coagulation. Ces déficits héréditaires sont liés à des mutations génétiques responsables d'une perte de fonction de la protéine codée (antithrombine, protéine C, protéine S) : ces mutations empêchent la synthèse de la protéine normale ou induisent la synthèse d'une protéine anormale.

V.2.1 Les déficits en antithrombine :

Anomalies majeures mais rares, Les déficits constitutionnels en antithrombine ont été les premières thrombophilies biologiques décrites, en 1965.

Les déficits en antithrombine sont hétérogènes. Plus de 79 mutations ont été rapportées. Un déficit hétérozygote en antithrombine multiplie par 20 le risque de TV et est trouvé chez 0,05 % des sujets sains, 1 % des sujets consécutifs avec TV et 4 % des sujets appartenant

à une famille avec agrégats de cas de TV. La moitié des patients porteurs de l'anomalie vont développer une TV avant l'âge de 30 ans, et cette anomalie confère un risque majeur durant la grossesse. Parmi les sujets qui présentent un tableau de thrombophilie, un déficit en antithrombine est retrouvé dans 0,5 à 4,9% des cas, selon le degré de sélection des patients [28].

V.2.2. Les déficits en protéine C :

Les premiers déficits en protéine C ont été décrits en 1981. Un déficit hétérozygote en protéine C multiplie par 7 le risque de TV et est trouvé chez 0,3 % des sujets sains, 3 % des sujets consécutifs avec thrombose veineuse et 6 % des sujets appartenant à une famille avec agrégats de cas de TV. Chez environ une famille sur cinq avec un déficit en protéine C, une coségrégation avec la mutation Leiden du facteur V existe, et les patients porteurs de la double anomalie sont plus à risque de développer une TV.

Les déficits en protéine C auraient une prévalence de 200 à 400 /100 000 dans la population normale.

V.2.3. Les déficits en protéine S :

La protéine S est un cofacteur non enzymatique de la protéine C , 70 mutations ont été décrites. Les premiers déficits en protéine S ont été décrits en 1984. Une coségrégation avec la mutation Leiden du gène du facteur V est présente chez 40 % des familles déficitaires en protéine S avec un risque thrombotique supérieur chez les porteurs de la double anomalie. Au sein des familles porteuses de l'anomalie, un sujet hétérozygote a 6 à 10 fois plus de risque de présenter une TV. Le diagnostic de déficit en protéine S doit tenir compte de l'influence de nombreux facteurs (âge, grossesse, contraception orale, hormonothérapie substitutive) qui diminuent le taux de protéine S.

V.2.4. Polymorphismes génétiques :

La mutation Leiden du gène du facteur V et le variant G20210A du gène de la prothrombine sont fréquents chez les sujets d'origine caucasienne, mais extrêmement rares chez les Asiatiques et les Africains, et un effet fondateur est probable. Le diagnostic biologique repose sur l'analyse de l'ADN [15].

➤ La mutation G20210A de la prothrombine

La mutation G20210A de la prothrombine (FII 20210A) est due à un effet fondateur et affecte les populations d'origine européenne. Elle affecte une région non codante du gène et se traduit par une augmentation modérée de la concentration circulante de la

prothrombine. Sa fréquence se situe entre 1 et 4% de la population générale, avec un gradient nord/sud en Europe. On l'observe chez environ 10% des patients ayant une MTEV, les porteurs ayant un risque augmenté d'un facteur 3 à 4. Les homozygotes sont rares et ont vraisemblablement un risque plus élevé [29].

➤ **La mutation C677T de la MTHFR :**

En 1995, Frosst et al, ont identifié une mutation commune au niveau du gène de la MTHFR [32], cette mutation correspond à une substitution du gène de la MTHFR de la base cytosine en thymine en position 677, qui se traduit au niveau de la protéine par la conversion de l'acide aminé alanine en valine en position 222, cette mutation rend l'enzyme thermostable et diminue son activité [33]. Cette mutation est associée à une augmentation du risque aux maladies cardiovasculaires et au déficit du tube neural [34, 35].

VI. Polymorphisme G1691A du facteur V Leiden et risque de thrombose

VI.1. Protéine

Le facteur V est synthétisé au niveau des hépatocytes et des mégacaryocytes sous forme d'un polypeptide monocaténaire de 330 kDa, il circule sous forme libre dans la circulation sanguine (Vinciguerra et al, 2007). Cette glycoprotéine est organisée en plusieurs types de domaines répétés (A1 - A2 - B - A3 - C1 - C2) [28].

Le domaine B, qui comprend 882 acides aminés et 25 des 37 sites potentiels de glycosylation du facteur V, est codé par un seul exon, l'exon 13. Ce domaine, dit de connexion, est libéré lors de l'activation du facteur V après clivage de 3 liaisons peptidiques impliquant l'Arg 709, l'Arg 1018 et l'Arg 1545 donnant le facteur V activé (FVa)

Le FVa est formé d'une chaîne lourde de 105 kDa (A1 - A2) reliée par des ions calciques à une chaîne légère (A3 - C1 - C2) polymorphe avec deux isoformes de 71 et 74 kDa différents par leur degré de glycosylation. Le facteur V comporte un certain nombre de tyrosines sulfatées dans le domaine B et la chaîne légère, cette modification posttranslationnelle étant indispensable à l'activation du facteur V par la thrombine. La fixation du facteur Va sur les phospholipides membranaires et sa liaison avec le facteur Xa requièrent le domaine C2 de la chaîne légère, ainsi que le domaine A3 qui comporte également un site de fixation pour la PCa (**Figure 4**) [27].

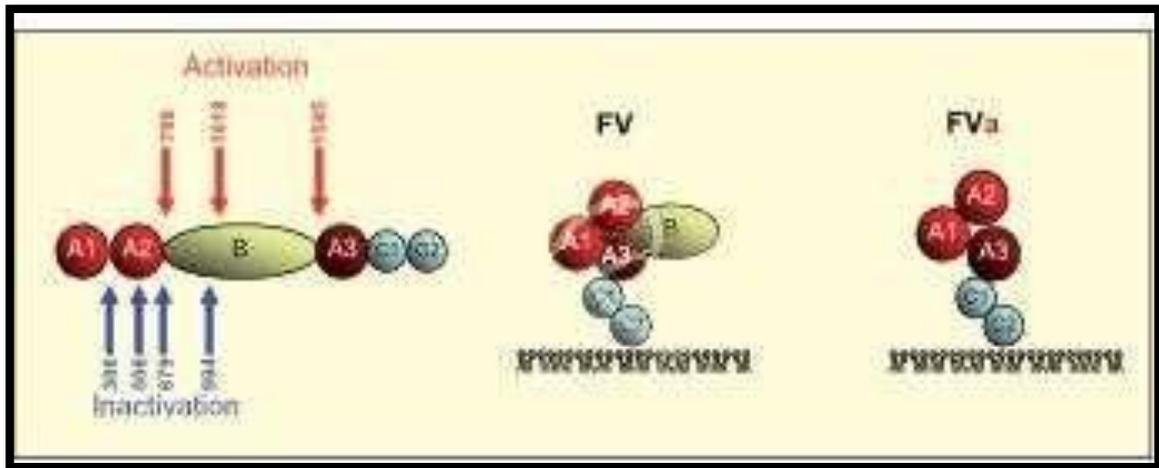


Figure 4 : facteur V structure avant et après activation [25].

VI.2. Gène

Cette protéine est codée par un gène de plus de 80 kb située sur le bras long du chromosome 1 dans la région 1q23 (Cripe et al, 1992) (**Figure 5**); il comprend 25 exons et est transcrit en ARNm d'une longueur approximative de 80 kb. Il code pour une protéine de 2224 acides aminés dont 28 résidus du peptide signal [29].

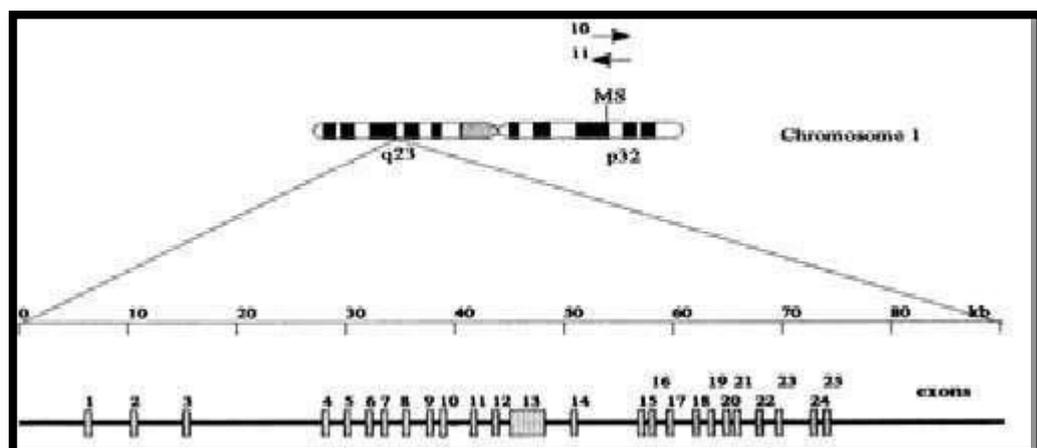


Figure 5 : Représentation schématique du gène du facteur V [30].

VI.3. mutation G1691A La résistance à la protéine C activée :

En 1993, une équipe de recherche suédoise Dirigé par B. Dahlbäck a reconnu un caractère inhabituel phénomène affectant le système de coagulation. Ils étudiaient l'effet de

l'ajout d'APC externe à Plasma de patients atteints de TEV. Normalement, APC devrait inactiver le facteur V de coagulation (FV) (**Figure6**) et ralentissent donc le processus de coagulation. Cependant, chez certains patients étudiés par Dahlbäck et son équipe, ce ralentissement n'a pas eu lieu. Ils ont appelé cela phénomène "résistance APC", et à l'origine bien que cela puisse être dû à une déficience encore inconnue Protéines qui coaide APC dans l'inactivation de FV [30].

Un an plus tard, un autre groupe de chercheurs de Hollande, dirigé par R. M. Bertina, a découvert un point missense mutation dans le gène FV, où l'adénine (A) a remplacé Guanine (G) à la position nucléotidique 1691 de l'exon 10 du gène FV, seulement onze nucléotides en amont du début de l'intron 10. Ils ont appelé cette mutation comme FV Leiden mutation (FVL) après la ville néerlandaise où ils ont fait leur découverte en 10. Ce remplacement de nucléotides se trouvait dans le codon pour le résidu d'acide aminé Arginine 506 (CGA) normalement présente dans le facteur V moléculaire, créant un nouveau codon (CAA) qui est traduit par la glutamine. Pour inactiver FV, APC doit reconnaître l'arginine au poste 506 de la FV molécule (**Figure 6**). En raison du changement d'acide aminé du FVL, APC ne peut plus inactiver efficacement FV. Mais FV conserve ses capacités de coagulation et donc les transporteurs de FVL développent une hypercoagulabilité qui peut manifeste cliniquement comme des épisodes VTE.

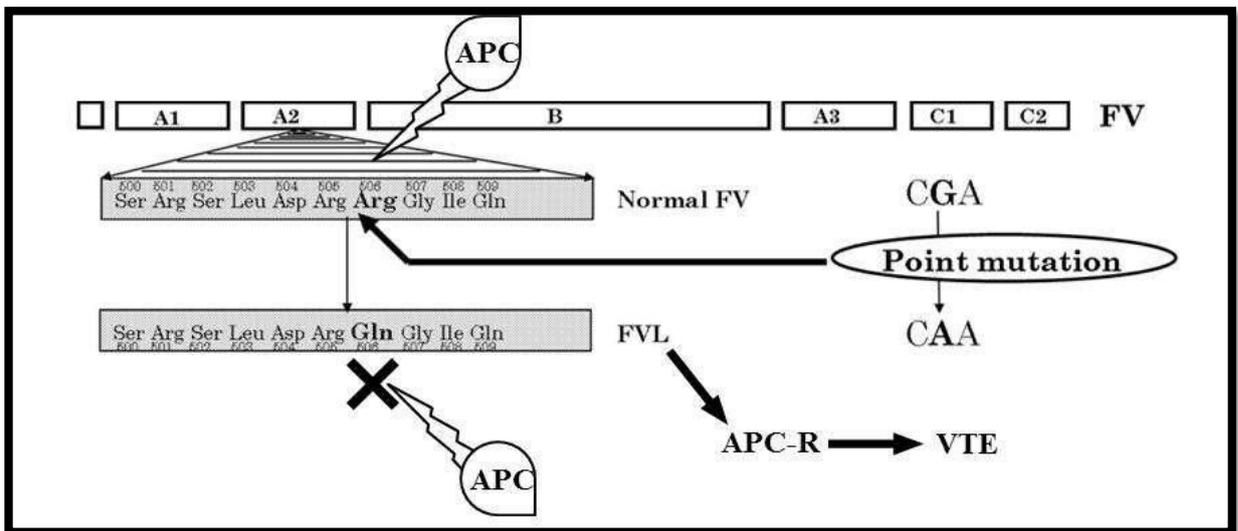


Figure 6 : Molécule de FV montrant l'arginine 506 comme un point d'action principal pour APC qui est affecté négativement par FVL [31].

Des études ultérieures a montré que les personnes atteintes de FVL étaient plus à risque de développement de TEV (10 fois chez les hétérozygotes et 30 à 140 fois dans les supports homozygotes) [31].

En outre, la plupart des homozygotes pour FVL ont été signalés à moins un événement VTE dans leur vie [31]. Cela explique la grande considération clinique et scientifique de cette La mutation avait fait appel et les centaines d'études menée sur sa prévalence et son risque de développement VTE dans presque toutes les parties du monde.

Patients et méthodes

Patients et méthodes

I. Populations d'étude

I.1. Patients

Ils ont été recrutés au niveau du service de la cardiologie et la médecine interne au CHU de Constantine, le total de notre recrutement est de 121.

➤ **Critères d'inclusion**

Les patients inclus dans notre étude sont des sujets ayant un épisode de thrombose unique ou récidivante s'intégrant ou non à un contexte familial

➤ **Critères d'exclusion**

On a exclu les thromboses post chirurgicales ou secondaires à un cancer.

I.2. Témoins

La population témoin est au nombre de 146 sujets sains, elle se compose des employés de l'université, de l'hôpital et des bénévoles.

➤ **Critères d'inclusion**

Les sujets supposés sains appariés selon l'âge et le sexe.

➤ **Critères d'exclusion :**

Ont été exclus les sujets ayant des antécédents personnels ou familiaux de la MTEV, les femmes enceintes ou sous contraception orale.

II. Prélèvement sanguin et recueil des données :

La présente étude est rétrospective de type cas-témoins, les données de nos résultats ont été recueillies à partir des questionnaires déjà réalisés au cours d'une thèse de doctorat avec le malade lui-même et par la consultation de son dossier médicale (**Annexe I**). Les renseignements nécessaires des témoins ont été également enregistrés sur un questionnaire réalisé avec le sujet (**Annexe II**). Les sujets recrutés ont signé un consentement éclairé (**Annexe III**).

Les prélèvements sanguins étaient effectués sur un tube EDTA ; en position semi assise, par ponction veineuse franche. Ils ont été réalisés au niveau du service d'hospitalisation du patient ou en ambulatoire (au laboratoire de biochimie du CHUC).

III. Analyse moléculaire

III.1. Extraction d'ADN à partir de sang total

Le sang des patients est prélevé (5 à 10 ml) sur anticoagulant (EDTA), par ponction veineuse afin d'extraire l'ADN génomique par la méthode au NaCl dont le principe est le suivant (**Annexe IV**) :

- **Lyse** : une lyse cellulaire est réalisée en présence de solution de lyse (**Annexe VI**), de protéinase K et de détergent SDS (Sodium Dodécyle Sulfate). Les éléments figurés du sang, dont les leucocytes sont lysés.
- **Extraction** : l'ADN nucléaire est libéré dans le lysat et les protéines qui lui sont associées sont digérées et éliminées par précipitation au NaCl.
- **Lavages** : la pelote d'ADN est formée dans le surnageant par précipitation avec l'éthanol pur. L'ADN est ensuite solubilisé en phase aqueuse (eau distillée stérile).

III.2. Quantification et contrôle de la pureté de l'ADN

Le contrôle de la pureté de l'ADN est réalisé par le spectrophotomètre, puisque le maximum d'absorbance des acides nucléiques (l'ADN et l'ARN) se situe à 260 nm, par contre celui des protéines se situe à 280 nm. Le rapport $R = A_{260}/A_{280}$ constitue un bon indicateur de la pureté de l'ADN. Ce rapport doit être compris entre 1.6 et 2. Une valeur inférieure à 1.6 témoigne d'une contamination protéique. Par contre une valeur supérieure à 2 indique une contamination par l'ARN. La quantification de l'ADN est effectuée à 260 nm, une unité d'absorbance correspond à 50µg/ml. D'après ce principe, la concentration d'ADN peut être calculée à partir de la formule suivante :

$$[\text{ADN}] \text{ en ng}/\mu\text{l} = A_{260} \times 50 \times \text{facteur de dilution}$$

III.3. Génotypage du polymorphisme G1691A du facteur V Leiden

L'amplification et le génotypage du polymorphisme G1691A du FVL est réalisé par une PCR-RFLP en utilisant des amorces spécifiques et des enzymes de restriction spécifiques de chaque région (**Tableau 1**).

Tableau 1 : Séquences des amorces, longueur des produits de PCR et la taille des fragments de la digestion (pb).

	Séquences des amorces	Produits de PCR	Enzymes de restriction	Homozygote sauvage	Hétérozygote	Homozygote muté
FVL G1691A	5' ACCCACAGAAAATGATGCCAG 3' 5' TGC CCC ATT ATT TAG CCA GGA G 3'	223	<i>MnlI</i>	104, 82, 37	141, 104, 82	141, 82

III.3.1. Préparation du mélange réactionnel de la PCR:

Pour la détection de la mutation G1691A du facteur V, on amplifie une séquence de 223pb dans l'exon 10 entourant le nucléotide 1691 selon le protocole de Hizem et al. (Hizem *et al*, 2008). Pour cela on prépare un mix contenant : l'ADN (50–200ng), 0.16μM du couple d'amorces sens et anti-sens, 0.05mM dNTP, 0.04U/μl de la Taq polymérase), 0.5mM MgCl₂ et 1X tampon.

III.3.2. Programme d'amplification PCR du facteur V Leiden

Le programme d'amplification au thermocycleur est programmé ainsi :

Une dénaturation initiale pendant 5 minutes à 94°C, suivi de 35 cycles avec :

- Une dénaturation à 94°C pendant 40 secondes.
- Une température d'hybridation à 56°C pendant 40 secondes.
- L'élongation à 72°C pendant 40secondes.

Une élongation finale de 7 minutes à 72°C.

III.3.3. Électrophorèse du produit de PCR :

10 μl du produit de PCR est déposé sur gel d'agarose à 2 % et mis à migrer à 120 V pendant 1h.

III.3.4. Digestion enzymatique

Pour le polymorphisme du facteur V Leiden on utilise 0.13U/μl de l'enzyme de restriction *MnII* et 10 μl du produit de PCR dans un volume finale de 15μl et incubés à 37°C pendant une nuit.

III.3.5. Électrophorèse des produits de la digestion :

Les produits de digestion sont mis à migrer dans un gel nusieve agarose (3:1) à 100V pendant 1heure. La taille des produits de la digestion obtenus selon les trois polymorphismes est portée sur la **figure 7**.

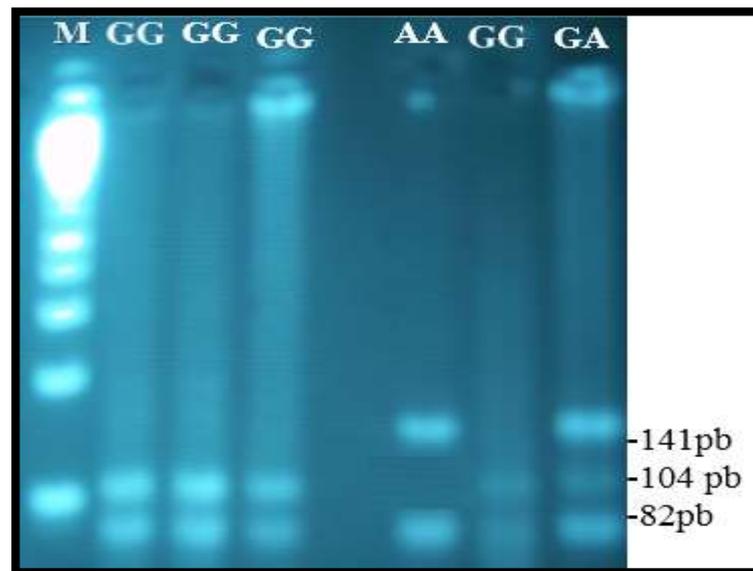


Figure 7 : Profil de digestion du polymorphisme G1691A du facteur V Leiden.

VI. Analyse statistique :

Les données ont été exprimées en pourcentages et fréquences pour les variables qualitatives et en moyenne \pm écart type pour les variables quantitatives.

L'analyse statistique a été effectuée par l'excel pour le calcul des fréquences, la moyenne et l'écart type. La comparaison des variables et le calcul de l'odds ratio sont réalisés par le logiciel le R 3.1.2 (www.r-project.org).

La comparaison des proportions, a été évaluée au moyen du test du Chi-carré, la comparaison des variables continues est effectuée par le test de Student.

La régression logistique univariée est utilisée pour calculer les odds ratio avec intervalles de confiance de 95%.

Le seuil critique à priori est de 0.05. Si la valeur de p calculée à posteriori est inférieure à ce seuil, la différence entre les paramètres est déclarée statistiquement significative

Résultats

Résultats :

I. Étude descriptive des cas et des témoins :

I.1. Moyenne d'âge :

Tableau 2 : Age moyen des deux populations d'étude.

Age	Témoins (n=146)	Patients (n=121)	P-value
Moyenne	37,8	37,8	
Écart types	14,3	14,6	NS

NS : Non Significatif

L'âge moyen est de 38.7 ± 14.6 ans chez les patients avec des extrêmes de 12 – 85 ans et de 37.8 ± 14.3 ans chez les témoins, avec des extrêmes de 16 – 85 ans (Tableau 2).

I.2. Répartition par tranches d'âge :

Tableau 3 : Répartition des patients et témoins par tranches d'âge

Age (ans)	Témoins n (%)	Patients n (%)
<20	6 (4.1)	6 (5.1)
20 - 29	29 (20)	26 (21.5)
30 – 39	43 (29.5)	43 (35.5)
40 - 49	31 (21.2)	20 (16.5)
50 - 59	22 (15)	11 (9)
≥ 60	15 (10.2)	15 (12.4)
Total	146 (100)	121 (100)

Le tableau ci-dessus montre la répartition des patients et témoins par tranches d'âge. La tranche d'âge 30 – 39 représente la fréquence la plus élevée au sein des deux groupes d'étude (Tableau 3).

I.3. Répartition selon le sexe :

Tableau 4 : Répartition des cas et des témoins selon le sexe.

Sexe	Témoins (n=146) n (%)	Patients (n=121) n (%)
Hommes	62 (42.5)	50 (41.3)
Femmes	84 (57.5)	71 (58.7)

Le taux du sexe féminin est plus élevé que celle du sexe masculin au sein des deux groupes d'étude, mais cette différence n'est pas statistiquement significative (Tableau 4).

I.4. Caractéristiques relatives à la MTEV :

Tableau 5 : Caractéristiques cliniques liées à la MTEV

MTEV	Patients (n=121) n (%)
Localisation	
Thrombose veineuse des membres inférieurs	71 (58.7)
Thrombose veineuse des membres supérieurs	6 (5)
Embolie pulmonaire (EP)	19 (15.7)
Thrombose de la veine porte	11 (9)
Thrombose de la veine cérébrale	13 (10.7)
Thrombose de la veine rétine	1 (0.9)
Fréquence de la survenue	
Thrombose veineuse inaugurale	100 (82.6)
Thrombose veineuse récurrente	21 (17.4)
Facteurs de risque de la MTEV	
Facteurs cliniques	55 (45.4)
Idiopathiques	66 (54.6)

Le tableau 5 décrit les caractéristiques cliniques liées à la MTEV comprenant la localisation du thrombus veineux, la fréquence de la survenue de la maladie et les facteurs de risque cliniques. 121 cas parmi eux (58.7%) présentaient une thrombose veineuse des membres inférieurs, alors que (15.7%) étaient atteints d'EP et seulement (5%) d'eux sont atteints d'une thrombose des membres supérieurs. On a constaté aussi un seul cas qui présentait une thrombose de la veine rétine. La maladie est essentiellement représentée par l'épisode initial (82.6%) ; presque la moitié des patients (45.4%) ont au moins un facteur de risque clinique de la MTEV, tandis que 54.6% présentaient une thrombose sans facteur déclenchant ou idiopathique.

I.5. Caractéristiques cliniques des témoins et patients :

Tableau 6 : Caractéristiques cliniques des témoins et patients

Facteurs de risque cliniques	Témoins (n=146) n (%)	Patients (n=121) n (%)	P-value
Obésité			
Oui	10 (6.8)	27 (22.3)	NS
Non	136 (93.2)	94 (77.7)	
Tabac			
Oui	6 (4.1)	18 (14.8)	NS
Non	140 (95.9)	103 (85.2)	
Antécédents personnels de la MTEV			
Oui	-	21 (17.4)	NA
Non	-	100 (82.6)	
Antécédents familiaux de la MTEV			
Oui	-	10 (8.3)	NA
Non	-	111 (91.7)	
Grossesse/post-partum			
Oui	-	10 (8.3)	NA
Non	-	111 (91.7)	
Contraception orale			
Oui	-	12 (9.91)	NA
Non	-	109 (90)	
Immobilisation			
Oui	-	4 (3.3)	NA
Non	-	117 (96.7)	

NS : Non Significatif / NA : Non Applicable

Selon les résultats présentés au tableau E, on constate que les fréquences du tabac et l'obésité ne sont pas statistiquement significatives entre les deux populations d'étude (**Tableau 6**). Les facteurs de risque les plus fréquents enregistrés en cas de la MTEV sont surtout les antécédents personnels qui présentent 17.4% des cas, suivis par les antécédents familiaux, la grossesse/post-partum, la contraception orale et l'immobilisation qui présente le taux le plus faible (3.3%).

II. Etude d'association du polymorphisme G1691A et le risque de développement de la maladie

Tableau 7: Risque thrombotique lié au FVL par l'analyse de l'OR

	Odds Ratio	Intervalle Confiance 95%	P-value
Facteur V Leiden			
GG			
GA/AA	9.4	2.1 - 42.2	0.003

Notre étude a révélé la présence d'un cas hétérozygote GA et un cas homozygote muté AA pour la mutation Leiden du facteur V chez les patients et deux cas hétérozygotes chez les témoins ; c'est pourquoi le génotype homozygote muté et hétérozygote du FVL ont été jumelés (GA/AA). On remarque qu'il existe une association significative ($P = 0.003$) entre le polymorphisme G1691A du FVL et le risque thrombotique veineux, avec un OR de 9.4 (IC95% 2.1-42.2) (**Tableau 7**).

Discussion

Discussion :

La maladie thromboembolique veineuse (MTEV) regroupe la notion de thrombose veineuse profonde (TVP) et son risque vital immédiat l'embolie pulmonaire (EP). Il s'agit d'une pathologie plurifactorielle (thrombophilie biologique, stase veineuse, circonstances favorisantes multiples) qui accompagne le plus souvent une autre pathologie (co-morbidité).

Au premier lieu ; nous nous intéresserons à l'étude des facteurs de risque acquis au sein de la population d'étude.

I. Étude des facteurs de risque acquis :

I.1. Age

Notre population est jeune que l'âge ne constituait pas un risque pour développer la maladie, ceci peut être expliqué par nos critères de sélection. Néanmoins ; il a été prouvé que l'incidence annuelle de la maladie veineuse thromboembolique croît quasi exponentiellement avec l'âge qui est un facteur de risque thromboembolique indépendant. Ce risque est d'autant plus important qu'il y a avec l'âge, une incidence accrue de comorbidités associées (interventions chirurgicales, immobilité, ou cancer), favorisant le développement des thromboses veineuses [36]. Selon l'étude de Oger et al, l'incidence de la MTEV augmente nettement avec l'âge et atteint 1% chez les patients de plus de 75 ans. Cette incidence est 2 fois plus élevée que celle du groupe d'âge compris entre 60 et 74 ans [14].

I.2. Sexe

La fréquence du sexe féminin est supérieure à celle du sexe masculin au sein des deux groupes d'étude mais cette différence n'était pas significative cependant il a été démontré que les femmes sont plus exposées à ce type de pathologies que les hommes dans la même tranche d'âge durant la période reproductive qui est associée à la grossesse et à l'utilisation des contraceptifs oraux par contre elle est généralement plus fréquente chez l'homme, après la quarantaine [41].

L'incidence de la thrombose veineuse chez les femmes âgées de 20 à 39 ans étant estimée à 0,8 pour 10 000 femmes-années [42].

I.3. Tabac

Le tabac est un facteur de risque établi de la maladie artérielle mais pourrait aussi contribuer à la MVTE [43]. Ce facteur n'est pas associé au risque de thrombose dans la population d'étude, toutefois les malades avaient une fréquence de consommation du tabac supérieure à celles des témoins. Une étude de la Mega study, a prouvé que le tabac était associé à une augmentation modérée du risque de la MVTE (OR 1.43; IC 95 % 1.3—1.6) [42].

I.4. Obésité

Elle correspond à un indice de masse corporelle supérieur ou égal à 30 chez les hommes et

supérieur ou égal à 28,6 chez les femmes. Les études réalisées par Anderson et al, en 1991 et 1992 ; ont montré que l'obésité est un facteur indépendant de la MTEV ce qui était contradictoire avec nos résultats (le taux d'obésité est répartie de façon identique entre les patients et témoins). D'autres études ont montré également que la moitié des patients qui décèdent d'une embolie pulmonaire post opératoire présentaient une obésité morbide [37], et selon une étude norvégienne publiée en 2011 ; les hommes grands et obèses sont plus susceptibles de développer une MTEV, qui peut conduire à un caillot de sang potentiellement mortel dans les poumons [1]. Cette association pourrait être expliquée par l'état prothrombotique et pro-inflammatoire observés au cours de l'obésité [43].

1.5. Immobilisation

L'hospitalisation (en milieu non chirurgical) ou l'institutionnalisation (maison de retraite ou centre de convalescence) sont des facteurs de risque indépendants de thrombose veineuse. Cet état sous-entend une pathologie médicale aiguë ou chronique, un certain degré d'immobilisation ou d'alitement peut conduire à un dysfonctionnement musculaire et diaphragmatique, ce qui diminue le flux veineux dans les jambes et provoque la stase veineuse [39]. Dans l'étude qu'on a effectuée seulement 4 cas présentaient une immobilisation des membres inférieurs (3.3%) ; ce faible taux peut être expliqué par le traitement anticoagulant introduit pour les patients au cours de l'hospitalisation, ce qui a contribué à la prévention de cette maladie.

Plusieurs études ont conclu que l'immobilisation était associée au risque de la MTEV: Isma N et al [35] ont trouvé que pour 17% des patients atteints de TVP et 18% atteints d'EP, le facteur de risque était l'immobilisation. Selon Ouldzein H et al [10], l'alitement représente 35% des patients atteints d'EP. Une autre étude de Healy. B et al [11], a montré que l'immobilité due à une position assise prolongée au travail, était associée à un risque de MTEV 2.8 fois plus élevé. Selon une étude menée par Fletcher HM et al, la MTEV était associée à l'immobilisation ; pour 36.3% des femmes recrutées [12].

1.6. Contraception orale :

La prise d'une contraception orale œstro-progestative multiplie par 4 le risque de thrombose veineuse. Le risque est plus important durant la première année d'utilisation [31]. Selon notre étude 12 femmes ont pris un œstro-progestatif pour une durée qui varie entre un an et 8 ans présentaient une MTEV.

Le risque thrombotique persiste pour les pilules contenant 30 µg d'éthinyl-estradiol, les progestatifs dits de troisième génération (désogestrel et gestodène) multiplient par 2 le risque de thrombose par rapport aux progestatifs de deuxième génération (norgestrel et lévonorgestrel). L'excès de risque lié à la contraception orale n'apparaît donc pas important en risque absolu, mais il s'agit tout de même de la première cause de thrombose veineuse dans la tranche d'âge de 20 à 39 ans [29].

1.7. Grossesse /post-partum

L'incidence annuelle de la maladie veineuse thromboembolique durant la grossesse et le post-partum est d'environ 0,5 à 1 pour 1 000, ce qui correspond à un risque relatif de 10. Dans notre étude 10 femmes présentaient une MTEV durant leur grossesse et/ou le post-partum ceci peut être expliqué par les modifications des facteurs de coagulation et, en particulier d'un état de résistance acquise à l'action de la protéine C activée qui sont due à la grossesse ou bien à une naissance par césarienne qui contribue à l'excès de risque du post-partum [15].

Les femmes enceintes ont un risque élevé d'environ 10 fois plus de développer la maladie pendant la grossesse comparativement aux femmes non enceintes [22]. Le risque relatif de MTEV durant le post-partum (défini comme six semaines suivant la délivrance) est 10 à 15 fois supérieur à celui observé durant le reste de la grossesse [44]

II. Etude de la Fréquence du facteur V Leiden et de son association à la MTEV :

La mutation du facteur V Leiden aboutit à la synthèse d'une protéine qui présente une substitution d'une arginine par une glutamine en position 506. Cette mutation de type ralentit considérablement l'inactivation du facteur V ce qui entraîne une hypercoagulabilité et augmente le risque de survenue des maladies thromboemboliques [22] la plupart des porteurs homozygotes du FVL développent au moins un épisode de la MTEV au cours de leur vie [45,46]. Cela explique la grande considération clinique et scientifique attribuées à cette mutation qui avait fait appel à des centaines d'études menées sur sa prévalence et son risque de développer la MTEV dans toutes les régions du monde entier.

Dans notre étude, constitue un facteur de risque de survenue de thrombose veineuse avec un OR = 9.4 (95% CI =2.1 ; 42.3, P=0.003). Nos résultats confirment les résultats des études précédentes [22, 31, 42]

La mutation du FVL (GA/AA) est observée chez 14 (11.6%) des patients contre 2 (1.4%) chez les témoins, sa fréquence dans la population générale correspond à celui de deux autres études réalisées sur la population algérienne générale, avec des fréquences de 1.33% et 2% respectivement [41,38].

Ce faible taux du FVL dans notre région est similaire à celui observé en Espagne (3.3%) [25] et en France (2.7%) [38]. En revanche il n'est pas semblable aux taux observés dans d'autres études des pays d'Europe dont l'Italie (7,5%) [19], la Slovénie (6.3%) [32] et la Grèce (7%) [39].

Notre population témoin présente deux cas hétérozygotes et aucune forme homozygote n'a été observée ; ceci était le cas dans d'autres études où la mutation était restreinte à la forme hétérozygote. Notamment chez les donneurs de sang grecs, la prévalence du FVL était de 5%, et il a été observé

Discussion

uniquement à l'état hétérozygote (Antoniadi *et al*, 1999). Aussi dans la région centre sud du Chili, cette fréquence était de de 1.25% et elle était également limitée aux personnes hétérozygotes (Palomo *et al*, 2009).

Conclusion

Conclusion et perspectives

Conclusion et perspectives

De nombreux facteurs favorisant la survenue de la maladie thromboembolique veineuse, dans notre étude cas-témoin on s'est intéressé à trouver un lien possible entre un facteur génétique qui le polymorphisme G1691A du facteur V Leiden et la maladie thromboembolique veineuse et à définir la fréquence des facteurs de risque cliniques pouvant développer cette maladie.

Les résultats nous ont permis tout d'abord de confirmer que les femmes en âge de procréer étaient plus exposées à un risque accru de la MTEV comparés aux hommes. D'autres caractéristiques cliniques ont marqué notre population malade qui peuvent être considérés comme des facteurs de risque acquis de la maladie à savoir : les antécédents personnels et familiaux de la MTEV, la grossesse/ post-partum, la contraception orale et l'immobilisation.

Suite aux résultats obtenus nous avons observé une association significative entre la mutation G1691A du gène du facteur V Leiden et le risque de maladie thromboembolique veineuse. Ce qui implique une grande considération clinique qui doit être accordée à l'identification de ce polymorphisme chez les patients thrombotiques.

L'étude qu'on a menée nous confirme que la maladie thromboembolique peut être multifactorielle. Il apparaît donc nécessaire d'en connaître les facteurs de risque et d'identifier les patients à haut risque afin de limiter son incidence et sa mortalité.

Dans la continuité de ce travail de recherche décrit dans ce mémoire, il serait intéressant d'explorer ce polymorphisme génétique en parallèle avec d'autres facteurs de risque génétiques à savoir les polymorphismes G20210A de la prothrombine et C677T du gène de la MTHFR. Aussi il est important d'explorer les déficits constitutionnels des inhibiteurs de la coagulation qui sont les déficits en protéine S, protéine C et l'antithrombine III.

Références

bibliographiques

Références bibliographiques

- [1]. **Heit J.A.** The epidemiology of venous thromboembolism in the community: implications for prevention and management *J Thromb Thrombolysis* 2006; 21:23-29
- [2]. **White R.H.** The epidemiology of venous thromboembolism *Circulation* 2003; 107:14-18
- [3]. **Fowkes F.J., Price J.F., Fowkes F.G.** Incidence of diagnosed deep vein thrombosis in the general population: systematic review *Eur J Vasc Endovasc Surg* 2003; 25:1-5
- [4]. **Boukinda F, Planchon B, Okondza J.** La thrombophlébite profonde des membres inférieurs: une curiosité clinique en Afrique noire. Notre expérience à Brazzaville. *Med Af Noire* 1996 ; 2 :63-65.
- [5]. **Bertrand E, Coulibaly Ao, Ticolat R.** Statistiques 1988, 1989 e 1990 de l'institut de cardiologie d'Abidjan (ICA). *Cardiol Trop*1991 ; 17 :151-154.
- [6] **I Elalamy.** Mécanismes et facteurs de risque des thromboses veineuses. EMC 2002; 19-2095.
- [7] **Le Garnier Delamare.** Dictionnaire des termes de médecine. 24ème édition; Ed. Maloine, 2000 : 911.
- [8] Collège des enseignants de médecine vasculaire. Veine artère lymphatique Microcirculation (VALMI). Ed.2007.www.angioweb.fr.
- [9] **Franco A, Bosson JL, Carpentier PH.** Abrégés de Médecine vasculaire. Ed Masson, 2000 : 219-21.
- [10] **F Parent, G Simonneau.** Embolie pulmonaire: histoire naturelle, diagnostic et traitement. EMC, 2003 ; 6-024-B-20

Références bibliographiques

- [11] **BES - LAVIGNE Marie.** Valeur pronostique des D-Dimères après un premier épisode thromboembolique veineux chez le sujet de plus de 60 ans. Thèse 2007 ; 7-8.
- [12] **Valérie Olié.** La maladie veineuse thromboembolique : étude des facteurs de risque de récursive. Thèse 2011.
- [13] **Joseph Emmerich.** À qui et pourquoi faire un bilan de thrombophilie en 2009 ?
- [14] **Oger E.** Incidence of venous thromboembolism : a communi-ty-based study in Western France.EPI-GETBO Study Group.Groupe d'étude de la thrombose de Bretagne occidentale. *Thromb Haemost* 2000 ; 83 (5) :657-60).
- [15] **J. Rosencher, T. Mirault, I. Martinez, T.Zhu, E. Messas, J. Emmerich,** Facteurs de risque de récursive de la maladie thromboembolique veineuse.
- [16] **Geerts WH, Heit JA, Clagett GP, Pineo GF, Colwell CW,Anderson FA Jr. et al.** Prevention of venous thromboembolism. *Chest* 2001 ; 119 (1 Suppl) :132S-75S.
- [17] **Geerts WH, Bergqvist D, Pineo GF, Heit JA, Samama CM, Lassen MR, et al.** Prevention of venous thromboembolism: American College of Chest Physicians evidence-based clinical practice guidelines (8th ed.). *Chest* 2008;133:381S—453S.
- [18] **Rickles FR, Edwards RL .**Activation of blood coagulation in cancer : Trousseau's syndromere visited. *Blood* 1983 ; 62 (1) :14-31
- [19] **Nordstrom M, Lindblad B, Anderson H, Bergqvist D, Kjellstrom T.** Deep venous throm-bosis and occult malignancy : an epidemiological study. *BMJ* 1994 ; 308 (6933) : 891-4.
- [20] **Heit JA, Silverstein MD, Mohr DN, Petterson TM, O'Fallon WM, Melton LJ, III.** Risk factors for deep vein thrombosis and pulmonary embolism : a population based case-control study. *Arch Intern Med* 2000 ; 160 (6) : 809-15.

Références bibliographiques

- [21] **J. Emmerich, M. Aiach.** Facteurs génétiques de risque de thrombose : Annales de Cardiologie et d'Angéiologie 51 (2002) 129–134
- [22] **Kemmeren JM, Algra A, Grobbee DE.** Third generation oral contraceptives and risk of venous thrombosis : meta analysis. BMJ 2001 ; 323 (7305) :131-4).
- [23] **Philippe Bouchard, Alfred Spira, Yves Ville, Jacqueline Conard et, Régine Sitruk-Ware.** Contraception orale et risque vasculaire : Académie nationale de médecine. Rapport 2013
- [24] **A.Delluc, F.Le Ven, D. Mottier, G.Le Gal.** Epidemiology and risk factors of venous thromboembolism
- [25] **Oger E, Scarabin PY.** Assessment of the risk for venous thromboembolism among users of hormone replacement therapy. Drugs Aging 1999 ; 14(1) : 55-61.
- [26] **Lapostolle F, Surget V, Borron SW, Desmaizieres M, Sordelet D, Lapandry C et al.** Severe pulmonary embolism associated with air travel. N Engl J Med 2001 ; 345 (11) :779-83).
- [27] **P. Zawiejaa , A.-M. Orecchionib, P. Métaisc, J.-É. Touze.** Risk of deep venous thrombosis during an air flight : Prevention and counselling at the counter. Elsevier Masson,2011.
- [28] **Brigitte JUDE, Sophie SUSEN, Christophe ZAWADZKI, Nathalie TRILLOT,** Les thrombophilies constitutionnelles. Laboratoire d'Hématologie, Hôpital Cardiologique, CHRU, Lille).
- [29] **Morange P.E.,** Facteur V Leiden, Encycl MedBiol, Elsevier, Paris, 2003.
- [30] **Dahlbäck B, Carlsson M, Svensson PJ.** Familial thrombophilia due to a previously unrecognized mechanism characterized by poor anticoagulant response to ctivated protein C: Prediction of a cofactor to activated protein C. Proc Natl Acad Sci USA. 1993;90:1004-1008. <http://dx.doi.org/10.1073/pnas.90.3.1004>

Références bibliographiques

- [31] **Mehrez M, Jadaon** Mediterranean journal of hematology and infectious diseases
www.mjhid.org ISSN 2035-3006 Epidemiology of Activated Protein C Resistance and
Factor V Leiden Mutation in the Mediterranean Region .2011.037
- [32] **Frosst P, Blom H J, Milos R, et al.** A candidate genetic risk factor for vascular
disease: a common mutation in methylenetetrahydrofolate reductase. Nat Genet 1995;
10(1): 111-3.
- [33] **Lorenzo D B, Quanhe Y.** 5,10-méthylène-tetrahydrofolate reductase (MTHFR) gene
variants and congenital anomalies. Am J Epidemiol 2000 ; 151(9) : 862-877
- [34]. **Kluijtmans L A J, van den Heuvel L P, Boers G H J, et al .** Molecular genetic
analysis in mild hyperhomocysteinemia: A common mutation in the
methylenetetrahydrofolate reductase gene is a genetic risk factor for
cardiovascular disease. Am J Hum Genet 1996; 58: 35-41.
- [35]. **Van der Put NM J, Steegers-Theunissen R P M, Frosst P, et al.** Mutated
methylenetetrahydrofolate reductase as a risk factor for spina bifida. Lancet 1995; 346:
1070-1071.
- [36] **Emmanuel Oger, Karine Lacut et Grégoire Le Gal,** Le Courrier de Médecine
Vasculaire (2), Épidémiologie et facteurs de risque de thrombose veineuse n° 2,
avril/mai/juin 2002
- [37] Étude : Joint Effects of Obesity and Body Height on the Risk of Venous
Thromboembolism
- [38]. **Isma N, Svensson PJ, Gottsater A, Lindblad B.** Prospective analysis of risk factors
and distribution of venous thromboembolism in the population-based Malmo
Thrombophilia Study (MATS) Thromb Res. 2009;124(6):663–666.

Références bibliographiques

- [39] **Ouldzein H, Nourredine A, Cherradi R, Rahal N, Mechmeche R, Haouala** Management of pulmonary embolism in a cardiology department. *Ann Cardiol Angeiol (paris)* 2008;57(1):52–57
- [40] **Healy B, Levin E, Perrin K, Weatherall M, Beasley R.** Prolonged work- and computer-related seated immobility and risk of venous thromboembolism. *J R Soc Med.* 2010;103(11):447–454.
- [41] **Fletcher HM, Wharfe G, Williams NP, Pedican M, Brooks A, Scott P, Gordon-Strachan G.** Venous thromboembolism in Jamaican women: experience in a university hospital in Kingston. *West Indian Med J.* 2009;58(3):243–249.
- [42] **van Hylckama Vlieg A, Helmerhorst FM, Vandenbroucke JP, Doggen CJ, Rosendaal FR.** The venous thrombotic risk of oral contraceptives, effects of oestrogen dose and progestogen type: results of the MEGA case-control study. *BMJ.* 2009;339:b2921.
- [43] **van Hylckama Vlieg A, Middeldorp S.** Hormone therapies and venous thromboembolism: where are we now? *J Thromb Haemost.* 2011;9(2):257–266
- [44] **Kemmeren JM, Algra A, Grobbee DE.** Third generation oral contraceptives and risk of venous thrombosis : meta-analysis. *BMJ* 2001 ; 323 (7305) :131-4
- [45] **(Ray JG, Chan WS.** Deep vein thrombosis during pregnancy and the puerperium : a metaanalysis of the period of risk and the leg of presentation. *Obstet Gynecol Surv* 1999 ; 54 (4) :265-71.).
- [46] **Scottish Intercollegiate Guidelines Network Guidelines on Prevention and Management of Venous Thromboembolism.** 2010. Accessed 27 April 2011
- [47] **(Salsman EW, Hirsh J, Colman W, Hirsh J, Marder VJ** The epidemiology, pathogenesis and natural history of venous thrombosis. *Haemostasis and thrombosis: Basis Principales and Clinical Practice.* 3ème édition. Philadelphia: lippincott 1994: 1275-96).

Annexes

ANNEXE I

FICHE DE RENSEIGNEMENT DU PATIENT

I) Données relatives au patient

N° dossier : Service : Médecin traitant :
Nom/ Prénom : Origine (région) :
Age : Profession : Adresse/tél. :

II) Données sur le mode de vie

Tabagisme : Oui : Non : Nbre de cigarettes/jour :
Grossesse en cours : Oui : Non : Post partum : Oui : Non :
Notion d'avortement à répétition : Oui : Non : Nombre d'avortements :
Contraception / oestroprogestatifs : Oui : Non : Nature et durée :
Poids : Taille : Tour de taille :
Obésité : Oui : Non : Notion d'immobilisation ou d'un voyage long : Oui : Non :

III) Terrain pathologique

Localisation de la thrombose veineuse :
Antécédents personnels de la thrombophlébite : Oui : Non : Nombre de récidence : Date ou âge du 1^{er} épisode :
Antécédents familiaux de la thrombophlébite : Oui : Non : Nombre des sujets atteints :
Premier degré Deuxième degré
Phlébite Embolie pulmonaire Fausses couches

Présence de pathologies associées

Maladies rénales : Oui : Non : Diabète : Oui : Non :
Maladies cardiovasculaires : Oui : Non : HTA IDM AVC
Maladies hépatique : Oui : Non :
Syndromes inflammatoires : Oui : Non : Syndrome des antiphospholipides : Oui : Non :
Autres (préciser) :

Prise actuelle de thérapeutique

Antiépileptique : Oui : Non : Antilipémiants : Oui : Non :
Antidiabétiques oraux : Oui : Non :
Autres (préciser) :

IV) Traitement de la thrombose veineuse :

Médicaments utilisés : Durée du traitement :

ANNEXE II

Fiche de recrutement des témoins

Code :

Nom/ Prénom :

Age :

Origine (région) :

Profession :

Adresse/tél. :

Poids :

Taille :

Tour de taille :

Tabagisme : Non Oui

Grossesse en cours : Oui : Non : Post partum : Oui : Non :

Contraception / oestroprogestatifs : Oui : Non : Nature et durée :

Histoires des maladies cardiovasculaires (AVC, IDM, TV) : Non Oui

 Antécédents personnels : Non Oui

 Antécédents familiaux : Non Oui

Présence de pathologies.....

.....

Prise actuelle de thérapeutiques.....

.....

ANNEXE III

Centre Hospitalier Universitaire Ben Badis de Constantine

Laboratoire de biologie et génétique moléculaire

Laboratoire de biochimie

<u>Identification du patient</u>		N° du prélèvement :
Nom :	Prénom :	Adresse :
Date de naissance :		Tél :

CONSENTEMENT

Je soussigne, sus nommé, reconnais avoir été informé (e) par sur les examens des caractéristiques génétiques qui seront réalisées, dans un but diagnostic et/ou de recherche, à partir :

- Du prélèvement qui m'a été effectué A visée diagnostique
 A visée de recherche

Je donne mon consentement pour ce prélèvement et je reconnais avoir reçu l'ensemble des informations, permettant la compréhension de cet acte biologique et sa finalité.

Fait à Le

Signature

ATTESTATION

Je certifie avoir informé le (ou la) patient (e) sus nommé (e) sur les caractéristiques de la maladie recherchée, les moyens de la détecter, les possibilités de prévention et de traitement, et avoir recueilli le consentement du (ou de la) patient (e).	Signature et cachet
---	---------------------

ANNEXE IV

Technique d'extraction d'ADN

1. Préparation des leucocytes :

- Dans un tube Falcon de 50 ml, mettre le sang et compléter à 50 ml avec du TE 20:5, laisser 10 mn dans la glace.
- Centrifuger 10 mn à 3900 tpm
- Jeter le surnageant
- Ajouter quelques ml de TE 20:5 au culot et le remettre en suspension
- Compléter à 25 ml avec du TE 20:5 et laisser 10 mn dans la glace
- Centrifuger dans les mêmes conditions
- Jeter le surnageant : obtention d'un culot leucocytaire

2. Extraction de l'ADN :

- Transvaser le culot des leucocytes dans un tube falcon de 15 ml
- Ajouter 3 ml de tampon de lyse en dilacérant le culot
- Ajouter 200 µl de SDS à 10%
- Ajouter 100 µl de protéinase K à 10 mg/ml
- Agiter le tube sur une roue à 27 °C une nuit
- Le lendemain, refroidir dans la glace
- Ajouter 1 ml de NaCl 4 M et agiter vigoureusement à la main
- remettre 5 mn dans la glace (précipitation des protéines)
- Centrifuger 15 mn à 2500 tpm
- Transvaser le surnageant dans un tube falcon de 50ml, ajouter deux fois son volume d'éthanol absolu préalablement refroidi (environ 8 ml) et agiter en retournant le tube plusieurs fois : la pelote d'ADN se forme
- Récupérer la pelote d'ADN avec une pipette pasteur et la rincer deux fois dans l'éthanol à 70 %
- Mettre la pelote dans un tube nunc de 1.5ml.

3. Solubilisation :

- Ajouter entre 300 et 1000 µl d'eau distillée stérile selon la grosseur de la pelote.

- Laisser une nuit sur agitateur rotateur à 37°C, puis à température ambiante jusqu'à dissolution complète (1 à 2 jour).

Préparation des solutions utilisées pour l'extraction d'ADN

1. TE 20 :5 : (Tris 20 mM, EDTA 5 mM, pH 7.5)

- Tris : 2,422 g/l
- EDTA : 1,86 g/l
- Ajuster le pH avec Hcl 1 N

2. Tampon de lyse :

- NaCl 400 mM
- EDTA 2 mM
- Tris 10 mM
- pH 8,2

Préparation du TBE 10X et 1X

1. TBE 10X

- Tris 108 g
- Acide borique 55 g
- Ajuster le PH à 8,3 avec l'acide acétique glacial
- EDTA 9.3 g
- QSP H2O pour 1L

2. TBE 1X

- 100 ml de TBE 10X
- 900 ml H2O

Résumé

La maladie thromboembolique veineuse (MTEV) présente par ses deux entités cliniques: thrombose veineuse profonde (TVP) et embolie pulmonaire (EP), est une pathologie fréquente ayant une forte morbi-mortalité. En Algérie, cette pathologie prend de plus en plus de l'ampleur, en l'absence de toute publication révélant ses facteurs de risque qui lui sont corrélés.

Objectifs : Notre étude vise à définir la fréquence des facteurs et de risque acquis de cette maladie et à déterminer le taux du polymorphisme de G1691A du facteur V Leiden ainsi que le risque de la MTEV lié à son expression, chez des patients atteints de cette pathologie recrutés à l'Est de l'Algérie.

Méthodes : Il s'agit d'une étude rétrospective de type cas-témoins ; 121 patients et 146 témoins ont été recrutés. Le génotypage du polymorphisme G1691A est effectué par la PCR-RFLP.

Résultats : Les facteurs de risque pouvant déclencher cette maladie et qui sont détectés au sein de notre population malade sont : l'obésité, le tabac, les antécédents personnels ou familiaux de la maladie, la contraception orale ou le post-partum et l'immobilisation. Notre étude a révélé la présence d'un cas hétérozygote GA et un cas homozygote muté AA pour la mutation Leiden du facteur V chez les patients et deux cas hétérozygotes chez les témoins. On remarque qu'il existe une association significative ($P = 0.003$) entre le polymorphisme G1691A du FVL et le risque thrombotique veineux, avec un OR de 9.4 (IC95% 2.1-42.2)

Conclusion : L'étude qu'on a menée nous confirme que la maladie thromboembolique peut être le résultat d'une combinaison de situations cliniques à risque et de facteurs de risque génétiques ou le FVL constitue le facteur de risque indépendant chez la population thrombotique de l'Est-Algérien.

Mots clés : Facteur de coagulation V, thrombophilie, facteur V Leiden, résistance à la protéine C activée, MTEV, thrombose veineuse, polymorphisme G1691A.

Abstract

Venous thromboembolic disease (VTE), with its two clinical entities: deep vein thrombosis (DVT) and pulmonary embolism (PE), is a frequent pathology with high morbidity and mortality. In Algeria, this pathology is becoming more and more extensive, in the absence of any publication revealing its correlated risk factors.

Objective: To determine the frequency of acquired risk factors and risk, and to determine the leukemia factor G1691A polymorphism and the risk of VTE related to its expression in patients with this condition In the east of Algeria.

Methods: This is a retrospective case-control study; 121 patients and 146 controls were recruited. Genotyping of the G1691A polymorphism was performed by PCR-RFLP.

Results: The risk factors that can trigger this disease and are detected in our sick population are: obesity, tobacco, personal or family history of the disease, oral contraception or postpartum and immobilization Our study revealed the presence of a heterozygous GA case and an AA mutated homozygous case for the Leiden mutation of factor V in patients and two heterozygous cases in the controls. It is noted that there is a significant association ($P = 0.003$) between the FVL G1691A polymorphism and the venous thrombotic risk, with an OR of 9.4 (95% CI 2.1-42.2)

Conclusion: Our study confirms that thromboembolic disease may be the result of a combination of clinical risk situations and genetic risk factors, or FVL is the independent risk factor in the thrombotic population of l 'Is Algerian.

Key words: coagulation factor V, thrombophilia, factor V Leiden, resistance to activated protein C, MTEV, venous thrombosis, polymorphism G1691A.

تلخيص

الكائنات السريرية وهما: العميقة (VTE) الدموية الوريدية (DVT) هو وهذا بها .
والوفيات عالية. (PE) غياب المزيد
الأهداف: تهدف هذه تحديد وتيرة لهذا وتحديد
تعبيرها VTE V Leiden G1691A
الذين يعانون هذه المرضية توظيف
الطريقة: هذه استعادة والشواهد. تجنيد 121 مريضا 146
PCR-RFLP. التتميط الجيني G1691A
: يمكن هذا يتم عنها
المريض هي: وتاريخ GA طريق
لايدن الذين وحالتين . لدينا
بين G1691A FVL (P = 0.003) هناك
(CI 2 1 2 42) وريدي، 9.4 (95)
: أجريتها يمكن يكون نتيجة
هو FVL لمزيج السريرية الجينية
"هل"
C أهبة لايدن، تنشيط بروتين V :
وريدي، G1691A VTE

Année universitaire : 2016/2017

Présenté par : ZADI Hadjer
Beziane Nour Elhouda

Etude du polymorphisme G1691A du facteur V Leiden chez une population thrombotique de l'Est-Algérien

Mémoire de fin d'étude en vue de l'obtention du diplôme de master 2

La maladie thromboembolique veineuse (MTEV) présente par ses deux entités cliniques: thrombose veineuse profonde (TVP) et embolie pulmonaire (EP), est une pathologie fréquente ayant une forte morbi-mortalité. En Algérie, cette pathologie prend de plus en plus de l'ampleur, en l'absence de toute publication révélant ses facteurs de risque qui lui sont corrélés.

Objectifs : Notre étude vise à définir la fréquence des facteurs et de risque acquis de cette maladie et à déterminer le taux du polymorphisme de G1691A du facteur V Leiden ainsi que le risque de la MTEV lié à son expression, chez des patients atteints de cette pathologie recrutés à l'Est de l'Algérie.

Méthodes : Il s'agit d'une étude rétrospective de type cas-témoins ; 121 patients et 146 témoins ont été recrutés Le génotypage du polymorphisme G1691A est effectué par la PCR-RFLP.

Résultats : Les facteurs de risque pouvant déclencher cette maladie et qui sont détectés au sein de notre population malade sont : l'obésité, le tabac, les antécédents personnels ou familiaux de la maladie, la contraception orale ou le post-partum et l'immobilisation .Notre étude a révélé la présence d'un cas hétérozygote GA et un cas homozygote muté AA pour la mutation Leiden du facteur V chez les patients et deux cas hétérozygotes chez les témoins. On remarque qu'il existe une association significative ($P = 0.003$) entre le polymorphisme G1691A du FVL et le risque thrombotique veineux, avec un OR de 9.4 (IC95% 2.1-42.2)

Conclusion : L'étude qu'on a menée nous confirme que la maladie thromboembolique peut être le résultat d'une combinaison de situations cliniques à risque et de facteurs de risque génétiques ou le FVL constitue le facteur de risque indépendant chez la population thrombotique de l'Est-Algérien.

Mots clés : Facteur de coagulation V, thrombophilie, facteur V Leiden, résistance à la protéine C activée, MTEV, thrombose veineuse , polymorphisme G1691A.

Laboratoire de recherche : Laboratoire de biologie et génétique moléculaire