

ASSOCIATION DE LA MUTATION DU GENE DE LA PROTHROMBINE (FII G20210A) A LA PREECLAMPSIE CHEZ LES FEMMES EN ETAT GRAVIDO-PUERPERAL AU BURKINA FASO

B.E. SAVADOGO/KOMBOIGO, I. TAO, H. ZAMANE, P. BADO, A.A. ZOURE, W.F. DJIGMA, P. KAIN, B. THIEBA, C. OUEDRAOGO, S. OUATTARA, J. SIMPORE

RESUME

Introduction : La prééclampsie est responsable de 60.000 décès dans le monde. Au Burkina Faso, elle figure parmi les 4 premières causes de décès maternels. Les mutations du gène V Leiden (FVL G1691A) et de celui de la prothrombine (FII G20210A) sont fréquemment retrouvées dans des troubles héréditaires d'hypercoagulabilité qui favorisent la thrombose et la prééclampsie. L'objectif de cette étude était d'établir une corrélation entre les polymorphismes du gène FII de la prothrombine et la prééclampsie chez les femmes en période gravido-puerpérale au Burkina Faso.

Méthodologie : Il s'est agi d'une étude cas-témoins ayant inclus 100 échantillons dont 28 cas de prééclampsie sévère et 72 témoins. Après l'extraction des ADN génomiques à l'aide d'un mini kit «Ribo Sorb», la mutation G20210A du facteur II de la prothrombine a été recherchée par PCR en temps réel.

Résultats : Les fréquences génotypiques dans la population étudiée des homozygotes type sauvage (bb), hétérozygotes (ab) et homozygotes muté (aa) étaient de 93% ; 7% et 00% respectivement. Les fréquences génotypiques des homozygotes type sauvage (bb) et des hétérozygotes (ab) étaient respectivement de 100% et 0% chez les cas et 97% et 7% chez les témoins ($p = 0,32$; OR= 0,22).

Conclusion : Cette étude a établi pour la première fois les fréquences des génotypes du gène FII de la prothrombine et la prééclampsie au Burkina Faso. Elle a trouvé la faible prévalence de la mutation du gène FII de la prothrombine dans la population étudiée et le lien modeste qui existe entre cette thrombophilie et la prééclampsie. Des études ultérieures avec des échantillons plus représentatifs de la population s'avèrent nécessaires pour confirmer cela et dégager un lien entre le facteur II de la prothrombine et la sévérité de la prééclampsie.

Mots-clés : Gène ; FII ; Prothrombine ; Mutation G20210A ; Prééclampsie ; Burkina Faso.

SUMMARY

Association of prothrombin gene mutation (FII G20210A) with preeclampsia in gravido-puerperal women in Burkina Faso.

Introduction : Preeclampsia is responsible for 60.000 deaths worldwide. In Burkina Faso, it is among the 4 leading causes of maternal deaths. Mutations in the V Leiden gene (FVL G1691A) and the prothrombin gene (FII G20210A) are frequently found in hereditary hypercoagulability disorders that promote thrombosis and preeclampsia. The objective of this study was to establish a correlation between prothrombin FII gene polymorphisms and preeclampsia in women in the gravido-puerperium period in Burkina Faso.

Methodology: this was a case-control study that included 100 samples including 28 cases of severe preeclampsia and 72 controls. After extraction of genomic DNA using a "Ribo Sorb" mini kit, the G20210A mutation of prothrombin factor II was searched for by real-time PCR.

Results: The genotype frequencies in the study population of wild type homozygotes (bb), heterozygotes (ab) and mutated homozygotes (aa) were 93%; 7% and 00% respectively. The genotype frequencies of wild type homozygotes (bb) and heterozygotes (ab) were respectively 100% and 0% in cases and 97% and 7% in controls ($p = 0.32$; OR = 0.22).

Conclusion: This study established for the first time the frequencies of prothrombin FII gene genotypes and preeclampsia in Burkina Faso. She found the low prevalence of the prothrombin FII gene mutation in the study population and the modest link between thrombophilia and preeclampsia. Future studies with more representative samples of the population are necessary to confirm this and identify a link between prothrombin factor II and the severity of preeclampsia.

Keywords: Gene; FII; Prothrombin; G20210A mutation; Preeclampsia; Burkina Faso

INTRODUCTION

La prééclampsie est une pathologie complexe et polygénique dont la part génétique a été estimée dans de grandes cohortes scandinaves [1,2, 3,4,5,6,7,8]. Elle conclut à une héritabilité de plus de 50 %. Des variants génétiques de gènes cibles comme les

gènes codant les facteurs II et V de la coagulation (gène FV Leiden, gène FII de la prothrombine), l'angiotensinogène (AGT) et son récepteur (AGTR1) et l'enzyme de conversion de l'angiotensinogène (ACE) impactent le risque de développer une prééclampsie. En effet, les modifications physiologiques au cours d'une grossesse normale

Tirés à part : B.E. SAVADOGO/KOMBOIGO.
Email : evelynekomboigo@yahoo.fr
Téléphone : 0022672056597

SAVADOGO/KOMBOIGO B.E., TAO I., ZAMANE H., BADO P., ZOURE A.A., DJIGMA W.F., KAIN P., THIEBA B., OUEDRAOGO C., OUATTARA S., SIMPORE J. Association de la mutation du gène de la prothrombine (FII G20210A) a la prééclampsie chez les femmes en état gravido-puerperal au Burkina Faso. Journal de la SAGO, 2023, vol.24, n°1, p.24-28.

entraînent un état d'hypercoagulabilité, nécessaire à l'hémostase lors de l'accouchement [9,10,11]. Cet état d'hypercoagulabilité peut interagir avec une thrombophilie acquise ou héréditaire notamment une mutation du gène FV Leiden (mutation G>A1691) ou une mutation du gène FII de la prothrombine (mutation G20210>A) et entraîner des complications obstétricales telles que la prééclampsie, le retard de croissance intra-utérin etc [12,13,14]. La prévalence de la mutation G20210A du gène de la prothrombine était beaucoup plus rare (0-0,3 %) en Afrique comparativement à d'autres régions du monde selon plusieurs études [10,11,15]. La prévalence globale de la mutation du gène de la prothrombine G20210A rapportée va de 0% à 15,9% [16]. Plusieurs études ont été réalisées sur l'implication du gène FII de la prothrombine à la prééclampsie. Au Burkina Faso, les études sur la prééclampsie se sont focalisées sur les aspects épidémiologiques, cliniques et thérapeutiques [17,18]. Il nous a paru nécessaire d'étudier la génétique de cette maladie dans notre pays.

I. MATERIEL ET METHODES

Type et population d'étude

Il s'est agi d'une étude cas - témoin dans la ville de Ouagadougou, capitale politique du Burkina Faso ayant inclus des patientes venues des trois centres hospitaliers universitaires (CHU), Yalgado Ouédraogo (CHUYO), Bogodogo (CHUB) et Tengandogo (CHUT). La population d'étude était constituée des femmes enceintes ou dans le post partum immédiat, hospitalisées dans les CHU sus nommés pour prééclampsie sévère ou pas entre Décembre 2022 et Mars 2023. Les différents tests biomoléculaires ont été réalisés au laboratoire de biologie moléculaire et de génétique et au centre de recherche biomoléculaire Pietro Annigoni.

Les cas étaient constitués de gestantes ou de femmes dans le post-partum immédiat hospitalisées dans une des formations sanitaires sus nommées pour une prééclampsie avec une pression artérielle systolique ≥ 140 mmHg et/ou une pression artérielle diastolique ≥ 90 mmHg, une protéinurie ≥ 2 croix, associé ou non à des œdèmes des membres inférieurs, et consentant librement de participer à l'étude.

Les témoins étaient constitués des femmes admises à l'hôpital à la même période que le cas ayant une grossesse à terme ou étant dans le post partum immédiat d'un accouchement par voie basse sans complication et sans diagnostic de prééclampsie et admise à l'hôpital à la même période que le cas.

Critères d'inclusion à l'étude

Furent inclus dans l'étude les échantillons issus de cas et des témoins selon les critères ci-dessus. Aucun appariement n'a été fait.

Collecte des échantillons et des données

Trois (03) ml de sang veineux ont été prélevés chez toutes les femmes incluses dans l'étude. Ces prélèvements sanguins ont été conditionnés dans des tubes EDTA (Ethylène-Diamine- tétra-Acétique) et des aliquotes ont été effectués dans des tubes de 2 ml puis conservés à moins 20 degrés Celsius.

Après le recrutement du cas et la sélection du témoin, un questionnaire standardisé comportant les variables de l'étude (données sociodémographiques et les données cliniques) était administré aux participantes de l'étude avec au préalable l'obtention de leur consentement libre et éclairé.

Extraction de l'ADN génomique et génotypage

L'extraction de l'ADN génomique a été faite à partir du sang total en utilisant le kit « Ribo Sorb », selon le protocole du fabricant. Le génotypage du polymorphisme du gène FII de la prothrombine a été réalisé par la technique de l'analyse allélique standard de discrimination en utilisant le kit PCR « FII (G2021A) SNP Screen ». Le kit PCR était composé d'une rangée de 8 microtubes PCR contenant un master mix chacun, de la taq polymérase, d'un contrôle négatif, de trois (03) contrôles positifs soient un homozygote sauvage b-b, un homozygote mutant a-a et un hétérozygote a-b. Le mix PCR était constitué de 25 μ L de master mix, 5 μ L de Taq polymérase et 5 μ L de l'extrait d'ADN. L'amplification des différents allèles du gène FII de la prothrombine a été effectuée à l'aide de thermocycler de PCR en temps réel « SaCycler-96™ (Sacace biotechnologie) » selon le programme d'amplification résumé dans le tableau I. Les résultats de génotypage ont été analysés avec le logiciel Design & Analysis version 2.6.0 pour Windows.

Tableau I : Programme PCR pour l'amplification du polymorphisme du gène FII de la prothrombine

Nombres de cycles	Température	Durée
1	80	2 min
1	94	3 min
5	94	15 secs
	64	40 secs
35	94	15 secs
	64	40 secs

Considérations éthiques

L'étude a obtenu l'avis du comité d'éthique national du Burkina Faso sous le numéro 2023-01-57. Le consentement libre et éclairé de chaque patiente incluse dans l'étude a été obtenu. La confidentialité des données biologiques et des informations socio-démographiques a été respectée à travers la codification des échantillons et la conservation des fiches de collecte dans un lieu protégé.

Traitement et analyse des données

Les données ont été saisies à l'aide du logiciel Excel 2016. Ces données ont ensuite été analysées à l'aide des logiciels Epi-info et SPSS. Les odds ratio (OR) ont été utilisés pour les comparaisons avec un intervalle de confiance de 95%. La différence a été statistiquement significative pour $p < 0,05$.

II. RESULTATS

Fréquence génotypique et allélique du gène FII de la prothrombine dans la population étudiée

La figure 1 montre la fréquence génotypique et allélique du gène FII de la prothrombine dans la population étudiée. Le génotype homozygote type sauvage bb était représenté dans 100% suivi de l'hétérozygote ab dans 7 % dans la population étudiée. Aucun homozygote type mutant aa n'a été trouvé dans la population étudiée. L'allèle b était trouvé dans 100% et l'allèle a dans 7% dans la population étudiée.

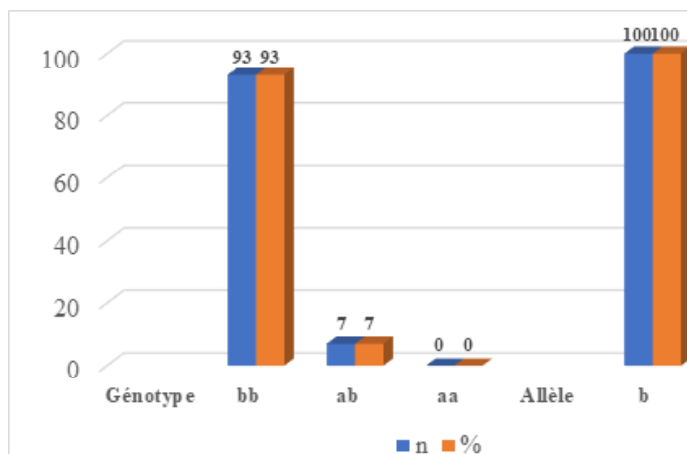


Figure 1 : Fréquence génotypique et allélique du gène FII de la prothrombine dans la population d'étude (n=100)

Distribution génotypique et allélique des polymorphismes du gène FII de la prothrombine dans la population étudiée en fonction des cas et des témoins

Le génotype homozygote type sauvage bb était représenté dans 100% chez les cas et 93% chez les témoins. Les hétérozygotes ab étaient retrouvés

uniquement dans le groupe des témoins dans 7%. Aucun homozygote type mutant aa n'a été retrouvé dans le groupe des cas et témoins. La distribution génotypique et allélique des polymorphismes du gène FII de la prothrombine dans la population étudiée dans le tableau II.

Tableau II : Distribution génotypique et allélique des polymorphismes du gène FII de la prothrombine dans la population étudiée en fonction des cas et des témoins

Fréquence génotypique/ Allélique	Cas n (%)	Témoins n (%)	OR	IC 95%	p value
Génotype					
bb	28 (100)	65 (90,28)	4,45	0,3-6,6	0,36
ab	0 (0)	7 (9,72)	0,22	0,01-3,32	0,32
aa	0 (0)	0 (0)			
Allélique					
b	28 (28)	72 (72)	5,03	1,2-7,4	0,16
a	0 (0)	7 (7)	0,22	0,01-3,32	0,32

III. DISCUSSION

Corrélation entre les polymorphismes du gène FII de la prothrombine et la prééclampsie

Dans notre étude la mutation du gène FII de la prothrombine a été trouvée à l'état hétérozygote chez 7% des sujets dont aucun dans le groupe des cas avec un p value de 0,32 et un OR de 0,22. Sans que cela ne soit significatif, ceci confirme la corrélation négative entre la mutation du gène FII de la prothrombine et la prééclampsie qui ne constituerait donc pas un facteur de risque de développement de la maladie.

Contrairement à nos résultats, plusieurs études ont montré une association significative entre la mutation du gène FII de la prothrombine et la survenue de la prééclampsie [20]. Elzein et al au Soudan ont conclu dans leur étude que les femmes souffrant de prééclampsie sévère avaient une différence significative dans les mutations gène FII G20210A par rapport au groupe témoin sain [19]. Baptista et al. [16] ont également rapporté que la mutation G20210A du gène FII de la prothrombine était une mutation courante chez les femmes atteintes de prééclampsie. Wang et al [20] ont confirmé dans leur méta-analyse que la mutation du gène FII G20210A était associée à un risque accru de prééclampsie. Par contre, plusieurs études ont conclu que les génotypes pro-thrombotiques ne sont pas associés

au développement de la prééclampsie [20,21]. L'étude de Berks D et al [20] a révélé que la mutation du gène FII de la prothrombine n'était pas associée à la prééclampsie de même que l'étude de Silver et al [22]. De plus, dans une étude menée par Best LG et al [23] dans un groupe d'Indiens d'Amérique atteints de prééclampsie ont révélé que les résultats des mutations FII G20210A n'étaient pas associée à la survenue de la prééclampsie sévère. Nos résultats corroborent ces derniers.

La prévalence de la mutation type hétérozygote était de 7% de la population dans notre étude. Ce faible taux est comparable à celui du Nigéria ou aucune mutation du gène FII de la prothrombine n'a été découverte dans la population des femmes enceintes étudiée [24]. Padda et al ont noté également des faibles prévalences du gène FII de la prothrombine avec une prévalence globale de 2%, en Europe de Nord 3%, en Europe du sud 1,7% et 0-0,3% en Afrique et en Asie [9,11].

Au cours de notre étude les femmes en période gravidopuerpérale avec le génotype hétérozygote n'ont présenté aucune complication péripartum. Elles proviennent toutes du groupe des témoins. Nos résultats ont la même tendance que ceux retrouvés par John-Olabode SO et al au Nigéria qui ont rapporté que les femmes avec une thrombophilie peuvent avoir une grossesse sans problème, car les femmes qui avaient une mutation hétérozygote du facteur prothrombotique FV Leiden ont eu des grossesses sans incident [24]. De même, Said et al n'ont signalé aucune complication au cours de la grossesse chez la majorité des sujets d'une cohorte de femmes nullipares présentant des polymorphismes de thrombophilies héréditaires [24,25]. L'association de la mutation PTG G20210A avec des complications obstétricales reste un sujet de controverse avec différentes études montrant des conclusions contradictoires. Certains auteurs ont rapporté de meilleurs résultats de grossesse chez les femmes atteintes de thrombophilie qui avaient des antécédents de mort fœtale et qui avaient été traitées avec des anticoagulants [11].

La mutation génotypique du gène FII de la prothrombine retrouvée dans notre population d'étude n'avait aucun lien statistique avec les facteurs de risque clinique de la prééclampsie.

CONCLUSION

Notre étude est la première à rechercher les liens probables entre les polymorphismes du gène FII de la prothrombine et la prééclampsie au Burkina Faso. Elle nous a permis d'évaluer une éventuelle implication de la mutation du gène FII de la prothrombine et la

prééclampsie chez les femmes en période gravidopuerpérale. Elle a trouvé la faible prévalence de la mutation du gène FII de la prothrombine dans la population étudiée et le lien modeste qui existe entre cette thrombophilie et la prééclampsie. Des études ultérieures avec des échantillons plus représentatifs de la population s'avèrent nécessaires pour confirmer cela et dégager un lien entre le facteur II de la prothrombine et la sévérité de la prééclampsie.

REFERENCES

1. **Stegers EAP, von Dadelszen P, Duvekot JJ, Pijnenborg R.** Pre-eclampsia. *Lancet*. 21 août 2010;376(9741):631-44.
2. **English FA, Kenny LC, McCarthy FP.** Risk factors and effective management of preeclampsia. *Integr Blood Press Control*. 3 mars 2015;8:7-12.
3. **Benjelloun AT, Benchrifi Y, Mahdaoui S, Samouh N.** Epidémiologie de la prééclampsie dans la région du grand Casablanca. 2020.
4. **Ouédraogo C, Ouédraogo A, Ouattara T, Akotonga M, Thiéba B, Lankoandé J, et al.** La mortalité maternelle au Burkina Faso. Evolution et stratégie nationale de lutte. *Médecine d'Afrique Noire*. 2001;48(11)
5. **Ogoyama M, Takahashi H, Suzuki H, Ohkuchi A, Fujiwara H, Takizawa T.** Non-Coding RNAs and Prediction of Preeclampsia in the First Trimester of Pregnancy. *Cells*. 5 août 2022;11(15):2428.
6. **Céline M, Francisco M, Daniel V.** Nouveaux regards sur la prééclampsie. 2017;33:1079-88.
7. **Michita RT, Kaminski V de L, Chies JAB.** Genetic Variants in Preeclampsia: Lessons From Studies in Latin-American Populations. *Front Physiol*. 2018;9:1771.
8. **Tempfer CB, Jirecek S, Riener EK, Zeisler H, Denschlag D, Hefler L, et al.** Polymorphisms of Thrombophilic and Vasoactive Genes and Severe Preeclampsia: A Pilot Study. *Journal of the Society for Gynecologic Investigation*. mai 2004;11(4):227-31.
9. **Padda J, Khalid K, Mohan A, Pokhriyal S, Batra N, Hitawala G, et al.** Factor V Leiden G1691A and Prothrombin Gene G20210A Mutations on Pregnancy Outcome. *Cureus*. 2021;13(8):e17185.
10. **Bertina RM, Koeleman BP, Koster T, Rosendaal FR, Dirven RJ, de Ronde H, et al.** Mutation in blood coagulation factor V associated with resistance to activated protein C. *Nature*. 5 mai 1994;369(6475):64-7.
11. **Barro C.** prééclampsie et thrombophilie. **Réunions à thème du CPDPN/HCE, CHU Grenoble.** 09 avril 2013.

12. **Johnson JD, Louis JM.** Does race or ethnicity play a role in the origin, pathophysiology, and outcomes of preeclampsia? An expert review of the literature. *Am J Obstet Gynecol.* févr 2022;226(2S):S876-85.
13. **Dziodosz M, Baxi LV.** Global prevalence of prothrombin gene mutation G20210A and implications in women's health: a systematic review. *Blood Coagul Fibrinolysis.* juill 2016;27(5):481-9.
14. **Lankoandé J, Thiéba B, Ouédraogo A, Ouédraogo C, Ouattara A, Akotiongna M.** Dépistage des femmes à risque de prééclampsie : expérience du Burkina Faso. *J Gynecol Obstet Biol Reprod.* 2010;39::S1-S342.
15. **Kiemtore S, Dembele A, Ouattara A, Zamane H, Dantola KP, Ouedraogo I,** et al. Effets de l'audit clinique basé sur des critères sur de la qualité de la prise en charge de la prééclampsie sévère dans le Département de Gynécologie Obstétrique du Centre Hospitalier Universitaire Yalgado Ouédraogo, Ouagadougou (Burkina Faso). *Science et technique, Sciences de la santé.* Juin 2017; 40(1): 93-99
16. **Baptista FS, Bortolotto MR de FL, Bianchini FRM, Krebs VLJ, Zugaib M, Francisco RPV.** Can thrombophilia worsen maternal and perinatal outcomes in cases of severe preeclampsia? *Pregnancy Hypertension.* janv 2018;11:81-6.
17. **Berks D, Duvekot JJ, Basalan H, Steegers EAP, Visser W.** Associations between phenotypes of preeclampsia and thrombophilia. *European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology.* nov 2015;194:199-205.
18. **Aggarwal S, Dimri N, Tandon I, Agarwal S.** Preeclampsia in North Indian women: the contribution of genetic polymorphisms. *J Obstet Gynaecol Res.* oct 2011;37(10):1335-41.
19. **Elzein H, Saad A, Yousif AA, Elamin E, Abdalhabib EK, Elzaki SEG.** Evaluation of Factor V Leiden and prothrombin G20210A mutations in Sudanese women with severe preeclampsia. *Current Research in Translational Medicine.* avr 2020;68(2):77-80.
20. **Wang X, Bai T, Liu S, Pan H, Wang B.** Association between Thrombophilia Gene Polymorphisms and Preeclampsia: A Meta-Analysis. *PLOS ONE.* 26 juin 2014;9(6):e100789.
21. **Jusić A, Balić D, Avdić A, Pođanin M, Balić A.** The association of factor V G1961A (factor V Leiden), prothrombin G20210A, MTHFR C677T and PAI-1 4G/5G polymorphisms with recurrent pregnancy loss in Bosnian women. *Med Glas (Zenica).* 1 août 2018;15(2):158-63.
22. **Silver RM, Zhao Y, Spong CY, Sibai B, Wendel G, Wenstrom K,** et al. Prothrombin Gene G20210A Mutation and Obstetric Complications. *Obstet Gynecol.* janv 2010;115(1):14-20.
23. **Best LG, Dorsam ST, Nadeau M, Burd L, Anderson CM.** Genetic Thrombophilia Variants and Risk for Preeclampsia Among American Indians. *Hypertension in Pregnancy.* janv 2009;28(1):85-94.
24. **John-Olabode SO, Okunade KS, James A, Olorunfemi G, Ajie Ol, Osuntoki AA,** et al. Prevalence of Factor V Leiden G1691A and Prothrombin G20210A Gene Mutation Among Pregnant Women: Experience from a Multi-Center Study in Nigeria. *J Blood Med.* 18 mai 2021;12:307-12.
25. **Said JM, Higgins JR, Moses EK, Walker SP, Borg AJ, Monagle PT,** et al. Inherited thrombophilia polymorphisms and pregnancy outcomes in nulliparous women. *Obstet Gynecol.* janv 2010;115(1):5-13.