Utilité des marqueurs de la souffrance cardiaque en médecine foetale

Marc Gersohn

▶ **To cite this version:**

Marc Gersohn. Utilité des marqueurs de la souffrance cardiaque en médecine foetale. Sciences du Vivant [q-bio]. 2000. hal-01732367

HAL Id: hal-01732367
https://hal.univ-lorraine.fr/hal-01732367

Submitted on 14 Mar 2018

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

UNIVERSITÉ DE LORRAINE

AVERTISSEMENT

Ce document est le fruit d'un long travail approuvé par le jury de soutenance et mis à disposition de l'ensemble de la communauté universitaire élargie.

Il est soumis à la propriété intellectuelle de l'auteur. Ceci implique une obligation de citation et de référencement lors de l'utilisation de ce document.

D'autre part, toute contrefaçon, plagiat, reproduction illicite encourt une poursuite pénale.

Contact : ddoc-theses-contact@univ-lorraine.fr

LIENS

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 122. 4
Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 335.2- L 335.10
http://www.cfcopies.com/V2/leg/leg_droi.php
http://www.culture.gouv.fr/culture/infos-pratiques/droits/protection.htm

143083

UNIVERSITÉ HENRI POINCARE, NANCY I

FACULTÉ DE MÉDECINE DE NANCY

2000

N° 72

SCD-UHP - NANCY
BIBLIOTHÈQUE
MÉDECINE

MÉMOIRE
DU DIPLÔME D'ETUDE SPÉCIALISÉES DE BIOLOGIE MÉDICALE

Présentée et soutenue publiquement

le 21 Juin 2000

par **GERSOHN Marc**

Utilité des marqueurs de la souffrance cardiaque en Médecine foetale

---

Conformément aux dispositions du décret n° 90-810
du 10 septembre 1990, ce mémoire tient lieu de

THÈSE
POUR LE DIPLÔME D'ETAT DE DOCTEUR EN MÉDECINE

BIBLIOTHEQUE MEDECINE NANCY 1
D 007 162792 3

JURY :

Monsieur le Professeur	Pierre NABET	}	Président
Madame le Professeur	Marie-Madeleine GALTEAU	}	
Monsieur le Professeur	Michel SCHWEITZER	}	Juges
Monsieur le Docteur	Alain MITON	}	
Monsieur le Docteur	Henri SCHROEDER	}	

UNIVERSITÉ HENRI POINCARE, NANCY I — FACULTÉ DE MÉDECINE DE NANCY

2000 — N°

21 JUIN 2000

MÉMOIRE
DU DIPLÔME D'ETUDE SPÉCIALISÉES DE BIOLOGIE MÉDICALE

Présentée et soutenue publiquement

le 21 Juin 2000

par **GERSOHN Marc**

Utilité des marqueurs de la souffrance cardiaque en Médecine foetale

---

Conformément aux dispositions du décret n° 90-810
du 10 septembre 1990, ce mémoire tient lieu de

THÈSE
POUR LE DIPLÔME D'ETAT DE DOCTEUR EN MÉDECINE

JURY :

Monsieur le Professeur	Pierre NABET	Président
Madame le Professeur	Marie-Madeleine GALTEAU	Juges
Monsieur le Professeur	Michel SCHWEITZER	
Monsieur le Docteur	Alain MITON	
Monsieur le Docteur	Henri SCHROEDER	

UNIVERSITÉ HENRI POINCARÉ, NANCY 1

FACULTÉ DE MÉDECINE DE NANCY

Président de l'Université : Professeur Claude BURLET

Doyen de la Faculté de Médecine : Professeur Jacques ROLAND

Vice-Doyen de la Faculté de Médecine : Professeur Hervé VESPIGNANI

Assesseurs

du 1er Cycle :	**Mme le Docteur Chantal KOHLER**
du 2ème Cycle :	**Mme le Professeur Michèle KESSLER**
du 3ème Cycle :	**Mr le Professeur Jacques POUREL**
de la Vie Facultaire :	**Mr le Professeur Philippe HARTEMANN**

DOYENS HONORAIRES

Professeur Adrien DUPREZ - Professeur Jean-Bernard DUREUX
Professeur Georges GRIGNON - Professeur François STREIFF

PROFESSEURS HONORAIRES

Louis PIERQUIN - Etienne LEGAIT - Jean LOCHARD - René HERBEUVAL - Gabriel FAIVRE - Jean-Marie FOLIGUET
Guy RAUBER - Paul SADOUL - Raoul SENAULT - Pierre ARNOULD - Roger BENICHOUX - Marcel RIBON
Jacques LACOSTE - Jean BEUREY - Jean SOMMELET - Pierre HARTEMANN - Emile de LAVERGNE
Augusta TREHEUX - Michel MANCIAUX - Paul GUILLEMIN - Pierre PAYSANT - Jean SCHMITT
Jean-Claude BURDIN - Claude CHARDOT - Jean-Bernard DUREUX - Jean DUHEILLE - Jean-Pierre GRILLIAT
Pierre LAMY -François STREIFF - Jean-Marie GILGENKRANTZ - Simone GILGENKRANTZ
Pierre ALEXANDRE - Robert FRISCH - Jean GROSDIDIER - Michel PIERSON - Jacques ROBERT
Gérard DEBRY - Georges GRIGNON - Pierre TRIDON - Michel WAYOFF - François CHERRIER - Oliéro GUERCI
Gilbert PERCEBOIS - Claude PERRIN - Jean PREVOT - Pierre BERNADAC - Jean FLOQUET
Alain GAUCHER - Michel LAXENAIRE

==========

PROFESSEURS DES UNIVERSITÉS - PRATICIENS HOSPITALIERS

(Disciplines du Conseil National des Universités)

42ème Section : SCIENCES MORPHOLOGIQUES

1ère sous-section : *(Anatomie)*

Professeur Michel RENARD - Professeur Jacques ROLAND - Professeur Gilles GROSDIDIER
Professeur Pierre LASCOMBES - Professeur Marc BRAUN

2ème sous-section : *(Histologie, Embryologie, Cytogénétique)*

Professeur Hubert GERARD - Professeur Bernard FOLIGUET - Professeur Bruno LEHEUP

3ème sous-section : *(Anatomie et cytologie pathologiques)*

Professeur Adrien DUPREZ - Professeur François PLENAT
Professeur Jean-Michel VIGNAUD - Professeur Eric LABOUYRIE

43ème Section : BIOPHYSIQUE ET IMAGERIE MÉDICALE

1ère sous-section : *(Biophysique et traitement de l'image)*

Professeur Alain BERTRAND - Professeur Gilles KARCHER - Professeur Pierre-Yves MARIE

2ème sous-section : *(Radiologie et imagerie médicale)*

Professeur Jean-Claude HOEFFEL - Professeur Luc PICARD - Professeur Denis REGENT
Professeur Michel CLAUDON - Professeur Serge BRACARD - Professeur Alain BLUM

44ème Section : BIOCHIMIE, BIOLOGIE CELLULAIRE ET MOLÉCULAIRE, PHYSIOLOGIE ET NUTRITION

1ère sous-section : ***(Biochimie et Biologie Moléculaire)***

Professeur Pierre NABET - Professeur Jean-Pierre NICOLAS - Professeur Francine NABET
Professeur Jean-Louis GUEANT

2ème sous-section : ***(Physiologie)***

Professeur Michel BOULANGE - Professeur Jean-Pierre CRANCE - Professeur Jean-Pierre MALLIE
Professeur Hubert UFFHOLTZ - Professeur François MARCHAL - Professeur Philippe HAOUZI

3ème sous-section : ***(Biologie cellulaire)***

Professeur Claude BURLET

4ème sous-section : ***(Nutrition)***

Professeur Olivier ZIEGLER

45ème Section : MICROBIOLOGIE ET MALADIES TRANSMISSIBLES

1ère sous-section : ***(Bactériologie, Virologie-Hygiène)***

Professeur Alain LE FAOU

2ème sous-section : ***(Parasitologie et mycologie)***

Professeur Bernard FORTIER

3ème sous-section : ***(Maladies infectieuses - maladies tropicales)***

Professeur Philippe CANTON - Professeur Alain GERARD - Professeur Thierry MAY

46ème Section : SANTÉ PUBLIQUE

1ère sous-section : ***(Epidémiologie, économie de la santé et prévention)***

Professeur Jean-Pierre DESCHAMPS - Professeur Philippe HARTEMANN
Professeur Serge BRIANÇON - Professeur Francis GUILLEMIN

2ème sous-section : ***(Médecine du travail et des risques professionnels)***

Professeur Guy PETIET

3ème sous-section : ***(Médecine légale)***

Professeur Henry COUDANE

4ème sous-section (Biostatistiques et informatique médicale)

Professeur Bernard LEGRAS - Professeur François KOHLER

47ème Section : HÉMATOLOGIE, IMMUNOLOGIE, TRANSFUSION, CANCÉROLOGIE ET GÉNÉTIQUE

1ère sous-section : ***(Hématologie)***

Professeur Christian JANOT - Professeur Thomas LECOMPTE - Professeur Pierre BORDIGONI -
Professeur Pierre LEDERLIN

(Génie biologique et médical)

Professeur J.François STOLTZ

2ème sous-section : ***(Cancérologie)***

Professeur François GUILLEMIN - Professeur Thierry CONROY

(Radiothérapie)

Professeur Pierre BEY

3ème sous-section : ***(Immunologie)***

Professeur Gilbert FAURE - Professeur Marie-Christine BENE

4ème sous-section : ***(génétique)***

Professeur Philippe JONVEAUX

48ème Section : ANESTHÉSIOLOGIE, PHARMACOLOGIE, RÉANIMATION ET THÉRAPEUTIQUE

1ère sous-section : ***(Anesthésiologie et réanimation chirurgicale)***

Professeur Marie-Claire LAXENAIRE - Professeur Claude MEISTELMAN - Professeur Dan LONGROIS

2ème sous-section : ***(Réanimation médicale)***

Professeur Alain LARCAN - Professeur Henri LAMBERT - Professeur Nicolas DELORME
Professeur Pierre-Edouard BOLLAERT

3ème sous-section : ***(Pharmacologie fondamentale, Pharmacologie clinique)***

Professeur René-Jean ROYER - Professeur Patrick NETTER - Professeur Pierre GILLET

4ème sous-section : ***(Thérapeutique)***

Professeur François PAILLE - Professeur Gérard GAY

49ème Section : PATHOLOGIE NERVEUSE, PATHOLOGIE MENTALE et RÉÉDUCATION

1ère sous-section : ***(Neurologie)***

Professeur Michel WEBER - Professeur Gérard BARROCHE - Professeur Hervé VESPIGNANI

2ème sous-section : ***(Neurochirurgie)***

Professeur Henri HEPNER - Professeur Jean-Claude MARCHAL - Professeur Jean AUQUE

3ème sous-section : ***(Psychiatrie d'adultes)***

Professeur Jean-Pierre KAHN

4ème sous-section : ***(Pédopsychiatrie)***

Professeur Colette VIDAILHET - Professeur Daniel SIBERTIN-BLANC

5ème sous-section : ***(Médecine physique et de réadaptation)***

Professeur Jean-Marie ANDRE

50ème Section : PATHOLOGIE OSTÉO-ARTICULAIRE, DERMATOLOGIE et CHIRURGIE PLASTIQUE

1ère sous-section : ***(Rhumatologie)***

Professeur Jacques POUREL - Professeur Isabelle VALCKENAERE

2ème sous-section : ***(Chirurgie orthopédique et traumatologique)***

Professeur Daniel SCHMITT - Professeur Jean-Pierre DELAGOUTTE - Professeur Daniel MOLE

Professeur Didier MAINARD

3ème sous-section : ***(Dermato-vénéréologie)***

Professeur Max WEBER - Professeur Jean-Luc SCHMUTZ

4ème sous-section : ***(Chirurgie plastique, reconstructrice et esthétique)***

Professeur Michel MERLE - Professeur François DAP

51ème Section : PATHOLOGIE CARDIO-PULMONAIRE et VASCULAIRE

1ère sous-section : ***(Pneumologie)***

Professeur Daniel ANTHOINE - Professeur Gérard VAILLANT - Professeur Jean-Marie POLU - Professeur Yves MARTINET

2ème sous-section : ***(Cardiologie et maladies vasculaires)***

Professeur Etienne ALIOT - Professeur Nicolas DANCHIN - Professeur Yves JUILLIERE - Professeur Nicolas SADOUL

3ème sous-section : ***(Chirurgie thoracique et cardio-vasculaire)***

Professeur Pierre MATHIEU - Professeur Jacques BORRELLY - Professeur Jean-Pierre VILLEMOT

Professeur Jean-Pierre CARTEAUX

4ème sous-section : ***(Chirurgie vasculaire)***

Professeur Gérard FIEVE

52ème Section : MALADIES DES APPAREILS DIGESTIF et URINAIRE

1ère sous-section : ***(Hépatologie, gastro-entérologie)***

Professeur Pierre GAUCHER - Professeur Marc-André BIGARD

Professeur Jean-Pierre BRONOWICKI

2ème sous-section : ***(Chirurgie digestive)***

-

3ème sous-section : ***(Néphrologie)***

Professeur Claude HURIET - Professeur Michèle KESSLER

4ème sous-section : ***(Urologie)***

Professeur Philippe MANGIN - Professeur Jacques HUBERT

53ème Section : MÉDECINE INTERNE et CHIRURGIE GÉNÉRALE MÉDECINE ET CHIRURGIE EXPÉRIMENTALE

1ère sous-section : ***(Médecine interne)***

Professeur Michel DUC - Professeur Gilbert THIBAUT - Professeur Francis PENIN

Professeur Denise MONERET-VAUTRIN - Professeur Claude JEANDEL

Professeur Jean DE KORWIN KROKOWSKI - Professeur Pierre KAMINSKY

2ème sous-section : ***(Chirurgie générale)***

Professeur Patrick BOISSEL - Professeur Laurent BRESLER

54ème Section : PATHOLOGIE DE L'ENFANT, OBSTÉTRIQUE, SYSTÈME ENDOCRINIEN REPRODUCTION ET DÉVELOPPEMENT

1ère sous-section : ***(Pédiatrie)***

Professeur Paul VERT - Professeur Danièle SOMMELET - Professeur Michel VIDAILHET - Professeur Pierre MONIN
Professeur Jean-Michel HASCOET

2ème sous-section : ***(Chirurgie infantile)***

Professeur Michel SCHMITT - Professeur Gilles DAUTEL

3ème sous-section : ***(Gynécologie et obstétrique)***

Professeur Pierre LANDES - Professeur Michel SCHWEITZER - Professeur Jean-Louis BOUTROY
Professeur Philippe JUDLIN - Professeur Patricia BARBARINO

4ème sous-section : ***(Endocrinologie et maladies métaboliques)***

Professeur Jacques LECLERE - Professeur Pierre DROUIN - Professeur Georges WERYHA

5ème sous-section : ***(Biologie du développement et de la reproduction)***

55ème Section : SPÉCIALITÉS MÉDICO-CHIRURGICALES

1ère sous-section : ***(Oto-rhino-laryngologie)***

Professeur Claude SIMON - Professeur Roger JANKOWSKI

2ème sous-section : ***(Ophtalmologie)***

Professeur Antoine RASPILLER - Professeur Jean-Luc GEORGE - Professeur Jean-Paul BERROD

3ème sous-section : ***(Stomatologie et chirurgie maxillo-faciale)***

Professeur Michel STRICKER - Professeur Jean-François CHASSAGNE

==========

PROFESSEURS DES UNIVERSITÉS

27ème section : INFORMATIQUE

Professeur Jean-Pierre MUSSE

64ème Section : BIOCHIMIE ET BIOLOGIE MOLÉCULAIRE

Professeur Daniel BURNEL

==========

PROFESSEUR ASSOCIÉ

Hygiène et santé publique

Professeur Roland SCHULZE-ROBBECKE

==========

MAÎTRES DE CONFÉRENCES DES UNIVERSITÉS - PRATICIENS HOSPITALIERS

42ème Section : SCIENCES MORPHOLOGIQUES

1ère sous-section : ***(Anatomie)***

Docteur Bruno GRIGNON

2ème sous-section : ***(Histologie, Embryologie, cytogénétique)***

Docteur Jean-Louis CORDONNIER - Docteur Edouard BARRAT - Docteur Jean-Claude GUEDENET
Docteur Françoise TOUATI - Docteur Chantal KOHLER

3ème sous-section : ***(Anatomie et cytologie pathologiques)***

Docteur Yves GRIGNON - Docteur Béatrice MARIE

43ème Section : BIOPHYSIQUE ET IMAGERIE MÉDICALE

1ère sous-section : ***(Biophysique et traitement de l'image)***

Docteur Denise VAILLANT - Docteur Marie-Hélène LAURENS - Docteur Jean-Claude MAYER
Docteur Pierre THOUVENOT - Docteur Jean-Marie ESCANYE - Docteur Amar NAOUN

44ème Section : BIOCHIMIE, BIOLOGIE CELLULAIRE ET MOLÉCULAIRE, PHYSIOLOGIE ET NUTRITION

1ère sous-section : ***(Biochimie et biologie moléculaire)***

Docteur Marie-André GELOT - Docteur Xavier HERBEUVAL - Docteur Jean STRACZEK
Docteur Sophie FREMONT - Docteur Isabelle GASTIN

2ème sous-section : ***(Physiologie)***

Docteur Gérard ETHEVENOT - Docteur Nicole LEMAU de TALANCE - Christian BEYAERT

45ème Section : MICROBIOLOGIE ET MALADIES TRANSMISSIBLES

1ère sous-section : ***(Bactériologie, Virologie-Hygiène)***

Docteur Francine MORY - Docteur Michèle WEBER - Docteur Christine LION
Docteur Michèle DAILLOUX

2ème sous-section : ***(Parasitologie et mycologie)***

Docteur Marie-France BIAVA - Docteur Nelly CONTET-AUDONNEAU

46ème Section : SANTÉ PUBLIQUE

1ère sous-section : ***(Epidémiologie, économie de la santé et prévention)***

-

47ème Section : HÉMATOLOGIE, CANCÉROLOGIE, IMMUNOLOGIE ET GÉNÉTIQUE

1ère sous-section : ***(Hématologie)***

Docteur Jean-Claude HUMBERT - Docteur François SCHOONEMAN

4ème sous section : (Génétique)

48ème Section : ANESTHÉSIOLOGIE, PHARMACOLOGIE, RÉANIMATION ET THÉRAPEUTIQUE

1ère sous-section : ***(Anesthésiologie et réanimation chirurgicale)***

Docteur Jacqueline HELMER - Docteur Gérard AUDIBERT

3ème sous-section : ***(Pharmacologie fondamentale - Pharmacologie clinique)***

Docteur Faiez ZANNAD - Docteur Françoise LAPICQUE - Docteur Marie-José ROYER-MORROT

==========

MAÎTRES DE CONFÉRENCES

19ème section : SOCIOLOGIE, DÉMOGRAPHIE

Madame Michèle BAUMANN .

32ème section : CHIMIE ORGANIQUE, MINÉRALE, INDUSTRIELLE

Monsieur Jean-Claude RAFT

40ème section : SCIENCES DU MÉDICAMENT

Monsieur Jean-Yves JOUZEAU

60ème section : MÉCANIQUE, GÉNIE MÉCANIQUE ET GÉNIE CIVILE
Monsieur Alain DURAND

64ème section : BIOCHIMIE ET BIOLOGIE MOLÉCULAIRE
Madame Marie-Odile PERRIN - Mademoiselle Marie-Claire LANHERS

65ème section : BIOLOGIE CELLULAIRE
Mademoiselle Françoise DREYFUSS - Monsieur Jean-Louis GELLY - Madame Anne GERARD - Madame Ketsia HESS
Monsieur Pierre TANKOSIC - Monsieur Hervé MEMBRE

67ème section : BIOLOGIE DES POPULATIONS ET ÉCOLOGIE
Madame Nadine MUSSE

68ème section : BIOLOGIE DES ORGANISMES
Madame Tao XU-JIANG

======

MAÎTRES DE CONFÉRENCES ASSOCIÉS

Médecine Générale
Docteur Gilbert ALIN
Docteur Louis FRANCO

========

PROFESSEURS ÉMÉRITES

Professeur Pierre ALEXANDRE - Professeur Simone GILGENKRANTZ - Professeur Jean-Marie GILGENKRANTZ
Professeur Gérard DEBRY - Professeur Georges GRIGNON - Professeur Michel WAYOFF - Professeur Claude PERRIN
Professeur Jean PREVOT - Professeur Michel MANCIAUX - Professeur Jean-Pierre GRILLIAT
Professeur Claude CHARDOT - Professeur Michel PIERSON

==========

DOCTEURS HONORIS CAUSA

Professeur Norman SHUMWAY (1972)
Université de Stanford, Californie (U.S.A)
Professeur Paul MICHIELSEN (1979)
Université Catholique, Louvain (Belgique)
Professeur Charles A. BERRY (1982)
Centre de Médecine Préventive, Houston (U.S.A)
Professeur Pierre-Marie GALETTI (1982)
Brown University, Providence (U.S.A)
Professeur Mamish Nisbet MUNRO (1982)
Massachusetts Institute of Technology (U.S.A)
Professeur Mildred T. STAHLMAN (1982)
Wanderbilt University, Nashville (U.S.A)
Professeur Harry J. BUNCKE (1989)
Université de Californie, San Francisco (U.S.A)
Professeur Théodore H. SCHIEBLER (1989)
Institut d'Anatomie de Würtzburg (R.F.A)
Professeur Maria DELIVORIA-PAPADOPOULOS (1996)
Université de Pennsylvanie (U.S.A)
Professeur Mashaki KASHIWARA (1996)
Research Institute for Mathematical Sciences de Kyoto (JAPON)
Professeur Ralph GRÄSBECK (1996)
Université d'Helsinki (FINLANDE)
Professeur James STEICHEN (1997)
Université d'Indianapolis (U.S.A)
Professeur Duong Quang TRUNG (1997)
Centre Universitaire de Formation et de Perfectionnement des Professionnels de Santé d'Hô Chi Minh-Ville (VIÊTNAM)

A NOTRE MAÎTRE ET PRÉSIDENT DE THÈSE

Monsieur le Professeur P. NABET

Professeur de Biochimie et de Biologie Moléculaire

Chevalier de la légion d'honneur

Nous avons été très sensible à l'honneur que vous nous avez témoigné en acceptant la présidence de cette thèse.

Nous avons pu apprécier vos grandes qualités humaines et la richesse de votre enseignement lors de nos études et de notre stage d'interne dans votre service.

L'accueil qui nous ont été fait pendant la réalisation de cette thèse n'a été que plus stimulant.

Veuillez trouver dans ce travail, l'expression de nos sincères remerciements et de notre plus profond respect.

A NOTRE MAÎTRE ET JUGE

Madame le Professeur MM. GALTEAU

Professeur de Biochimie

Nous sommes honoré de vous compter parmi les membres de ce jury.

Permettez-nous de vous exprimer notre plus sincère gratitude et notre plus profond respect.

A NOTRE MAÎTRE ET JUGE

Monsieur le Professeur M. SCHWEITZER

Professeur de Gynécologie et Obstétrique

Vous nous faites l'honneur de bien vouloir juger ce travail.

Qu'il nous soit permis de vous exprimer toute notre reconnaissance

A NOTRE MAÎTRE ET JUGE

Monsieur le Docteur A. MITON

Praticien Hospitalier de Gynécologie

Nous avons pu apprécier vos grandes qualités de médecin, l'étendue de vos connaissances ainsi que vos grandes qualités humaines alliées à des idées avant-gardiste.

L'accueil attentif et chaleureux que vous nous avez réservé dans le service de médecine prénatale nous a permis de mener ce travail à bien. Nous vous en remercions.

Veuillez accepter ici le témoignage de notre grande reconnaissance et de notre profond respect.

A NOTRE MAÎTRE ET JUGE

Monsieur le Docteur H. SCHROEDER

Maître de conférence

Directeur de thèse

Nous avons toujours trouvé auprès de vous un accueil attentif et chaleureux. Votre aide nous fut d'un très grand secours tout au long de ce travail.

Lors du stage que nous avons effectué en Biochimie, nous avons pu apprécier les grandes qualités humaines et de pédagogues. L'initiation à la Biochimie Médicale n'en fut que facilitée.

Soyez assuré de notre dévouement sincère et de notre grande admiration.

A madame le Docteur Isabelle HAMON

Praticien hospitalier

Pour l'accueil que vous nous avez réservé en néonatalogie

A madame le Docteur Florence GIRARD

Assistant des hôpitaux de Nancy

pour l'accueil que vous nous avez toujours réservé dans le service de santé publique

et pour la patience dont vous avez fait preuve vis-vis de mon étude statistique

Encore merci

A tous ceux qui m'ont aidé à réaliser cette thèse.

A tous ceux qui m'ont aidé à réaliser cette thèse.

A Gabrielle,

pour le bonheur que nous partageons.

A mes toutes petites filles, Barbara et Natacha

Avec tout mon amour.

En souvenir de mes grands parents.

A mon père,
il est et sera toujours mon exemple.

A ma mère,
pour tout ce que elle m'a transmis, son amour et son soutien.

A ma soeur, Laurent, Raphaël et Rebecca

En souvenir de mon beau-père

A ma belle-maman, ses enfants et ses petits enfants

A mes amis

SERMENT

"Au moment d'être admis à exercer la médecine, je promets et je jure d'être fidèle aux lois de l'honneur et de la probité. Mon premier souci sera de rétablir, de préserver ou de promouvoir la santé dans tous ses éléments, physiques et mentaux, individuels et sociaux. Je respecterai toutes les personnes, leur autonomie et leur volonté, sans aucune discrimination selon leur état ou leurs convictions. J'interviendrai pour les protéger si elles sont affaiblies, vulnérables ou menacées dans leur intégrité ou leur dignité. Même sous la contrainte, je ne ferai pas usage de mes connaissances contre les lois de l'humanité. J'informerai les patients des décisions envisagées, de leurs raisons et de leurs conséquences. Je ne tromperai jamais leur confiance et n'exploiterai pas le pouvoir hérité des circonstances pour forcer les consciences. Je donnerai mes soins à l'indigent et à quiconque me les demandera. Je ne me laisserai pas influencer par la soif du gain ou la recherche de la gloire.

Admis dans l'intimité des personnes, je tairai les secrets qui me sont confiés. Reçu à l'intérieur des maisons, je respecterai les secrets des foyers et ma conduite ne servira pas à corrompre les mœurs. Je ferai tout pour soulager les souffrances. Je ne prolongerai pas abusivement les agonies. Je ne provoquerai jamais la mort délibérément.

Je préserverai l'indépendance nécessaire à l'accomplissement de ma mission. Je n'entreprendrai rien qui dépasse mes compétences. Je les entretiendrai et les perfectionnerai pour assurer au mieux les services qui me seront demandés.

J'apporterai mon aide à mes confrères ainsi qu'à leurs familles dans l'adversité.

Que les hommes et mes confrères m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses ; que je sois déshonoré et méprisé si j'y manque".

TABLE DES MATIÈRES

TABLE DES MATIÈRES p.18

SIGLES ET ABRÉVIATIONS p.24

LISTE DES TABLEAUX ET FIGURES p.26

AVANT-PROPOS p.30

PRÉSENTATION DE NOS MARQUEURS CARDIAQUES p.32

I. LES CRÉATINES KINASES p.32

1. Les molécules p.32

1.1. Structure p.32

1.1.1. *La molécule classique* p.32

1.1.2. *Les variants* p.33

a) Isoforme de poids moléculaire proche des formes cytosolique p.33

b) Isoformes de haut poids moléculaire p.33

1.2. Répartition de la créatine kinase dans les tissus humains p.34

1.3. Rôles physiologiques de la CK p.35

2. Principales méthodes de mesure p.36

2.1. Créatine kinase totale p.36

2.2. Isoformes de la CK p.37

2.2.1. *Electrophorèse adaptée à la créatine kinase* p.37

2.2.2. *Par technique immunologique adaptée à la créatine kinase* p.38

a) Mesure de l'activité de la CKMB p.39

b) Mesure de la masse de la CKMB p.39

2.2.3. *La chromatographie adaptée à la créatine kinase* p.39

2.3. Sur le plan pratique p.40

3. Les variations préanalytiques de la CK p.40

3.1. Facteurs de variation liés au sujet p.40

3.2. Facteurs de variation liés au prélèvement.....p.41
3.3. Facteurs de variation liés à l'échantillon.....p.41
3.4. Facteurs de variation liés au spécimen.....p.42
4. Les valeurs normales.....p.42
4.1. La CK totale.....p.43
4.2. Les isoformes de la CK.....p.44
5. Interprétation des CK.....p.45
5.1. Dans le diagnostic de l'infarctus du myocarde.....p.45
5.2. Dans les maladies musculaires diverses et autres.....p.46
5.3. Chez l'enfant.....p.47

II. LES LACTATES DESHYDROGENASES.....p.48

1. Structure de l'enzyme, localisation.....p.48
2. Rôle physiologique.....p.50
3.Méthodes de dosage.....p.51
3.1. Lactate déshydrogénase.....p.51
3.2. Isoformes de la LDH.....p.53
4. Les variations préanalytiques.....p.53
4.1. Facteurs de variation liés au sujet.....p.53
4.2. Facteurs de variation liés au prélèvement.....p.54
4.3. Facteurs de variation liés à l'échantillon.....p.54
4.4. Facteurs de variation liés au spécimen.....p.55
5. Les valeurs normales des LDH.....p.55
5.1. La LDH totale.....p.55
5.2. Les isoformes de la LDH.....p.57
6. Interprétation des LDH.....p.58
6.1. Relation LDH et les infarctus de différents organes.....p.58
6.2. Relation des LDH avec les pathologies hématologiques et tumorales.....p.59
6.3. Les LDH chez le nouveau-né.....p.61

III. LE COMPLEXE DES TROPONINES TnIc p.61

1. L'appareil de contraction, notions générales p.62

2. Structure des protéines impliquées dans la contraction musculaire p.62

2.1. La myosine p.62

2.2. L'actine p.62

2.3. La tropomyosine p.63

2.4. Le complexe des troponine p.63

2.4.1. *Troponine T* p.64

2.4.2. *Troponine C* p.64

2.4.3. *Troponine I* p.64

3. La troponine Ic p.65

3.1. Structure p.65

3.2. Génétique p.66

3.3. Rôle physiologique p.67

3.4. Qualités immunes p.68

3.5. Stabilité p.69

3.6. Conclusion sur le plan analytique p.70

4. Variations préanalytiques p.70

5. Les valeurs normales p.71

6. Interprétation de la troponine Ic p.72

6.1. Dans le diagnostic de l'infarctus du myocarde p.72

6.2. Dans l'angor instable p.74

6.3. Dans la chirurgie coronaire et cardiaque p.75

6.4. Dans d'autres circonstances p.76

6.5. La TnIc et l'enfant p.77

PRÉSENTATION DE L'ETUDE p.80

I. LE PRÉAMBULE : LA SOUFFRANCE FOETALE p.80

1. Définition p.80

2. Physiopathologie.....p.81
2.1. Le déficit nutritionnel.....p.81
2.2. L'hypoxie.....p.81
3. Conséquences cliniques.....p.82
4. Notions échographiques et vélocimétriques.....p.82
5. Biologie actuelle de la souffrance foetale chronique.....p.85
5.1. Données actuelles de la biologie foetale
appliquées à la souffrance foetale.....p.85
5.1.1. *Equilibre acido-basique et gaz du sang*.....p.85
a) Valeurs normales.....p.85
b) Conséquences sur l'équilibre acido-basique.....p.86
c) Rôle actuel décisionnel des gaz du sang.....p.86
5.1.2. *L'hématologie et la souffrance foetale*.....p.87
a) Valeurs normales.....p.87
b) Notions à déduire actuellement.....p.88
- *Sur la lignée rouge*.....p.88
- *Sur les leucocytes et les plaquettes*.p.88
5.1.3. *La biochimie et la souffrance foetale*.....p.89
a) Paramètres étudiés.....p.89
- *Le statut hormonal*.....p.89
- *Sur le plan nutritionnel*.....p.90
b) Pourquoi choisir les CK, les LDH
et la troponine Ic.....p.90

II. MATÉRIEL ET MÉTHODE.....p.91
1. Aspect méthodologique et limites de l'étude.....p.91
1.1. Position actuelle de la biologie du foetus
au point de vue pratique.....p.91

1.2. Particularité de la biologie foetale : Le foetus normal p.92
1.3. Entre l'analyse globale et celle au cas par cas p.93

2. La ponction de sang foetal.....p.94
2.1. Décider une ponction de sang foetal.....p.95
2.2. Technique de la ponction et description de l'échantillon.....p.95
2.2.1. *Technique de ponction du sang foetal*.....p.96
2.2.2. *Qualité de L'échantillon*.....p.97
3. Les méthodes de dosage.....p.98
3.1. L'activité LDH, CK totale et de la fraction CKMB.....p.99
3.2. La CKMB massique et la troponine Ic.....p.99
3.2.1. *La CKMB massique*.....p.100
3.2.2. *La troponine Ic*.....p.100
3.3. Les isoformes des LDH_1.....p.101
4. Outils statistiques employés.....p.101
4.1. Statistiques descriptives.....p.101
4.2. Les corrélations.....p.102

III. RÉSULTATS.....p.103
1. Description générale de la population.....p.103
2. Corrélations entre les différents marqueurs.....p.104
2.1. Tableaux de corrélations.....p.105
2.2. Analyse descriptive des données du tableau N°18 et N°19.....p.106
2.3. Analyse en composante principale.....p.106
3. Corrélation clinico-biologique.....p.107
3.1. Influence de l'âge du foetus au moment du prélèvement, le sexe et le poids après l'expulsion du foetus.....p.107
3.2. Description de deux cas cliniques.....p.107
3.2.1. Illustration d'une réactivité cardiaque.....p.108
3.2.2. Illustration d'une hypoxie cardiaque.....p.108
3.3. Etude sur les souffrances hypoxiques déterminées par leurs étiologies et par les souffrances d'origine cardiaque.....p.109
3.3.1. But de l'analyse statistique et règles de répartition des foetus dans les différents groupes.....p.109

3.3.2. Description générale de la population

3.3.3. Description des malformations cardiaques.....p.110

3.3.4. Description des foetus ayant une souffrance hypoxique p.111

3.3.5. Description du groupe servant de témoin.....p.112

3.3.6. Résultats de la comparaison entre les groupes.....p.112

a) Sur les trois groupes constitués.....p.113

b) Sur deux groupes.....p.114

DISCUSSION p.115

I. CONTRAINTES DE L'ÉTUDE p.115

1. Limites de l'interprétation des marqueurs chez le foetus p.115

1.1. La troponine Ic p.115

1.2. Les CK et les LDH p.116

1.3. Ponction de sang foetal et demi-vie sérique p.116

2. Au niveau de la répartition des foetus dans les groupes p.117

II. LDH ET SES ISOFORMES p.118

2.1. La LDH totale.....p.118

2.2. Les isoformes de la LDH p.118

III. LA TROPONINE Ic p.119

CONCLUSION.....p.125

BIBLIOGRAPHIE.....p.127

ABRÉVIATIONS ET SIGLES

SIGLES ET ABRÉVIATIONS

AA:	acide aminé
Bas:	polynucléaire basophile
CAV:	communication auriculoventriculaire
CIV:	communication interventriculaire
CEC:	circulation extracorporelle
CKMM:	fraction MM de la créatine kinase (Muscle-Muscle)
CKMB:	fraction MB de la créatine kinase (Muscle-Brain)
CKBB:	fraction BB de la créatine kinase (Brain-Brain)
DGKC:	Société Allemande de Chimie Clinique
DO:	Densité Optique
Eos:	polynucléaire éosinophile
GB:	globules blancs
GBEA:	guide de bonne exécution des analyses
GR:	globules rouges
Hb:	Hémoglobine
Ht:	Hématocrite
IDM:	Infarctus Du Myocarde
IFCC:	International Fédération of Clinical Chemistry
Ig:	Immunoglobuline
ITG:	Interruption Thérapeutique de Grossesse
Lym:	lymphocyte
Mg:	magnésium
Mono:	monocyte
MSP:	méthosulfate de phénazine
Neu:	polynucléaire neutrophile
Pl:	plaquette
RCIU:	Retard de Croissance Intra-Utérin
SA:	Semaine d'Aménorrhée

Sat.:	saturation en oxygéne de l'hémoglobine
SFBC:	Société Française de Biologie Clinique
SCE:	Société Scandinave d'enzymologie
TnC:	troponine C
TnT:	troponine T
TnI:	troponine I
cTnT:	isoforme cardiaque de la troponine T
TnIc:	isoforme cardiaque de la troponine I
TnIs:	isoforme de la troponine I des muscles lisse
VGM:	volume globulaire moyen

LISTE DES DIFFÉRENTS TABLEAUX ET FIGURES

LISTE DES TABLEAUX ET FIGURES

TABLEAUX

Tableau N° 1 : Distribution des isoformes MM, MB et BB de la CK dans les principaux tissus humains p.35

Tableau N° 2 : Référence des CK totales dans la littérature.....p.43

Tableau N° 3 : Référence en néonatalogie de la CKMB.....p.45

Tableau N° 4 : Corrélation entre le score d' Apgar et les CK et CKMM.....p.48

Tableau N° 5 : Valeurs de référence de l'activité LDH totale.....p.56

Tableau N° 6 : Valeurs de référence de 4 activités enzymatiques dont la LDH évaluées sur 47 foetus sains pour les LDH en pédiatrie.....p.56

Tableau N° 7 : Valeurs de référence de 18 paramètres biochimiques dont la LDH sur 72 foetus sains, invariable suivant l'âge de grossesse p.56

Tableau N° 8 : Valeur de référence pour la LDH en pédiatrie.....p.57

Tableau N° 9 : Valeurs usuelles en pédiatrie pour les LDH.....p.57

Tableau N° 10 : Valeur de référence de la TnIc selon huit trousses mises sur le marché p.71

Tableau N° 11: Corrélation des techniques de dosage de TnIc.....p.71

Tableau N° 12 : Valeurs de référence de la gazométrie sanguine.....p.85
et de l'équilibre acido-basique chez 35 foetus sains

Tableau N° 13 : Valeur de référence de foetus sain à la naissance de la.....p.87
numération formule en fonction de l'âge de la grossesse

Tableau N° 14 :Valeur de référence de la numération formule sanguine p.87
de foetus sains prélevés à la naissance entre la 20ème
et la 34ème semaine d'aménorrhée sur 106 foetus

Tableau N° 15 :Valeurs de deux foetus, l'un sans anomalie génétique.....p.93
et l'autre sans infestation comparées à des valeurs
de référence recueillies dans la littérature

Tableau N° 16 : Statistique descriptive de 12 paramètres mesurés.....p.103
le plus souvent de l'étude (dont la PpO_2)

Tableau N° 17 : Corrélations des 12 paramètres étudiés entre eux.....p.103

Tableau N° 18 : Corrélations des paramètres deux à deux de façon détaillées.....p.104

Tableau N° 19 : Répartition des foetus hypoxiques par anomalie principale.....p.109
et selon la gravité et le devenir du foetus

Tableau N° 20 : Répartition des foetus non hypoxiques par anomalie.....p.109
principale et selon la gravité et le devenir du foetus

Tableau N° 21 : Résumé des répartitions des foetus dans chaque groupe.....p.109

Tableau N° 22 : Comparaisons statistiques de trois groupes de foetus.....p.112
répartis selon l'existence d'une hypoxie,
dont l'origine est cardiaque ou non

Tableau N° 23 : Comparaisons statistiques de deux groupes de foetus répartis selon l'existence d'une hypoxie p.113

Tableau N° 24 : Valeurs de certains paramètres tissulaires des deux groupes de foetus de l'étude et les valeurs de référence en néonatalogie p.114

FIGURES

Figure N° 1: Actions enzymatiques sériques sur les CKMM et CKMB p.33

Figure N° 2 : Localisation des différentes isoformes de la CKMM et de la CKMB sur gel d'électrophorèse p.33

Figure N° 3 : Localisation des différentes isoformes et des variants des sur gel d'électrophorèse p.34

Figure N° 4 : Métabolisme énergétique p.35

Figure N° 5 : Hydrolyse de la créatine phosphate p.35

Figure N° 6 : Les trois réactions successives du dosage de la CK totale p.36

Figure N° 7 : Activité enzymatique de la CK sérique p.38

Figure N° 8 : Migration électrophorétique des isoformes de la CK et ses formes atypiques p.38

Figure N° 9 : Dosage de la CKMB par immunoinhibition p.39

Figure N° 10 : Mesure de la masse de la CKMB p.39

Figure N° 11 : Répartition des isoformes de la LDH p.49

Figure N° 12 : Répartition des isoformes de la LDH dans trois muscles particuliers.p.49

Figure N° 13 : Dosage de l'αhydroxybutyrate déshydrogénase.....p.50

Figure N° 14 : Activité enzymatique de la LDH.....p.51

Figure N° 15 : Electrophorèse normale de la LDH.....p.53

Figure N° 16 : Révélation colorée de la LDH sur le gel de migration.....p.53

Figure N° 17 : Quatre profils dont trois caractéristiques.....p.58
de maladie cardiaque, pulmonaire et hépatique

Figure N° 18 : Caractéristique des trois types musculaires.....p.61

Figure N° 19 : L'appareil contractile.....p.62

Figure N° 20 : Complexe de la troponine au sein du filament fin.....p.63

Figure N° 21 : Rôle fonctionnel de la troponine I.....p.67

Figure N° 22 : Corrélation LDH 3 / âge de ponction.....p.116

Figure N° 23 : Corrélation LDH 5 / poids de naissance.....p.116

Figure N° 24 : Exemple de quatre répartitions des isoformes p.119
de la LDH selon la PO_2

Figure N° 25 : Corrélation entre LDH total et troponine Ic.....p.120

AVANT-PROPOS

AVANT PROPOS

La biologie prénatale sur sang foetal prélevé *in utero*, est une discipline récente. De nouvelles techniques de ponction de sang de cordon ombilical ont permis son essor.

C'est une biologie qui a la particularité de ne pas avoir de valeurs de référence *in utero* car le couple mère-enfant sain ne bénéficie pas habituellement de cette exploration. Actuellement, les données de référence sont limitées aux foetus sains prélevés à la naissance.

L'étude présentée a pour but d'analyser des paramètres relatifs à des lésions du tissu myocardique, couramment utilisés chez l'adulte. Il s'agit de la troponine Ic, de la créatine phosphokinase et ses isoformes et de la lactate déshydrogénase et ses isoformes.

Il existe plusieurs raisons qui nous conduisent à travailler sur ces marqueurs. Nous pouvons les répartir en trois étapes différentes:

-en premier, ce sont des marqueurs appliqués à l'homme qui sont bien connus dans leur spécificité et leur sensibilité et dont l' interprétation est relativement bien codifiée. L'application au sang foetal n'a pas soulevé de problèmes techniques particuliers. De plus, la troponine Ic n'a jamais été étudiée sur le sang foetal prélevé *in utero* au deuxième et au troisième trimestre de la grossesse. Son expression au cours de la vie foetale, sa variation physiologique et physiopathologique sont inconnus.

-deuxièmement, de façon fortuite, une élévation du taux de la troponine Ic apparaît fréquemment dans les sérums prélevés, notamment ceux correspondant à une hypoxémie foetale.

-enfin, il semble intéressant d'étudier des marqueurs cardiaques, en tenant compte de la physiopathologie en cas de souffrance foetale hypoxique, pour évaluer un état de souffrance foetale avancée. En effet, le coeur, comme le cerveau, est un organe privilégié quand un déficit apparaît. Il est préservé par la modification des répartitions des flux vasculaires aux dépens d'autres territoires.

A partir de ces éléments, il est important de signaler la concordance entre l'élévation des stigmates d'une lésion myocardique et une complication ou d'un mauvais

pronostic d'une souffrance foetale. Il est aussi important de mettre en évidence l'apport interprétatif de ce marqueur par rapport à d'autre paramètres de mauvais pronostic.

Après une introduction rappelant les connaissances actuelles concernant la biochimie de ces différents marqueurs et leur interprétation par rapport au processus physiopathologique, nous présenterons les résultats d'une étude clinique rétrospective établie entre le laboratoire de biochimie A de l'hôpital central du CHU de Nancy et l'unité de médecine foetale de la maternité régionale A. Pinard.

A partir de ces résultats, nous présenterons les conclusions de cette étude quant à l'intérêt de ces marqueurs biochimiques au cours de la vie foetale à des fins diagnostiques et pronostiques par rapport au devenir du foetus.

PRÉSENTATION DE NOS MARQUEURS CARDIAQUES

PRESENTATION DES MARQUEURS CARDIAQUES

I. LES CREATINES KINASES

1. Les molécules

Dans la littérature , elles apparaissent sous différentes dénominations: créatine kinase (CK), créatine phosphokinase (CPK), ou ATP, créatine N phosphotransférase, qui caractérise le mieux les molécules puisqu'elle identifie très clairement le type de réaction biochimique qu'elle catalyse. Tous ces termes sont des synonymes, et par souci de clarté , le terme le plus employé, "créatine kinase ou CK" au singulier est celui que nous utiliserons pour la suite du travail.

1.1. Structure

1.1.1. *La molécule classique*

C'est une enzyme protéique, constituée de deux sous-unités de 360 acides aminés chacune; l'une est dénommée par la lettre M (pour Muscle) et l'autre par la lettre B (pour Brain). Chaque monomère est une seule chaîne peptidique avec un site catalytique comprenant un groupe sulfhydryl. La combinaison de ces deux sous-unités donne trois isoformes: CK BB ou CK1, CK MB ou CK2, CK MM ou CK3. Dans le cytosol de la cellule, c'est sous cette forme de dimères qu'on les trouve. Le poids moléculaire des sous-unités est de 41000 Daltons et le dimère de 83 à 84000 Daltons.

Une forme supplémentaire est retrouvée dans les mitochondries cellulaires (Lang 1981). Cette forme mitochondriale est aussi un dimère composé de deux sous-unités spécifiques et identiques Mi, soit la CKM_iM_i. La sous-unité M_i ne se lie jamais avec les sous-unités M et B. Le poids moléculaire du dimère est de 84000 Daltons. (Stein et Decker , 1989)

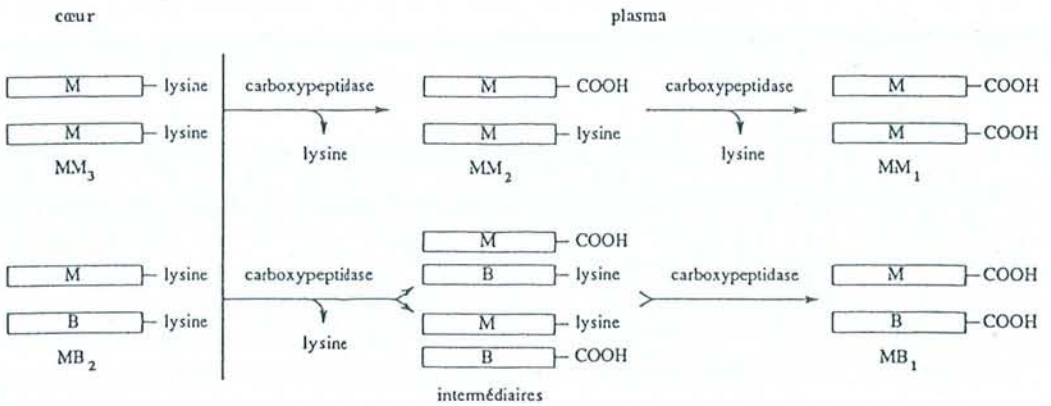


Figure N°1: Actions enzymatiques sériques sur les CKMM et CKMB (Dorè, 1994)

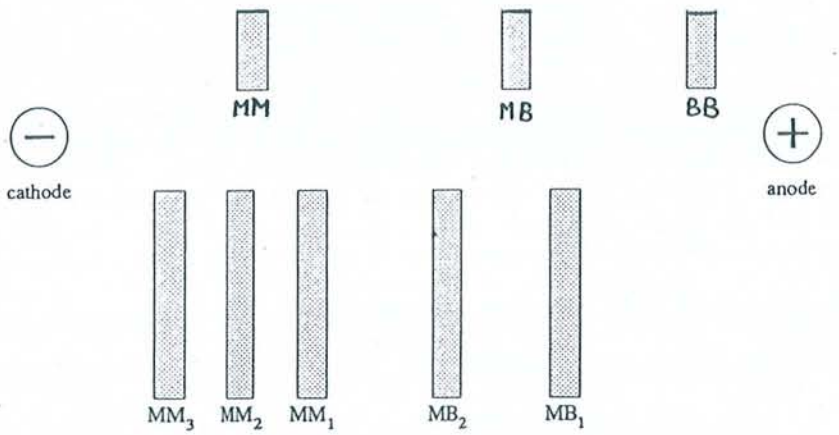


Figure N°2: localisation des différents isoformes de la CKMM et de la CKMB sur gel d'électrophorèse(Dorè, 1994)

1.1.2. *Les variants* (Stein et al., 1983)

Dans le sérum, l'utilisation de technique d'électrophorèse a permis de montrer qu'il existait des formes supplémentaires de la CK. (Kanemisu, Oligaki, 1988).

Ces autres formes sont appelées des variants, ou les protéines isoformes, ou les isoformes post-transcriptionnelles de la créatine kinase . Elles sont divisées en deux groupes: l'un à poids moléculaire proche des formes cytosoliques et l'autre à haut poids moléculaire.

a) Isoforme de poids moléculaire proche des formes cytosoliques

Il faut noter la présence de deux isoformes de la CK MB, appelées CKMB 1 et CKMB 2. La CKMB 2 est la forme originale cytosolique alors que la CKMB 1, présente dans le sérum, correspond à une forme modifiée de l'enzyme probablement due à l'action d'une carboxypeptidase sérique. Elle cliverait une lysine en position C-terminale de la sous unité M (Lavoine et al., 1997)(Puelo et al., 1994), permettant à la CKMB 1 une mobilité électrophorétique plus importante.

Une partie de la CKBB libérée est transformée dans le sérum en une CKBB' par un mécanisme complexe et inconnu, d'autant plus complexe que la forme prime peut se retransformer en CKBB cytosolique (Stein et Decker , 1989) .Cette CKBB' peut être détectée par electrophorèse et chromatographie par échange d'ions.

La CKMM sérique se trouve sous trois formes différentes dans le sérum. La forme cytosolique, la CKMM3, est détectée dans le sérum. La sous unité M est probablement, elle aussi, dégradée par une carboxypeptidase sérique pour donner les isoformes CKMM2 et CKMM1. (Figure 1)

La technique pouvant être utilisée pour séparer ces isoformes est une électrophorèse en gel d'agarose à pH alcalin sous haut voltage (Lavoine et al., 1997). (figure 2)

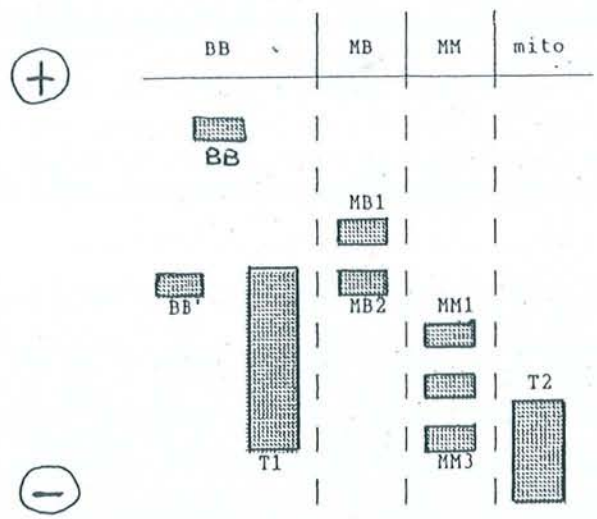


Figure N°3: localisation des différents isoformes et des variants sur gel d'électrophorèse(Stein et Decker, 1989)

b) Isoformes de haut poids moléculaire

Des isoformes de haut poids moléculaire appelées macro-CK peuvent être mises en évidence dans le sérum. Elles sont caractérisées par un poids moléculaire supérieur à 200000 Daltons et correspondent d'une part à la polymérisation des sous-unités M et B, et d'autre part à une liaison entre l'enzyme et des immunoglobulines spécifiques.

Dans le cas d'une macroCK formée par la liaison de l'enzyme aux anticorps, celle-ci est appelée macroCK de type 1. Les immunoglobulines sont le plus souvent dirigées contre l'activité catalytique de la sous unité B. Cette liaison, intéressant principalement la CKBB, peut intervenir au niveau de la CKMB. Une liaison de certains anticorps avec les CKMM a été rapportée dans des cas pathologiques très particuliers (cancers à localisations multiples). (Kanemitsu et Okigaki , 1988)

Une liaison avec les CK mitochondriales n'a jamais été rapportée.

Une étude sur les auto-anticorps dirigés contre la créatine kinase(Stein et al., 1986) montre:

1) L'anticorps le plus souvent rencontré est une Ig G (96 %)

2) L'isotype des chaînes légères des Ig G est le plus souvent une chaîne kappa (80%).

3) La créatine kinase se lie à la fraction Fab de l'immunoglobuline avec une forte affinité.

La macroCK résultant de la polymérisation de sous-unités ne se voit que pour la CK mitochondriale et est appelée macro CK de type 2 (Figure 3).

1.2. Répartition de la créatine kinase dans les tissus humains (Steghens, 1984) (Kanemitsu et Okigaki , 1988)

Chez l'homme, la créatine kinase est présente dans la plupart des organes, en proportion relative très variable selon les méthodes de mesure, les isoformes recherchées et les différentes études réalisées. Globalement, une activité créatine kinase

Tableau 1 : Distribution des isoformes MM, MB et BB de la CK dans les principaux tissus humains(Steghens J.P., 1984)

Tissu/isoformes de la CK	MM(%)	MB(%)	BB(%)
Muscle du squelette	96-100	0-3	0-1
Langue	90-99	1-5	0-5
Diaphragme	96,00	4,00	2,00
Coeur d'adulte	71-96	4-27	0-2
Coeur d'enfant	96-100	0-4	0,00
Aorte	81-88	8-14	3-5
Rein	70-100	0,00	0-30
Rate	65-75	0,00	25-35
Thyroïde	64-79	6,00	15-30
Surrénale	35-60	0-10	25-40
Poumon	27-72	0-4	18-69
Carotide	56,00	2,00	42,00
Artére	39,00	7,00	54,00
Foie	50,00	0,00	50,00
Prostate	34-69	2-6	59-60
Utérus	5-16	2-20	64-93
Pancréas	21-29	5-9	66-73
Intestin	11-13	7-9	78-80
Vessie	2-7	3-5	89-93
Estomac	3,00	2-6	91-95
Hypophyse	0,00	0,00	100,00
Moelle épinière	0,00	0,00	100,00
Cervelet	0,00	0,00	100,00
Cerveau	0,00	0,00	100,00
Placenta humain	<20	<20	>60

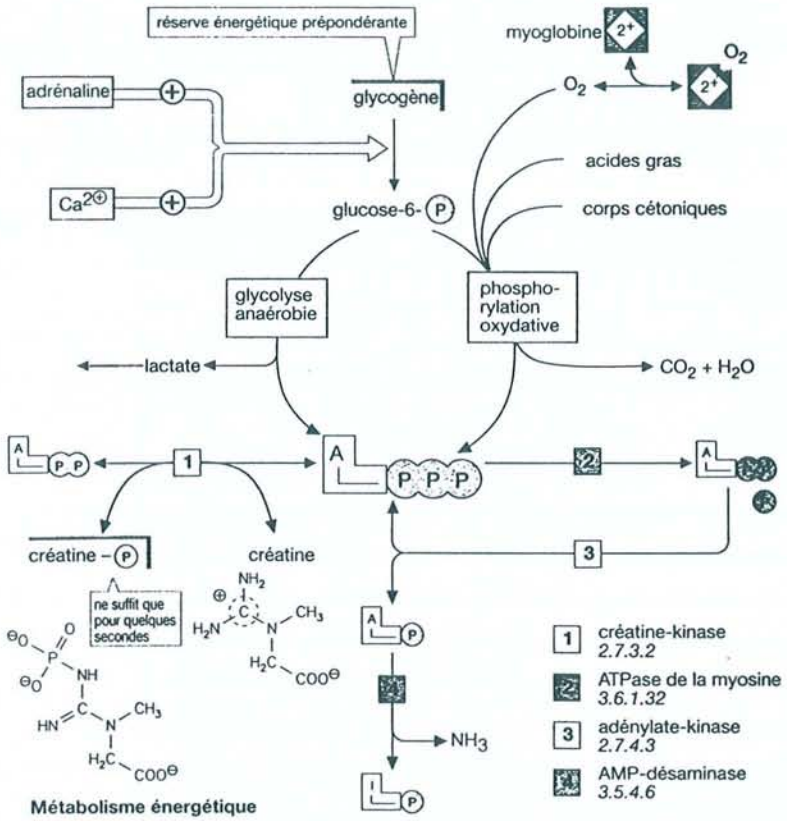


Figure N°4: Métabolisme énergétique
(Sibernagl S. et Despopoulos A., 1987)

$$\text{Créatine phosphate} + \text{ADP} \xrightleftharpoons{\text{Créatine kinase}} \text{Créatine} + \text{ATP}$$

Figure N°5: Hydrolyse de la créatine phosphate

a été mise en évidence dans les organes tels que l'aorte, le cerveau, le coeur, l'estomac, le foie, l'intestin, le muscle, le pancréas, le placenta, le poumons, la prostate, la rate, le rein, le sein, la thyroïde et utérus. Le pourcentage de chaque isoenzyme selon le tissu étudié varie, mais on peut retenir, à titre indicatif, la répartition proposée en 1984 par Steghens (tableau 1). L'intérêt de ces études est d'établir une spécificité des isoformes CKMM, CKMB et CKBB mesurées dans le sang circulant, quant à leurs origines tissulaires.

Dans le muscle de l'embryon humain jusqu'à l'âge de 6 mois, la créatine kinase existe sous la forme de CKBB. Les isoformes MB et MM n'apparaissent qu'à partir du sixième mois.

A l'âge adulte, dans les muscles squelettiques, l'isoforme MM devient prépondérante, la CKMB devenant minoritaire et l'isoforme BB n'étant plus détectable.

Par contre, il est possible d'obtenir un profil électrophorétique de type foetal de la créatine kinase des muscles de patient myopathe.

1.3. Rôles physiologiques de la CK

C' est une enzyme qui intervient dans le métabolisme énergétique de la cellule musculaire. L'énergie mécanique de la contraction musculaire provient directement de l'énergie chimique, sous forme d'ATP. Cependant l'ATP est d'une part, vite consommé et d'autre part, doit être régénéré aussitôt.

Trois processus peuvent être utilisés (Figure 4):

-la phosphorylation oxydative

-la glycolyse anaérobie

-et l'hydrolyse de la créatine phosphate

L'hydrolyse de la créatine phosphate est une source d'énergie rapidement disponible. Sous l'influence de la CK, de la créatine est libérée et une liaison entre l'ADP et un phosphate se crée ce qui génère de l'ATP. (Figure 5) Cependant, c'est une réaction qui est limitée dans le temps et elle est relayée par d'autres réactions.

La glycolyse anaérobie est la dégradation du glucose en acide lactique. Dans la physiologie musculaire, c'est une réaction qui s'intercale entre l'hydrolyse de la créatine phosphate et la phosphorylation oxydative. Elle peut néanmoins persister au cours

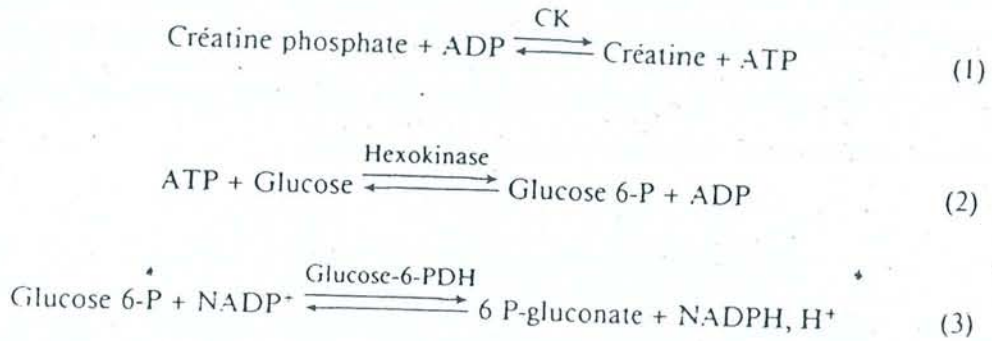


Figure N°6: les trois réactions succéssives du dosage de la CK totale

d'exercices musculaires importants, en cas de déficit en oxygène. Le rendement est faible, soit 3 moles d'ATP produites pour une mole de glucose dégradée.

La phosphorylation oxydative du glucose en présence d'oxygène correspondant a un haut rendement énergétique. C'est la réaction essentielle pour la production d'ATP, mais elle est relativement lente à se mettre en route; elle dépend de l'oxygène intra cellulaire donc du rythme cardiaque, respiratoire, de la réserve en myoglobine, et de l'extraction de l'oxygène du sang par la cellule.

2. Principales méthodes de mesure

2.1. Créatine kinase totale

La principale méthode utilisée est basée sur les recommandations de la International Federation of Clinical Chemistry (IFCC).

Il s'agit d'une méthode enzymatique basée sur la mesure de la vitesse d'apparition d'un produit ($NADPH^+/H^+$) d'une réaction indicatrice. Elle s'effectue en trois réactions successives:

1) La créatine kinase catalyse la réaction entre l'ADP et la créatine phosphate pour donner la créatine et de l'ATP.

2) L'ATP et le glucose réagissent en présence d'une hexokinase pour donner de l'ADP et de la D-glucose-6-phosphate.

3) La D-glucose-6-phosphate réagit avec de la NADP aidée d'une glucose-6-phosphate déshydrogénase pour finalement aboutir à de la D-gluconolactone-6-phosphate et de la $NADPH^+/H^+$. La gluconolactone-6-P instable donne alors le gluconate-6-P.(figure 6)

Les conditions de dosage ainsi que les améliorations de la méthode sont importantes à noter:

- le pH doit être maintenu à 7. Ce pH permet d'une part, d'optimiser l'hexokinase et d'autre part, de privilégier la formation de créatine et d' ADP.

- la température doit être standardisée, généralement le milieu réactionnel est à 25°C, 30°C ou 37°C.

- l'apport de Mg^{2+} est nécessaire à l'activation des kinases.

- l'apport de groupement thiol dans le milieu réactif améliore la stabilité du dosage.

-l'apport de l'AMPc qui a pour but d'inhiber la myokinase du plasma assure la spécificité du dosage.

La disparition du $NADP^+$ dans le milieu réactionnel est suivie en continu par une mesure spectrophotométrique à 340 nm de longueur d'onde. L'activité de la CK est exprimée en unités internationales (UI/l) et est calculée à partir de la variation d'absorbance du milieu réactionnel par unité de temps.

2.2. Isoformes de la CK

Il existe différentes méthodes de mesure des isoformes de la CK basées sur des principes analytiques différents tels que:

- l'électrophorèse
- la chromatographie par échange d'ions
- l'immunoinhibition
- l'immunoprécipitation
- les méthodes radioimmunologiques

Les méthodes les plus utilisées sont l'électrophorèse sur membrane d'acétate de cellulose ou sur gel d'agarose, ainsi que l'immunoinhibition avec des anticorps de chèvre anti-CK M humaine.

2.2.1. *Electrophorèse adaptée à la créatine kinase*

(Larue , 1996)(Ricchiuti et al., 1998)

De nombreuses techniques ont été décrites.

Par exemple, une méthode utilise comme support une membrane d'acétate de cellulose plongée dans un milieu alcalin à pH 8,6. Le volume de sérum déposé, généralement de 3 µl, est adapté aux concentrations totales en activité CK. La migration se fait à 200 volts pendant 30 minutes dans une chambre refroidie.

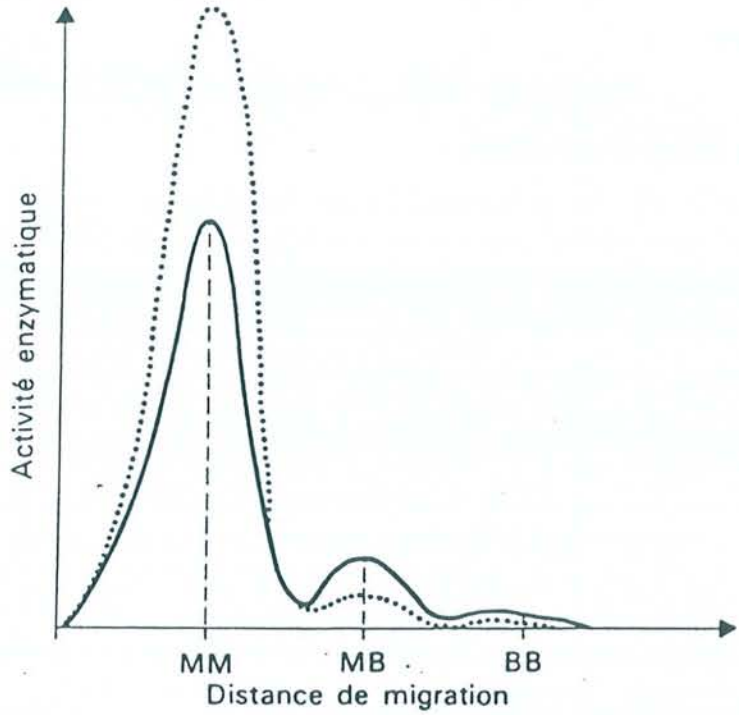


Figure N°7: Activité enzymatique de la CK sérique (Doré, 1994)

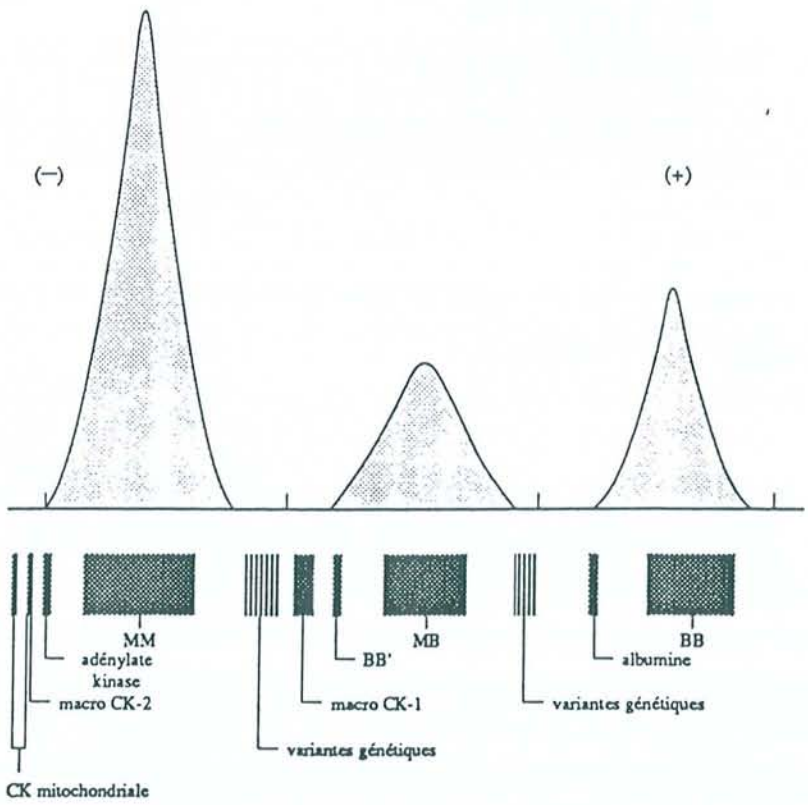


Figure N°8: Migration électrophorétique des isoformes de la CK et ses formes atypiques (Doré, 1994)

Une autre technique facilement utilisée est une migration sur gel d'agarose, permettant un dépôt important, jusqu'à 20 µl de sérum. Elle se fait dans un milieu refroidi, avec un tampon alcalin à pH 8.2 et un courant de 200 volts pendant 20 à 40 minutes. Le tampon alcalin permet d'obtenir des protéines à charge globale négative pouvant migrer vers l'anode dans un champ électrique . Cette migration est d'autant plus rapide que le pH du milieu est éloigné du point isoélectrique de la protéine concernée. Dans ces conditions, la CK migre vers l'anode.

Ces techniques permettent de séparer les isoformes MM, MB et BB de la CK. L'isoforme MM présente la migration la plus lente, l'isoforme BB la migration la plus rapide, l'isoforme MB une migration intermédiaire .

Cette technique permet également de distinguer les deux types de macroCK et l'adénylate cyclase qui provoquent un épaulement du pic de CKMB. La macroCK de type 1 migre entre la CKMM et la CKMB, quant à la macroCK de type 2, elle présente une migration vers la cathode. L'activité enzymatique est révélée par une méthode colorimétrique utilisant des sels de tétrazolium. (Figure 7) (Figure 8)

D'autres techniques électrophorétiques sont décrites pour des études plus fines des isoformes de la CK.

Par exemple, une électrophorèse sur gel de polyacrylamide peut être employée. Elle se fait à une température de 4°C pendant 5 heures avec un champ électrique de 400 volts. On dépose sur le support 20 µl de sérum(Stein et Decker, 1989)

La migration se fait avec une meilleure résolution. On peut alors séparer les fractions telles que MB1, MB2, MM1, MM2, MM3. (cf. Figure 3)

Les techniques de focalisation isoelectrique permettent également de séparer les isoformes de CKMM et CKMB(Stein et Bohner , 1982).

L'avantage de l'électrophorèse réside dans sa spécificité mais elle présente comme inconvénient d'être peu compatible avec l'urgence, bien qu'il existe un automate utilisant cette technique et permettant d'avoir un résultat en 45 minutes. (CARDIOREP-Helena laboratoire)

-Isoformes présentes dans le sérum: MM, MB, (BB)

-Inhibition de l'activité enzymatique de la sous-unité M par un anticorps anti M: ~~MM~~, ~~MB~~, (BB)

-Mesure de l'activité résiduelle de la sous-unité B (Bact.): B, (BB)

-Résultats de l'activité enzymatique de l'isoforme MB (en UI/L): Bact x 2

Figure N°9: dosage de la CKMB par immunoinhibition

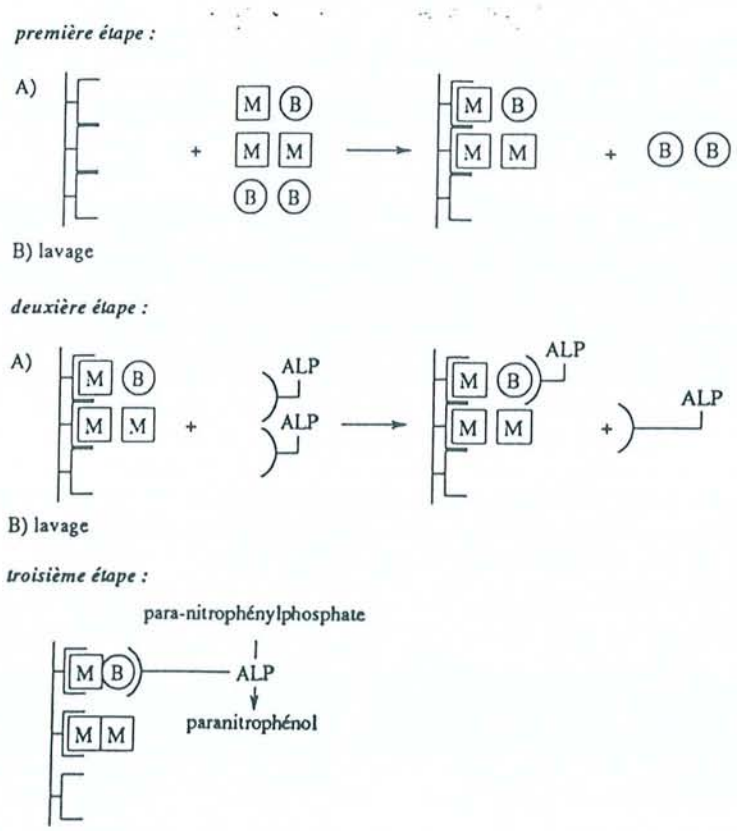


Figure N°10: mesure de la masse de la CKMB (Doré, 1994)

2.2.2. *Par technique immunologique adaptée à la créatine kinase*

a) Mesure de l'activité de la CKMB

Il s'agit d'une méthode d'immunoinhibition qui est facilement automatisable et qui est très largement utilisée en routine. Elle repose sur la mesure de l'activité catalytique résiduelle de la CK après inhibition de l'activité liée à la sous-unité M au moyen d'un anticorps anti M. Cette technique se fait en plusieurs étapes.

1)mesure de l'activité CK totale du sérum

2)mesure de l'activité CK du surnageant après action de l'anticorps anti M L'activité mesurée correspond à celle de la CKBB et à celle de la sous-unité B constituant l'isoenzyme MB. (Figure 9)

Cette technique a l'avantage d'être rapide et automatisable mais présente l'inconvénient de ne pas être spécifique. En effet, on dose en même temps l'activité de l'adenyl kinase (présent dans le sérum en cas d'hémolyse), des macroCK et des CKBB.

b) Dosage pondéral de la CKMB

Grâce à des méthodes immunologiques utilisants 2 anticorps, ce dosage est possible. On a le choix parmi de nombreux kits sur le marché, présentant chacun des variantes. En général, le dosage se fait sur un support solide. Des anticorps anti M sont fixés au support. La sous unité M est alors fixée par les anticorps au support. Un conjugué étant de spécificité anti B et marqué d'une activité enzymatique se fixe ensuite sur la CKMB retenue par le support. Le substrat révèle ensuite la CKMB fixée sur le support. Les résultats sont exprimés en nanogramme par mililitre.

Ce dosage est plus performant en terme de spécificité car il ne tient pas compte des macro CK et des activités adénylkinase et myokinase (Figure 10)

2.2.3. *La chromatographie adaptée à la créatine kinase*

C'est une technique qui concerne principalement la recherche.

On utilise la chromatographie par échange d'ions , bien adaptée aux protéines et aux enzymes du sérum.

La méthode la plus couramment répandue utilise des minicolonnes qui utilise comme phase stationnaire une résine DEAE(diéthylamino-éthyl Sépharose) associant la propriété de gel filtration à celle d'échange d'ions. La phase liquide est un tampon Tris (HCL 50 mM à pH 7,5). L'étape d'élution est faite avec des solutions de NaCl aux concentrations croissantes de 30 à 300 mM. Cette technique nécessite un dépôt de 250 µl de sérum . Les fractions éluées sont mesurées en concentration catalytique de CK à l'aide des techniques utilisées pour la mesure de l'activité totale dans le sérum. Il faut noter que de nombreuses autres variantes existent dans le commerce améliorant les résultats.

2.3. Sur le plan pratique

La méthode préconisée par la Fédération Internationale de Chimie Clinique pour le dosage de la CK s'impose dans pratiquement toutes les parties analytiques des automates et semi-automates.

L'activité de la CKMB par méthode d'immunoinhibition largement développée dans les années 1980-1990 tend à disparaître, du fait du manque de spécificité au profit du dosage pondéral de la CKMB de sensibilité et de spécificité supérieures.

Les séparations par des techniques électrophorétiques des isoformes de la CK qui présentent un intérêt au plan clinique, restent du ressort des laboratoires spécialisés.

Quant aux autres techniques, elles sont soit abandonnées car inadaptées à la pratique biologique de routine (immunoprécipitation), soit réservées à des laboratoires de recherche (isofocalisation électrique).

3. Les variations préanalytiques de la CK

3.1. Facteurs de variation liés au sujet chez l'adulte

Il est recommandé de prélever un patient allongé. L'exercice physique est à éviter pendant les trois jours précédant le prélèvement, les valeurs pouvant être multipliées par 2 ou 3. Les repas ne modifient pas les valeurs physiologiques.

3.2. Facteurs de variation liés au prélèvement

Tout sérum hémolysé est à interpréter avec prudence. En effet, une hémolyse aboutit à la libération d'adénylkinase érythrocytaire ce qui majore le résultat du dosage de l'activité créatine kinase du sérum. (garrot prolongé, prélèvement difficile)Une correction des taux est envisageable grâce à des algorythmes établis par certains auteurs (Schroeder et al., 1995) dans le cas de la mesure de l'activité enzymatique.

3.3. Facteurs de variation liés à l'échantillon

Le prélèvement sur tube sec sans anticoagulant est préféré car le fluorure et l'iodoacétate peuvent favoriser une hémolyse alors que le citrate trisodique et l'héparinate de lithium peuvent inhiber l'activité CK. Les prélèvements doivent être conservés à l'abri de la lumière et des agents oxydants.

Le prélèvement doit être rapidement centrifugé pour limiter le temps de contact du sérum avec le caillot. Elle est réalisé à + 4°C, à 1000 g pendant 15 minutes, conditions qui ne provoquent pas d'hémolyse de l'échantillon.

La durée de la conservation de l'échantillon est variable selon la température de stockage. A température ambiante, la CK totale et la CKMB peuvent être dosées jusqu'à 24 heures après le prélèvement, la CKMM peut être dosée jusqu'à 48 heures

après le prélèvement alors que la CKBB ne se conserve pas à température ambiante. A + 4°C, l'activité CK totale est stable au cours des 10 jours qui suivent le prélèvement, la CKMM pendant 2 semaines, la CKMB pendant 5 jours et la CKBB pendant 48 heures. Conservé à -20°C, l'activité CK totale est stable pendant au moins 10 jours et la CKMM pendant un mois. Les dosages de la CKMB et de la CKBB sont très rapidement erronés lorsque le prélèvement est congelé.

3.4. Facteurs de variation liés au spécimen

L'hyperbilirubinémie n'a aucune influence sur le dosage de la CK totale et de ses isoformes.

L'hyperlipémie peut modifier les résultats sur certains appareils de dosage ce qui suggère une grande vigilance de la part du biologiste vis-à-vis de son appareillage. La clarification est à proscrire. Par exemple, le Liposol* à 3/1 augmente l'activité CK de 10%.

L'hémolyse interfère de manière positive avec le dosage et doit être donc évitée. Une dilution, si elle est nécessaire, doit être faite juste avant le dosage.

4. Les valeurs normales

Les valeurs normales de la CK sérique dépendent de la technique employée, de ses conditions d'application (à différente température) et de l'âge du patient.

L'activité CK totale est mesurée en unité internationale par litre (1 UI/l correspondant à la transformation d'une µmol d'un substrat par minute) ou en Katal par litre (1 kat/L correspondant à la transformation d'une mole de substrat par seconde). Il faut noter que l'unité internationale par litre est l'unité conventionnelle et devrait être maintenant remplacée par l'unité du système international qui est le Katal/litre. La conversion des valeurs se fait facilement grâce à un facteur multiplicatif: Pour passer d'un µkat/l à une UI/l, il faut multiplier la valeur par 60, alors que dans l'autre sens, le facteur multiplicatif est de 0,0167.

Chez l'adulte normal, la proportion de CKMB doit être inférieure à 8% de la

Tableau N°2: référence de la CK totale dans la littérature

AGE DU PATIENT	*TECHNIQUE A 25°C EN UI/L*	TECHNIQUE A 25°C EN µKat/L	*TECHNIQUE A 30°C ENUI/L*	TECHNIQUE A 30°C EN µKat/L	*TECHNIQUE A 37°C EN UI/L*	TECHNIQUE A 37C EN µKat/L
technique optimisé recommandée par la DGKC de 1972						
1° jour	*<300*	<5.00	*<456*	<7.60	*<712*	<11.9
De 2 à 5 jours	*<274*	<4.55	*<417*	<6.95	*<652*	<10.9
De 6 jours à 6 mois	*<124*	<2.05	*<189*	<3.15	*<295*	<4.90
De 7 mois à12 mois	*<85*	<1.40	*<130*	<2.15	*<203*	<3.40
De 1 an à 3 ans	*<96*	<1.60	*<146*	<2.45	*<228*	<3.80
De 4ans à 6 ans	*<63*	<1.05	*<95*	<1.60	*<149*	<2.50
De 7 ans à 12 ans chez la fille	*<65*	<1.10	*<99*	<1.65	*<154*	<2.55
De 7 ans à 12 ans chez le garçon	*<104*	<1.75	*<158*	<2.65	*<247*	<4.10
De 13 ans à 17 ans chez la fille	*<52*	<0.85	*<79*	<1.30	*<123*	<2.05
De 13 ans à 17 ans chez le garçon	*<113*	<1.90	*<173*	<2.90	*<270*	<4.50
Femme Adulte	*<70*	<1.15	*<107*	<1.80	*<167*	<2.80
Homme Adulte	*<80*	<1.35	*<122*	<2.05	*<190*	<3.15
technique standardisée par la DGKC en 1994						
Femme Adulte					<145	<2.40
Homme Adulte					<170	<2.85

CK totale. La proportion de CKMM dans le sérum est majoritaire, la CKBB étant présente sous forme de trace. Le rapport CKMB2/CKMB1 doit être inférieur à 1 (Lavoinne et al., 1997). La CKMB en dosage pondéral chez l'adulte doit être inférieure à 8 µg/l.

4.1. La CK totale

Des valeurs de référence de la CK totale dans le sérum ont été établies par l'IFCC et la DGKC. (Chemnitz et al, 1979; Fischbach et Zawta, 1992; Lorentz et al, 1995) (tableau 2)

La CK est un paramètre biologique qui varie avec l'âge (Mathieu, 1991). Ainsi, les valeurs observées chez le nouveau-né sont jusqu'à dix fois plus élevées que celles de l'adulte sain. Elles sont extrêmement variables car liées aux conditions d'accouchement. Quand les valeurs sont élevées, elles persistent jusqu'à environ 1 semaine de vie pour diminuer ensuite. Les valeurs de référence de la CK totale tendent à s'approcher de celles de l'adulte dans un délai plus ou moins long entre la 6éme et la dixième semaine de le vie. Cela est dû à un taux important et prédominant de la fraction CKMM (Amato et al., 1992). Parallèlement, chez la femme après la délivrance, les taux de CK et CKMB augmentent et cette augmentation dépend de la durée du travail, du type de délivrance, de la parité de la mère et du poids de naissance de l'enfant.

Il semble exister une corrélation positive entre les valeurs de CK mesurées au cordon ombilical et l'âge gestationnel. Ces valeurs ont été établies à partir d'une population de 76 foetus sains prélevés à différents moments de gestation (Legras et al., 1990). La CK peut se placer dans une fourchette large allant de 0 UI/l à 400 UI/l. Il a été noté une différence significative du taux de CK de foetus sains au cours de l'évolution dans le sens d'une augmentation des valeurs. Les valeurs entre la 20ème et la 24ème semaine d'aménorrhée se concentrent autour de 50 UI/L et elles se situent autour de 150 UI/L entre la 34ème et la 40ème semaine d'aménorrhée (graphique représentant la progression du taux de CK chez les foetus sains par rapport à l'âge de gestation). Selon Fusae en 1988, la valeur moyenne de la CK totale de 118 nouveau-nés

normaux à terme est de 529 UI/l. Cependant, selon Abe en 1992, les valeurs de référence de la CK sur le sang de cordon d'un foetus sain à terme sont plus modérées soit 209 ± 99 UI/L après l'expulsion.

Pendant la période gravide, le taux de CK totale d'une femme est inférieur de 20 à 50% par rapport à une femme non gravide de même âge. Le taux est plus bas pendant le 2ème trimestre de la grossesse chez la femme que pendant le reste de sa grossesse.

On note également chez la femme, après la ménopause, une légère augmentation des valeurs, soit 50% en plus par rapport aux femmes en activité génitale. La jeune fille non pubère présente des taux de CK totale 15% plus élevées que celle pubère.

Le morphotype, l'alimentation et la prise d'alcool ne modifient pas les valeurs.

Des études américaines ont pu noter une différence des CK selon l'origine geographique de l'individu:

- La population de type africain présente des taux de CK 50% plus élevés que la population de type caucasien
- les hommes hispaniques présentent 30% de CK en plus par rapport à leurs homologues caucasiens, 10% pour les femmes.

4.2. Les isoformes de la CK

En étudiant l'activité de la CK et le profil de ses isoformes chez des enfants de 2 jours à 18 mois en bonne santé, les valeurs de référence semblent être calquées sur celles de l'adulte sain.(Abe et al., 1992)

Les pourcentages des isoenzymes, CKMM, CKMB et CKBB sont présentés dans le tableau qui suit:

	Valeurs (en % d'activité enzymatique)	**Ecart-type (en %)**
CKMM	86,7	6,2
CKMB	5,1	2,8
CKBB	8,1	5,4

Tableau N°3: référence en néonatalogie de la CKMB, d'après Panteghini et al., 1995

Age gestationnel en semaines d'aménorrhées	**26 à28**	**29 à 31**	**32 à 35**	**A terme**
nombre d'enfants	8	9	13	14
CKMB en µg/l	6+/-4	8.1+/-6.6	12.5+/-9.6	14.1+/-6.5
CKMB en % d'activité	4.7+/-2.5	5.2+/-3.1	5+/-2.3	4.2+/-1.5

Ces valeurs ne peuvent probablement pas être validées dans le cas du foetus *in utero*, car l'expulsion est un acte traumatique pour le foetus. Cependant, elles restent jusqu'à présent à la base du raisonnement, faute d'études plus pertinentes. De plus, le taux de CK, CKMM, CKMB, CKBB semble être corrélé au poids de naissance (Abe et al., 1992).

En 1995, Panteghini et al. a obtenu sur 46 enfants à la naissance des valeurs de référence des CK et des CKMB masse sur sang de cordon. Ces valeurs de référence sont présentées dans le tableau 3.

On peut noter également une élévation de la fraction CKBB dans les sérums du nouveau-né pendant les 24 premières heures de vie après accouchement difficile sans souffrance cérébrale. 25% des enfants nés par voie vaginale normale auraient une augmentation de la CKBB alors que pour les enfants nés par césarienne, les valeurs restent dans les limites normales de l'adulte. Le taux de CKBB se normalise (dans les valeurs de référence de l'adulte) 24 heures après la naissance. (Amato et al., 1992)

5. Interprétation des CK

L'élément le plus souvent attendu d'une prescription de CK est la confirmation d'une lyse musculaire, notamment cardiaque.

5.1. Dans le diagnostic de l'infarctus du myocarde (IDM)

Une augmentation des CK est mise en évidence dès la deuxième heure suivant l'apparition des douleurs. Elle est essentiellement constituée des isoformes CKMM et CKMB, ces dernières étant révélatrices de la constitution d'un infarctus du myocarde (IDM).

L'importance de l'activité CK dans le sérum n'est pas corrélée avec l'étendue de la lésion. Cependant, le dosage de la CK permet de dater l'IDM. Le délai d'apparition est de six à huit heures et la valeur maximale est atteinte entre la neuvième et la dix huitième heure. Le retour aux valeurs physiologiques se fait après la soixante dixième heure.

Le dosage de l'activité CKMB est préférable à celui de l'activité CK totale car il permet de diagnostiquer plus rapidement et plus spécifiquement un IDM. Un taux supérieur à 24 UI/l avec un rapport CKMB/CK total supérieur à 6% est en faveur d'un IDM. Les performances de ce type de dosage se sont accrues avec l'apparition du dosage pondéral de la CKMB dont le seuil de décision est entre 5 et 10 µg/l selon les études prises en compte. La CKMB par un dosage pondéral est caractérisée par un délai d'apparition de 3 à 8 heures, par un pic sérique entre 10 et 24 Heures et un retour à la normale au bout de 3 à 4 jours (Philippon, 1997). Cette technique de dosage présente l'avantage de détecter une augmentation plus précocement, tout en étant plus spécifique de l'isoforme CKMB que le dosage de l'activité enzymatique. La sensibilité diagnostique du dosage pondéral de la CKMB est aussi deux fois supérieure à celui de l'activité enzymatique au cours de la phase précoce de l'installation de l'IDM. (Schroeder , 1999)

Le rapport des isoformes CKMB1/CKM2 constitue à l'heure actuelle le marqueur le plus précoce et le plus spécifique de l'IDM tout en ayant une bonne sensibilité. Une augmentation de ce rapport est observée dès les premières minutes. Sa valeur la plus élevée, de l'ordre de 10, précède de 6 heures le pic sérique de la mesure pondéral de CKMB (Lavoine, 1997). Le rapport diminue ensuite progressivement pour atteindre 1 vers la douzième heure de la lésion et 0,1 vers la tente deuxième heure (Puelo et al., 1994) et le retour à la normale se fait plus rapidement en 48 heures.

Dans les syndromes coronariens aiguës, le taux des CK totales ne monte pas, ainsi que dans le cas d'angine de poitrine.

5.2. Dans les maladies musculaires diverses et autres

L'élévation du taux de CK est particulièrement important dans les cas de myopathies dystrophiques, comme dans la maladie de Duchenne.

Dans ce cas, la CK a un intérêt dans le dépistage de femmes hétérozygotes porteuses de la maladie, qui présentent une augmentation de l'activité CK totale dans 50 à 80% des cas, à la différence des autres enzymes musculaires (la LDH, l'Aldolase) dont l'activité sérique est normale. Les valeurs de la CK totale peuvent être multipliées par 10 à 100 sans pathologie apparente. Le dosage de la CK peut être également

pratiqué pour le dépistage systématique néonatal de la myopathie de Duchenne.

De même, par une ponction du sang foetal, il a été trouvé un taux élevé de CK chez le foetus porteur de la dystrophie de Duchenne. Cependant, cette façon de dépister précocement la pathologie est dépassée en performance par l'identification génétique de la myopathie.

L'élévation des CK est observée dans les rhabdomyolyses chez les patients alités, des patients présentant un traumatisme aigu sévère de type écrasement ou brûlures étendues. Elle est également observée dans les myosites inflammatoires aiguës ou chroniques, les dermatomyosites avec une large prédominance de l'isoforme CKMM.

Il faut noter que des maladies très éloignées des atteintes musculaires et cardiaques peuvent être à l'origine d'une augmentation des CK :

Certaines pathologies cancéreuses s'accompagnent d'une élévation du taux des CK et CKBB. Ce sont les tumeurs cérébrales, musculaires, de la prostate et de la vessie.

Enfin, diverses maladie s'accompagnant de syndromes oedémateux sont à l'origine d'une augmentation de la CK et CKMM.

La présence de macroCK de type 1 peut exister sans aucune corrélation avec un état pathologique particulier, généralement chez les personnes âgées alors que la présence de macroCK de type 2 est détectée dans le sérum de sujets atteints de certaines néoplasies avancées où elle pourrait être un indice de gravité.(Stein et Decker, 1989)

5.3. Chez l'enfant

L'infarctus du myocarde est une maladie extrêmement rare chez l'enfant.

Il a été cependant établi que la CK et l' isoforme CKMB peuvent être utilisées pour mettre en évidence des myocardites aiguës ou pour évaluer l'importance des lésions cardiaques au cours d'une intervention chirurgicale. De même, dans le cadre de la maladie de Kawasaki et de Marfan, le dosage des CK peut confirmer le diagnostic de réels infarctus du myocarde.

Le taux sérique de l'activité CK et de ses isoformes chez le nouveau-né est indépendant de celui de sa mère, ce qui a permis d'envisager de nouvelles perspectives

Tableau N°4: corrélation entre le score d'Apgar et les CK et CKMM

Score de Apgar	CK en UI/L	CKMM en UI/l
10 à 7	208+/-104	183+/-92
6 à 4	172+/-74	145+/-73
3 à 0	104+/-83	92+/-55

pour l'utilisation de ces marqueurs (Chopin et al., 1980). Ayant constaté de grandes variations du taux des CK chez les nouveau-nés, cette enzyme a été étudiée par rapport à une souffrance périnatale.

Chez les nouveau-nés de bas poids corporel, chez les prématurés ou à la suite d'un travail long, il a été noté un taux plus bas de CK et de CKMM associé à une proportion plus élevée de la CKBB dans le sang de cordon ombilical par rapport à un enfant de maturité normale. Il a été établi, de plus, que la CK et l' isoforme CKBB permettent d'évaluer, si elles sont élevées, une nécrose cellulaire d'origine cérébrale chez le nouveau-né (Chopin et al., 1980).

Chez les nouveau-nés qui présentent une cardiopathie, il a été constaté une élévation significative de la CK et de la CKMM contrastant avec la CKMB et la CKBB identique à celles des nouveau-nés en bonne santé. Cela amène certains auteurs à suggérer de ne pas interpréter les taux de CK et CKMB isolement chez le nouveau-nés dans le cas de pathologie cardiaque néonatale.(Sutton et al., 1980)

Le taux de CK et de CKMM de sérums prélevés sur le cordon à la naissance est corrélé au score de Apgar.(tableau 4 : de corrélation du score d'Apgar avec la moyenne des taux de CK et CKMM) Plus le score de Apgar est bas, plus le taux de CK et CKMM est bas (Chemnitz et al., 1979) et plus l'activité CKBB est proportionnellement augmentée. (Abe et al., 1992). La CK et ses isoenzymes semblent donc être un bon indicateur de la sévérité de la souffrance néonatale *a posteriori* et du degré de maturité.

Une élévation du taux de CKMB et de CKBB dans le sang de cordon ombilical entre 36 et 40 semaines d'aménorrhée a été mise en évidence chez des enfants présentant une souffrance foetale diagnostiquée sur la base de la gazométrie.

L'étude présentée a pour but d'analyser les corrélations clinico-biologiques au niveau du sang de foetus prélevé *in utero* exclusivement.

ISOENZYMES DE LA LDH

	LDH1	LDH2	LDH3	LDH4	LDH5
Structure tétramérique	H_4	H_3 M	H_2 M_2	H M_3	M_4
Migration électrophorétique	α1	α2	β	γ	γ
% usuel	20 à 30	25 à 35	15 à 30	5 à 12	2 à 10
Prédominance tissulaire	Cœur, rein érythrocytes, muscles				
		Poumon, leucocytes			
			Lymphocytes		
				Foie, muscles	

Figure N°11 : Répartition des isoformes de la LDH (CERBA, 1995)

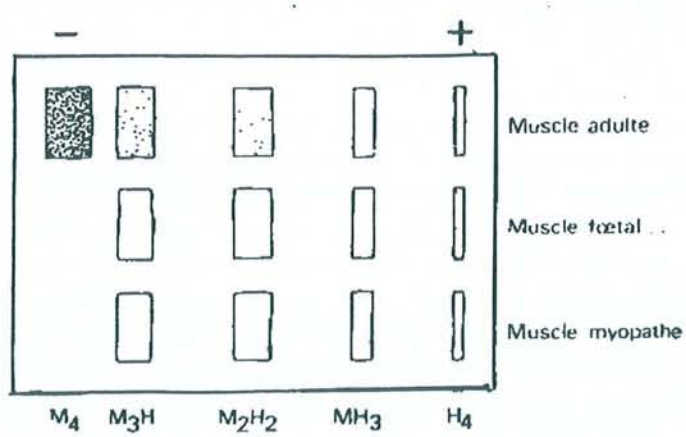


Figure N°12 : Répartition des isoformes de la LDH dans trois muscles particuliers (Marker, 1994)

II. LES LACTATES DESHYDROGENASES

1. Structure de l'enzyme, localisation

Les lactates déshydrogénases sont présentes dans les microorganismes, les végétaux, de nombreux invertébrés et tous les vertébrés.

Chez l'homme, elle est présente dans de nombreux organes tels que les reins, le coeur, les muscles, le pancréas, la rate, le foie, les poumons et le placenta. Elles sont également présentes dans les cellules sanguines, le plasma, l'urine et le liquide céphalorachidien. Ce sont donc des enzymes ubiquitaires.

Les enzymes lactate déshydrogénase (LDH) sont du type quaternaire. Elles sont formées par l'association de quatre sous-unités. Il existe deux types de sous-unité génétiquement distinctes M et H d'un poids moléculaire d'environ 35000 Daltons et qui diffèrent l'une de l'autre par leur composition en acides aminés, par leurs propriétés physiques, et immunologiques ainsi que leurs caractéristiques cinétiques (Schiele, 1992). Les propriétés chimiques de ces sous-unités expliqueraient leur distribution dans les différents tissus. En effet, les sous-unités M sont plus abondantes dans les tissus susceptibles d'être exposés à une anaérobie transitoire et qui produisent des quantités importantes d'acide lactique comme les muscles squelettiques. Les sous-unités H, quant à elles, sont abondantes dans les tissus où l'apport en oxygène est relativement constant et qui peuvent consommer du lactate comme le coeur ou le cerveau. (Siest et al., 1990)

L'association de ces sous-unités en tétramère donne naissance à cinq isoenzymes qui sont numérotées selon leur mobilité électrophorétique de la cathode vers l'anode: LDH1 (4 sous-unités H), LDH2 (3 sous-unités H et 1 sous-unité M), LDH3 (2 sous-unités H et 2 sous-unités M), LDH4 (1 sous-unité H et 3 sous-unités M), LDH5 (4 sous-unités M).

Les LDH 1 et 2 prédominent dans le coeur, les reins et les globules rouges; les LDH 4 et 5 sont majoritaires dans le foie, les muscles squelettiques et dans de nombreux tissus néoplasiques; enfin, l'isoforme 3 est la plus abondante dans les plaquettes, le tissu lymphoïde, le poumon, et également les tissus néoplasiques (Vassault, 1983)(Figure 11).

Dans le muscle adulte sain, les 5 isoformes sont présentes, la plus importante est

Figure N°13 : Dosage de l'αhydroxybutyrate déshydrogénase

la LDH 4.

Dans le muscle foetal, la LDH5 est en phase de constitution et il y a prédominance des tétramères renfermant la sous-unité H (LDH 1, 2, 3 et 4). Un profil électrophorétique très voisin de celui du muscle foetal est trouvé dans le muscle lors de la myopathie (Figure 12). (Marker, 1994)

Dans le coeur foetal, l'isoforme LDH 1 prédomine. Une étude a montré une élévation progressive de l'activité enzymatique entre la 20éme et la 38éme semaine de vie foetale jusqu'à la valeur de référence à la naissance (Legras et al., 1990).

La quantité de LDH dans le sérum dépend de sa vitesse de sortie des tissus et de son élimination du sang circulant. Cette vitesse d'élimination est différente d'une enzyme à l'autre. Chez l'adulte, la demi-vie de la LDH 1 dans le sérum est de 113 ± 60 heures tandis que celle de la LDH 5 est de 10 ± 2 heures (Schmidt, 1978).

Les différentes isoformes de la LDH présentent des propriétés physicochimiques différentes entre elles:

Il existe une différence de thermostabilité entre les différentes isoformes. En effet, un chauffage à 57°C pendant 30 minutes inactive complètement la fraction LDH5 alors que la fraction LDH 1 est encore stable à 65°C. Il est donc simple de déterminer par différence l'isoforme cardiaque (LDH1) thermostable à 65°C, la LDH 5 thermolabile à 57°C ainsi que les LDH 2, 3 et 4.

L'adsorption sélective sur une résine échangeuse d'ions de type DEAE permet d'évaluer l'importance relative des fractions LDH 1 et 2. Les deux formes sont adsorbées sur la résine alors que les autres isoformes restent en phase liquide. La fraction fixée représente environ 55% de l'activité globale, mais peut descendre à 30% dans les hépatites et atteindre 80% dans l'infarctus du myocarde.

L'affinité pour le pyruvate et certains de ses analogues varie d'une isoforme à l'autre. Ce fait a reçu une application en chimie clinique. Les LDH 1 et 2 ont une affinité élevée pour les 2-oxobutyrate, au contraire des LDH 4 et 5. L'emploi du 2-oxobutyrate comme substrat sert à déterminer une action αHBDH (αhydroxybutyrate déshydrogénase) spécifique des formes 1 et 2 de la LDH. La réaction est schématisée dans la figure 13.

Un index αHBDH/LDH est calculé. Il est compris entre 0,60 et 0,80 chez un sujet sain. Ce rapport est abaissé dans les atteintes hépatiques et légèrement augmenté

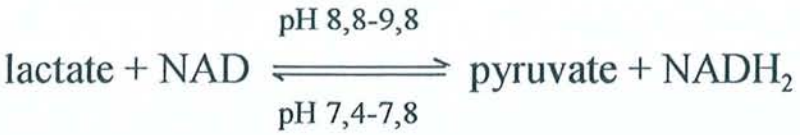


Figure N°14 : Activité enzymatique de la LDH (au sain de la cellule et exploitée par les méthodes de dosage)

dans l'infarctus du myocarde.

2. Rôle physiologique

La LDH joue un rôle important dans le métabolisme énergétique au sein de la cellule. Pour que la glycolyse continue dans la cellule, le NAD^+ réduit en $NADH_2$ doit être recyclé, pour jouer son rôle d'accepteur de proton.

En présence d'oxygène, les équivalents réducteurs ($NADH_2$) sont transportés dans les mitochondries pour y être réoxydés. Ce processus est bloqué en anaérobiose.

Il existe deux procédés qui assurent le renouvellement du NAD^+ en absence d'oxygène, la fermentation homolactique et la fermentation alcoolique. Cette dernière n'existe que chez quelques microorganismes; chez l'homme, seule la fermentation homolactique est présente.

En anaérobiose, le NAD^+ est renouvelé grâce à la réduction du pyruvate en lactate. (Figure 14)

La fermentation homolactique qui pour certains auteurs fait partie intégrante de la glycolyse intervient en cas d'activité intense de la cellule (Voet D. et J.G., 1985). Quand la demande en ATP est importante et quand l'oxygène se fait rare, la LDH catalyse l'oxydation du $NADH_2$ en NAD^+ et le pyruvate se transforme en lactate:

$$\text{pyruvate} + NADH_2 \rightleftarrows \text{lactate} + NAD^+$$

C'est une réaction réversible. La LDH1 catalyse davantage la réaction de transformation du lactate en pyruvate dans les conditions de pH physiologique. Elle est inhibée de façon allostérique par des concentrations élevées de pyruvate. Par contre, la LDH5 favorise le sens de réaction pyruvate vers le lactate et n'est pas inhibée par l'accumulation de pyruvate. Les autres isoformes ont des propriétés intermédiaires.

Ainsi, il a été suggéré, non sans controverse, que la LDH de type H (LDH1, 2) est mieux adaptée pour assurer l'oxydation du lactate en pyruvate, tandis que la LDH de type M (LDH 4 et 5) est plus adaptée pour catalyser la réaction inverse en période d'hypoxie. (Voet, 1990b)

3.Méthodes de dosage

3.1. Lactate déshydrogénase

Le dosage est nommé au singulier ou au pluriel, soit les LDH, soit la LDH totale et sont analytiquement équivalents.

La LDH , appelée également L-lactate NAD^+ oxydoréductase est généralement déterminée par une méthode spectrophotométrique à 340 nm basée sur l'absorption du $NADH_2$, cofacteur de la LDH. La réaction classiquement utilisée est détaillée sur la Figure N°13. La LDH catalyse la réaction transformant le lactate en pyruvate.

Cette réaction présente différentes caractéristiques:

Le sens de réaction va dépendre du pH du milieu réactionnel. A pH 7,5, l'équilibre réactionnel est en faveur de la formation de lactate alors qu'à pH 9, il va favoriser la formation de pyruvate. Les méthodes de dosage les plus largement employées utilisent le sens pyruvate vers le lactate parce qu'il permet une vitesse de réaction la plus élevée.

Le pyruvate, qui peut être présent en concentration importante dans le milieu réactionnel, peut inhiber la réaction de façon plus ou moins prononcée suivant l'isoforme majoritaire de la LDH en présence. Il est donc nécessaire d'avoir dans le milieu réactionnel une concentration adaptée de pyruvate.

-Le $NADH_2$ est ajouté à une concentration supérieure à 10 fois la valeur du Km de l'enzyme chaque fois que cela est possible. Un inconvénient est dû au fait que les solutions de $NADH_2$ sont peu stables et que certains produits de dégradation du $NADH_2$ peuvent inhiber la LDH. La stabilité de ces produits a pu être améliorée par une conservation à l'abri de la lumière en tampon Tris.

Ces conditions étant respectées, toutes les isoformes de la LDH réagissent de la même façon quelle que soit la température de mesure. (Siest, 1990)

Il existe trois types de méthodes de mesure de l'activité de la LDH basées sur le suivi de la disparition du $NADH_2$ à 340 nm.

La méthode recommandée par la Société Allemande de chimie Clinique en 1972 utilise un tampon phosphate à pH 7.5, des concentration de pyruvate et $NADH_2$ respectivement de 0.6 et 10.8 mmol/l et une température réactionnelle de 25°C.

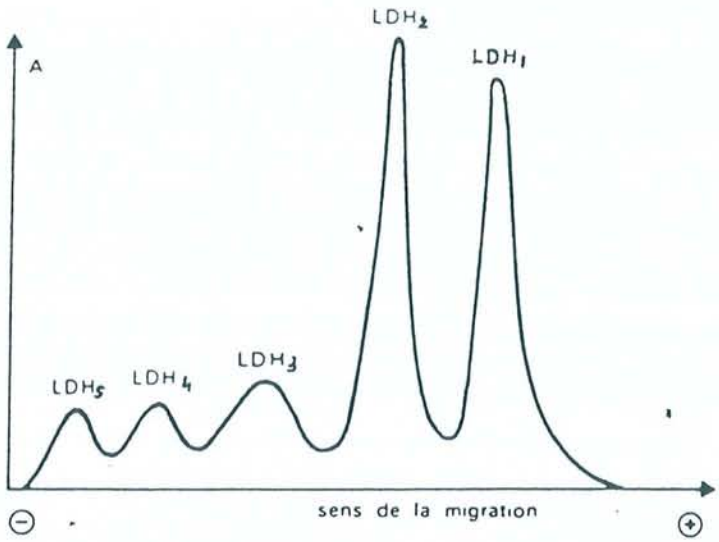


Figure N°15: Electrophorèse normale de la LDH

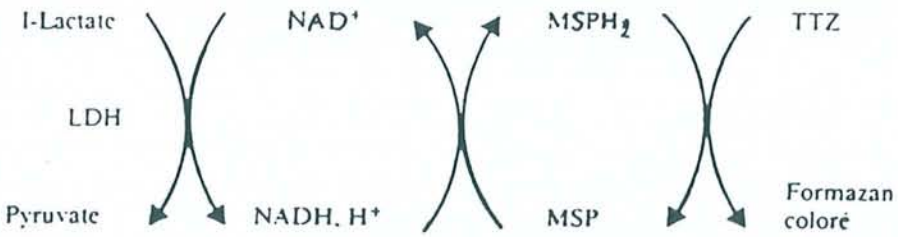


Figure N°16: Révélation colorée de la LDH sur le gel de migration

Les méthodes recommandées par la Société Française de Biologie Clinique (SFBC) et par le Société Scandinave de Chimie Clinique (SSCC) utilisent un tampon Tris à un pH respectivement de 7,2 et 7,4, des concentration de pyruvate de 1,6 et 1,2 mmol/l et des concentration de $NADH_2$ de 0,2 et 0,15 mmol/l. Ce sont deux méthodes proches l'une de l'autre et dont le choix est guidé par la température réactionnelle. La SFBC travaille à une température réactionnelle de 30°C et la SSCC à une température de 37°C.

Il existe également une méthode colorimétrique qui permet d'apprécier la consommation de pyruvate en présence de 2-4 dinitrophénylhydrazine.

Elle présente le défaut d'être non spécifique dans le milieu sérique et c'est la raison pour laquelle elle a été abandonnée pour le dosage de la LDH.

3.2. Isoformes de la LDH

En exploitant les propriétés physicochimiques des isoformes de la LDH, déjà citées, on peut mesurer les différentes isoformes.

Cependant, la seule technique fiable, actuellement utilisée pour doser les isoformes de la LDH, est l'électrophorèse. De plus, les dosages des formes thermostables, après adsorption sélective ou de l'activité HBDH sont comparativement moins intéressants en terme d'informations recueillies. Il faut noter également l'existence de techniques de dosages faisant intervenir des anticorps inhibiteurs de certains isoformes mais ceux-ci font partie du domaine de la recherche.

La séparation des cinq isoformes de la LDH est basée sur leurs différences de mobilité électrophorétique. La LDH1 migre la plus vite vers la cathode, la LDH 5 est la plus lente à se déplacer. Les trois autres isoformes migrent de façon intermédiaire.

L'électrophorèse s'effectue en générale sur gel d'agarose tamponné et stabilisé avec un pH de 6,8 à 7,2. Classiquement, on effectue un dépôt de 1 à 3 µl d'échantillon selon l'activité LDH totale mesurée auparavant. La migration se fait sous un courant de 100 volts à température ambiante et dure en moyenne 20 minutes. (Figure 15)

Le zymogramme est habituellement révélé par une incubation pendant 30 minutes à 37°C en présence d'un mélange formé de lactate, NAD, d'un sel de tétrazolium (TTZ) et de métosulfate de phénazine (MSP).

Comme sel de tétrazolium, on emploie le nitrobleutétrazolium ou le thiazolylbleu qui présentent l'avantage d'être insolubles à l'état réduit. Le MSP sert à la transmission des protons depuis le $NADH_2$ vers le sel de tétrazolium. L'évaluation semi-quantitative est ensuite réalisée par densitométrie optique (Figure 16). Les résultats pour chaque fraction sont exprimés en pourcentage de l'activité totale.

4. Les variations préanalytiques

4.1. Facteurs de variation liés au sujet

Le prélèvement doit être réalisé chez un patient à jeûn ou au-delà de 3 heures après un repas (le taux de LDH est majoré de 5 à 10% jusqu'à 2 heures après la prise d'un repas). La prise d'alcool peut influer sur le taux de LDH si elle dépasse la quantité de 1 g/kg de poids corporel. L'exercice est à éviter, le prélèvement devant être au repos, en position allongée. Il n'y a pas de variation nycthémérale de la LDH .
(CERBA 1995)

4.2. Facteurs de variation liés au prélèvement

La LDH est un paramètre particulièrement sensible aux conditions de prélèvement du fait de sa répartition ubiquitaire dans les cellules présentes dans le sang circulant (globules rouges, plaquettes). Ainsi, la pose prolongée du garrot est à éviter car elle peut induire une augmentation de la LDH. De même, la manipulation de l'aiguille dans la veine du fait d'un prélèvement difficile à recueillir, peut avoir pour conséquence une augmentation de la LDH. L'utilisation de matériel de prélèvement sous vide de type de Vacutainer* est également un facteur pouvant favoriser l'élévation de la lyse cellulaire et le relargage de LDH. Le prélèvement capillaire double l'activité LDH par rapport au prélèvement veineux.

4.3. Facteurs de variation liés à l'échantillon

Les LDH peuvent être dosées indifféremment sur sérum ou plasma à condition

d'être pauvre en plaquettes. Dans un plasma riche en plaquettes, les LDH sont souvent multipliées par 4. L'anticoagulant à utiliser de préférence est l'héparinate de lithium (le fluorure et l'iodacétate sont à éviter pour leur propriété à favoriser l'hémolyse). L'EDTA et le citrate de sodium sont à proscrire. Le temps de contact avec le caillot doit être inférieur à 2 heures, passé ce délai, le taux de LDH peut être augmenté de 30% 24 heures après le prélèvement. La centrifugation doit être faite à grande vitesse et de façon prolongée pour éliminer le maximum de plaquettes du sérum (en général, 1200g pendant environ 10 minutes, voire une double centrifugation successive).

Quand le prélèvement est effectué avec un tube sec, le sérum peut se conserver jusqu'à 5 jours à température ambiante, alors qu'avec un tube à gel séparateur, il est recommandé de ne pas conserver l'échantillon plus de 24 heures à température ambiante. A +4°C, le prélèvement n'est stable que pendant 24 heures. Au-delà, on note une minoration non négligeable du taux de LDH (de -9 à -28% pour des sérums de 12 jours conservés à température ambiante, -6% pour des sérum conservés à +4°C avec le même laps de temps). La conservation à -20°C est déconseillée, les isoformes de la LDH étant de stabilité très variable.

4.4. Facteurs de variation liés au spécimen
(Vassault, 1983; Huijgen et al., 1997)

L'hyperbilirubinémie et l'hyperlipémie peuvent être l'origine d'interférences. Les techniques doivent être bien connues et les sérums surveillés. Les clarifiants sont à proscrire car ils sont à l'origine de variations non contrôlables. L'hémolyse rend ininterprétable le dosage. Cependant, il a été établi des données pour corriger le taux de LDH suivant le taux d'hémoglobine sérique. Ainsi, pour 15 µmol/l d'hémoglobine, le taux de LDH est majoré de +17%, pour 30 µmol/l d'hémoglobine, le taux de LDH est majoré de +15 à 20%, et pour 60 µmol/l d'hémoglobine, le taux de LDH est majoré de 50%.

Tableau N° 5 : Valeurs de référence de l'activité LDH totale

limite et référence de la littérature suivant l'age, le sex et la méthode de dosage			
	age	sex	limites en UI/L
méthode DGKC, 25°C			
	sang du cordon	M et F	132-505
	1 à 4 jours	M et F	277-927
	1 à 4 semaines	M et F	158-828
	1 à 12 mois	M et F	153-564
	1 à 3 ans	M et F	139-313
	4 à 13 ans	M et F	114-228
	13 à 16 ans	M et F	125-307
	adulte	M	120-240
	adulte	F	125-235
méthode SFBC, 30°C			
	1 jour à 3 semaines	M et F	300-690
	3 semaines à 2 ans	M et F	250-500
	2 à 14 ans	M et F	200-400
	>14 ans	M et F	140-300
méthode SCE, 37°C			
	3 semaines à 3 ans	M et F	408-1018
	3 à 7 ans	M et F	436-882
	>20 ans	M et F	227-452
méthodeDGKC, 37°C			
	8 à 15 ans	M et F	260-550
	15 à 20 ans	M	200-460
	>20 ans	M	190-430
	14 à 45 ans	F	190-400
	>45 ans	F	210-450

Tableau n° 6 : tableau de valeurs de référence de 4 activités enzymatiques dont la LDH évalué sur 47 foetus sains (Berrebi et al., 1992)

Périodes(SA)	LDH(UI/L)	GGT(UI/L)	TGO(UI/L)	TGP(UI/L)
20-34(n=47)	664+/-409	87+/-61	24+/-17	5+/-3
20-23(n=21)	712+/-498	63+/-44	23+/-18	4+/-2
24-27(n=13)	646+/-302	90+/-64	25+/-17	5+/-5
28-34(n=13)	598+/-318	125+/-61	24+/-16	5+/-2

Tableau N°7 : valeurs de référence de 18 paramétres biochimiques dont la LDH sur 72 foetus sains, invariable suivant l'âge de la grossesse.(Gozzo et al., 1998)

Paramétres	nombre de foetus	intervale de référence
Glucose(mg/l)	72	540-1030
Urée(mg/l)	72	50-160
Sodium(mmol/l)	68	128-147
Potassium(mmol/l)	66	3.2-4.6
Calcium(mg/l)	70	76-100
Phosphore(mg/l)	69	40-88
Chlore(mmol/l)	62	97-122
Bilirubine total(mg/l)	71	9-25
Bilirubine directe(mg/l)	67	3-8
ASAT(U/L)	68	9-31
ALAT(U/L)	62	1-15
Créatinine(mg/l)	70	4-9
LDH(U/L)	69	259-552
GGT(U/L)	66	22-146
Acide urique(mg/l)	69	10-55
Magnésium(mg/l)	60	14-19
Cholestérol(mg/l)	67	320-760
Triglycérides(mg/l)	67	20-620

5. Les valeurs normales des LDH

5.1. La LDH totale

Les valeurs normales dépendent de la méthode utilisée, du sexe, et de l'âge des patients. Toutefois, certaines limites de référence présentées dans le tableau 5 peuvent être indiquées (Schiele, 1991).

Les variations physiologiques peuvent être résumées comme suit:

Chez l'adulte masculin, il n'y a pas de variation significative avec l'âge. Par contre chez la femme, on note une augmentation graduelle de la LDH à partir de 30 ans. Entre 40 et 55 ans, cette augmentation est de 5 à 15% des valeurs observées à 30 ans. Au delà de 55 ans, les LDH augmentent de 20 à 40%. En comparant les valeurs de référence chez les hommes et chez les femmes, elles sont identiques dans la tranche d'âge 40-55 ans.

La jeune femme pubère présentent une activité LDH inférieure de 14% par rapport aux filles non pubères.

Au cours de la grossesse, jusqu'au 6ème mois, il n'y a pas de différence significative pour le taux de LDH. Du 6ème au 9ème mois, on note une augmentation de près de 20 à 25% de l'activité LDH par rapport aux femmes non gravides.

Au cours du post-partum, une augmentation de 15 à 30% de la LDH est observée pendant 2 à 4 jours.

Dans le sang de cordon ombilical humain, les valeurs de référence par rapport à l'âge gestationnel de l'activité LDH sur 47 foetus sains et nés sont présentées sur le tableau N°6 d'après Berrebi et al.(1992). Tous âges gestationnels confondus, les valeurs de référence de la LDH est de 664 UI/L ± 409. Gozzo et al. ont présenté des valeurs de référence de 18 paramètres biochimiques dont la LDH. (Tableau N°7)

Dans le sang de cordon, la LDH et ses isoenzymes ont été dosées à la naissance et comparées aux valeurs mesurées dans le sérum de la mère, le tissu placentaire, le cordon exsangue et le liquide amniotique (Vincent et al., 1978). Les résultats montrent une forte activité (en moyenne 21600 UI/L) dans les tissus du placenta et du cordon, soit 80 fois à 200 fois les valeurs trouvées dans le sérum du sang ombilical. Celui-ci présente cependant une plus grande activité LDH que le liquide amniotique qui, lui-

Tableau N°8 : Valeurs de référence pour les LDH en pédiatrie (Steven, 1995)(méthode à 37°C)

	Activité LDH en UI/L
garçons	
age	
1 à 30 jours	125-735
31 à 365 jours	170-450
1 à 3 ans	155-345
4 à 6 ans	155-345
7 à 9 ans	145-300
10 à 12 ans	120-325
13 à 15 ans	120-290
16 à 18 ans	105-235
filles	
age	
1 à 30 jours	145-765
31 à 365 jours	190-420
1 à 3 ans	165-395
4 à 6 ans	135-345
7 à 9 ans	140-280
10 à 12 ans	120-260
13 à 15 ans	100-275
16 à 18 ans	105-230

Tableau N° 9 : Valeurs usuelles en pédiatrie pour le LDH (Valeurs usuelles en pédiatrie, 1998 "Biologiste et praticien" N°113)

	Méthode à 37°C	**Méthode à 30°C**
Nouveau-né	de 300 à 690 UI/l	de 500 à 1100 UI/l
Nourrisson	de 250 à 500 UI/l	de 410 à 830 UI/l
Enfant	de 200 à 400 UI/l	de 330 à 660 UI/l
Adulte	de 140 à 300 UI/l	de 230 à 500 UI/l

même, a une activité LDH plus élevée que le sérum du sang maternel.

En pédiatrie, les valeurs de LDH ne sont pas bien définies, en particulier au cours de la première année de vie. Des valeurs sont présentées dans le tableau 8 (Steven, 1995). La revue "Biologiste et praticien" N°113 propose les valeurs usuelles en pédiatrie pour le LDH.(Valeurs usuelles en pédiatrie, 1998) (tableau 9)

Il n'y a pas de variation significative de la LDH considérant le morphotype, le poids et la taille des individus. Il n'y a pas non plus de différence significative des valeurs lors d'une modification de l'alimentation, à la suite de prise d'alcool modérée ou au cours d'une charge orale en glucose. De même, les valeurs de référence ne changent pas avec le rythme circadien.

Par contre, l'alitement induit une augmentation des valeurs de près de 14% par rapport à l' état ambulatoire. L'effort et l'exercice physique modifient particulièrement les valeurs de la LDH et sont à la base des variations physiologiques les plus fréquemment rencontrées. Alors que la marche ne modifie pas l'activité de la LDH, une épreuve d'effort (76W pendant 5 minutes) augmente la LDH de 17% 30 minutes à 2 heures après la survenue de l'effort.

Certains médicaments sont connus pour modifier la LDH: les contraceptifs oraux diminuent d'environ 6% les valeurs de référence alors que l'acide acétylsalicylique les augmente de 10%, les antiépileptiques de 25%, l'isonixine de 22% et enfin la D-penicillamine de 350%.

Les variations intra- individuelles sont de l'ordre, à long et à cours terme, de 10% et elles peuvent s'élever jusqu'à 20% chez les femmes fumeuses.

5.2. Les isoformes de la LDH

Les isoenzymes sont présentes dans le sérum humain d'adultes, dans les proportions moyennes suivantes: LDH1:23%

LDH2:32%

LDH3:27%

LDH4:10%

LDH5:8%

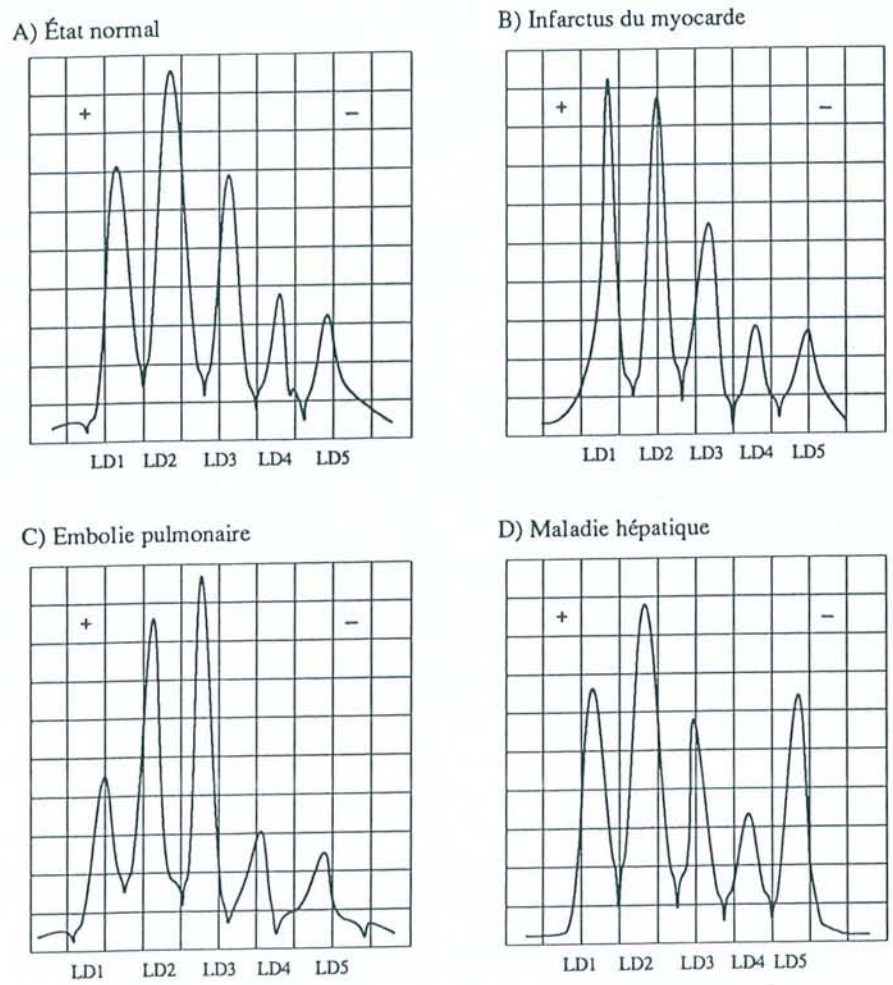


Figure N°17 : Quatre profiles dont trois caractéristiques de maladies cardiaque, pulmonaire et hépatique

Sur la figure N°14, une électrophorèse normale de la LDH est présentée.

Le rapport LDH1/LDH2 est inférieur à 1 chez le sujet sain.

Une macro-enzyme constituée d'un auto-anticorps fixé à une LDH peut apparaître en diverses positions entre LDH1 et LDH5. Ces complexes, qui peuvent se rencontrer aussi bien chez des sujets malades que des sujets en bonne santé, ont une fréquence accrue chez l'enfant.

Il apparaît que les LDH 1 et 2 prédominent dans le sérum du sang de la mère et du foetus tandis que les LDH 4 et 5 sont retrouvées à des taux de 72% dans la gelée de Warton, de 67% dans le liquide amniotique et de 56% dans le placenta. Il est à noter que le pourcentage de la LDH 1 du sang du cordon est moindre que celui du sérum de l'adulte sain. Celui de la LDH 5 du sérum foetal est plus élevé. Ces notions indiquent une forte activité métabolique dans le cordon ombilical (avec une concentration élevée en lactate de ces tissus) et seraient en faveur d'un métabolisme de glycolyse anaérobie présent dans les tissus pauvres en oxygène. (Vincent et al., 1978)

La répartition des isoformes de la LDH persistent chez l'enfant jusqu'à l'âge de 6 mois. On constate ainsi une diminution des LDH 1 et 2 et une augmentation des LDH 4 et 5. Après 6 mois, les proportions des isoformes de la LDH sont comparables à celles de l'adulte. (Vincent et al., 1978)

6. Interprétation des LDH

La LDH est une enzyme ubiquitaire et par conséquent elle présente des interprétations sémiologiques multiples. La LDH sérique augmente dans le cas de dommage cellulaire, quelque soit le type de cellule.

Une augmentation significative de la LDH, associée à des pourcentage normaux des différentes isoenzymes, réalise ce qu'on appelle un profil isomorphique. Celui-ci se rencontre lors de pathologies variées, respiratoires, tumorales, atteinte du système nerveux central, fractures, infections, inflammations, cirrhose et alcoolisme.

C'est l'analyse des isoformes de la LDH qui permet parfois une orientation vers un organe particulier lors d'une élévation de l'activité enzymatique. Trois profils peuvent être individualisés, correspondant soit à une atteinte cardiaque, soit

pulmonaire,soit hépatique (figure 17)

La demi-vie sérique de la LDH totale est évaluée à 6 jours. Cependant, la vitesse d'élimination sérique est variable d'une isoforme à l'autre. La demi-vie de la LDH 1, dans le sérum est en effet de 113 ± 60 heures et celle de la LDH5 n'est que de 10 ± 2 heures.

6.1. Relation LDH et les infarctus de différents organes

Dans l'infarctus du myocarde, l'élévation de la LDH totale et de la LDH 1, 18 à 24 heures après l'apparition des douleurs est plus tardive que celle de la CK.

Le pic sérique se situe 48 heures après l'infarctus et le retour aux valeurs normales est observé après le sixième jour. Une analyse concernant la mesure de l'activité de la LDH et de ses isoenzymes, environ 24 heures après les premières douleurs angineuses, a montré une sensibilité d'environ 95%. La mesure de la CKMB est plus performante dans ce cadre diagnostique.

De meilleurs résultats en terme de diagnostic sont obtenus avec le rapport LDH1/LDH2, qui devient supérieur à 1 avant l'augmentation des LDH.

Mais le profil électrophorétique des isoformes LDH érythrocytaires étant superposable à celui du tissu cardiaque, toute hémolyse, même modérée, rend cette examen ininterprétable.

La LDH peut également être augmentée dans les infarctus concernant d'autres organes que le coeur.

Une nécrose tubulaire rénale peut s'accompagner d'une augmentation de la LDH 4 et de la LDH 5. Toute atteinte pulmonaire sévère peut s'accompagner d'une élévation de l'isoforme LDH 3. Dans le cas d'un infarctus pulmonaire, d'un oedème pulmonaire aigu, de pneumopathies infectieuses graves ou évoluées, un profil particulier des isoformes de la LDH avec une proportion de LDH 3 augmentée permet de conforter le diagnostic. Toute atteinte musculaire sévère peut s'accompagner d'une élévation de la LDH, avec prédominance de la LDH5, quelle qu'en soit l'origine traumatique, inflammatoire ou dystrophique.

La LDH, du fait de son élévation persistante, conserve surtout un intérêt dans le diagnostic rétrospectif de la nécrose myocardique.

La plupart des atteintes hépatiques peuvent s'accompagner d'une élévation de la LDH, mais dans des proportions inférieures à celle des transaminases et de façon moins systématique (élévation dans 20% des hépatites aigues).

La LDH est considérée comme le marqueur le moins spécifique pour les atteintes hépatiques. La recherche de LDH4 et LDH5 d'origine hépatique apporte peu, en terme de spécificité. Seule une augmentation continue, associée à celle de la phosphatase alcaline, pourrait indiquer la présence de métastases hépatiques. Cependant, pour distinguer une tumeur primitive du foie d'une métastase hépatique, le dosage de l'α foetoprotéine est plus informatif.

6.2. Relation des LDH avec les pathologies hématologiques et tumorales

L'activité LDH sérique est fortement augmentée dans les anémies mégaloblastiques et hémolytiques, du fait de l'hémolyse intramédullaire et/ou périphérique, alors qu'elle reste normale dans les anémies ferriprives.

Elle est augmentée également dans toutes les leucémies. Dans la maladie de Hodgkin et les lymphomes non Hodgkiniens, l'élévation est surtout observée dans les formes sévères, évoluées et les lymphomes de haut grade. Une corrélation a été mise en évidence entre une activité LDH élevée et une réduction significative de la survie.

Après traitement par chimiothérapie ou greffe de moelle autologue, l'activité LDH se normalise. Toute nouvelle ascension de la LDH est un des principaux marqueurs prédictifs des rechutes.

L'augmentation de l'activité LDH peut accompagner de nombreux cancers, dans des proportions variables et particulièrement les tumeurs testiculaires, séminomes ou non séminomes, les dysgéminomes ovariens ou les carcinomes anaplasiques à petites cellules du poumon, avec une sensibilité proche de 100%, mais une spécificité médiocre. Dans le cas de carcinome pulmonaire à petite cellules, la neurone spécifique énolase est un marqueur plus efficace pour évaluer la réponse au traitement et le taux de survie de ces carcinomes. L' isoforme LDH3 est la plus abondante dans les tissus néoplasiques (Vasseault, 1983). Une LDH1-ex migrant avant la LDH1 sur le gel d'électrophorèse peut apparaître chez des patients atteints de cancers et peut disparaître après

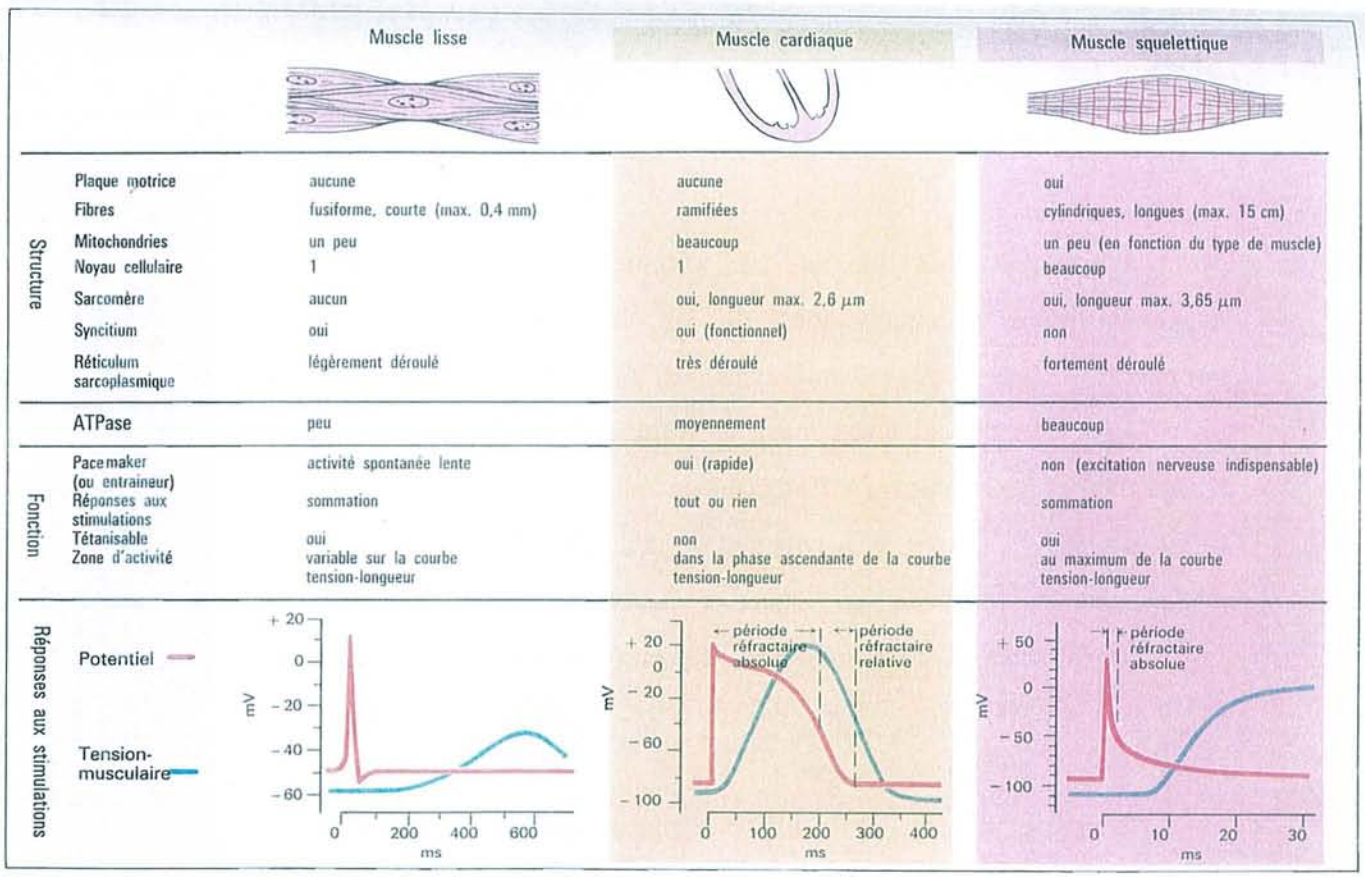


Figure N°18 : Caractéristique des trois types musculaires

chimiothérapie, radiothérapie ou chirurgie. (CERBA, 1995)

Les affections susceptibles d'entraîner une élévation de l'activité de la LDH sérique sont nombreuses. Elles ne font que traduire le caractère ubiquitaire de cette enzyme. En pratique, les indications de cette enzyme sont maintenant limitées. Le dosage de la LDH est, certes, facile et rapide. Toutefois, en raison de son absence de spécificité tissulaire, les renseignements obtenus demeurent restreints. L'étude des isoformes est beaucoup plus intéressante, mais délicate à mettre en oeuvre. Cette détermination doit être réservée aux cas où les informations obtenues ne peuvent l'être par l'utilisation d'un dosage plus simple. En dehors des leucémies, l'indication essentielle de la détermination des isoformes de la LDH est la surveillance de l'évolution d'un infarctus du myocarde; cet intérêt résulte de plusieurs particularités:
La LDH est l'enzyme qui se normalise le plus lentement après un infarctus. Elle permet de suivre la cicatrisation des lésions myocardiques. La survenue d'un second infarctus se traduit par une élévation de la LDH 1 plus tardive mais plus durable que l'augmentation de la CK. Dans le cas de signes électrocardiographiques déjà perturbés avec récidive d'infarctus, des modifications de l'activité de la LDH sont de grande valeur sémiologique.

6.3. Les LDH chez le nouveau-né

Les LDH totaux sériques du nouveau-né ont été étudiées par Lachman en 1993 et 1996. Il montre que les LDH dosées dans les 72 heures de vie sont corrélées avec un épisode d'asphyxie à la naissance et avec un désordre neurologique à la suite. Dans la situation d'une détresse respiratoire néonatale, les LDH semblent, de plus, corrélées avec un désordre neurologique futur. En outre, l'augmentation de la proportion des isoformes 4 et 5 des LDH serait un indicateur de lésions pulmonaire chez le nouveau-né.

Kwasowo, en 1997, a mis en évidence une corrélation entre les LDH et le pH, l'excès de base, le taux des bicarbonates, au niveau de la veine ombilicale, après la délivrance. Il suggère que les LDH pourraient indiquer un passé d'asphyxie foetale.

L'étude que nous nous proposons de présenter a pour but de confirmer cette hypothèse au niveau du sang de foetus prélevés in utero exclusivement.

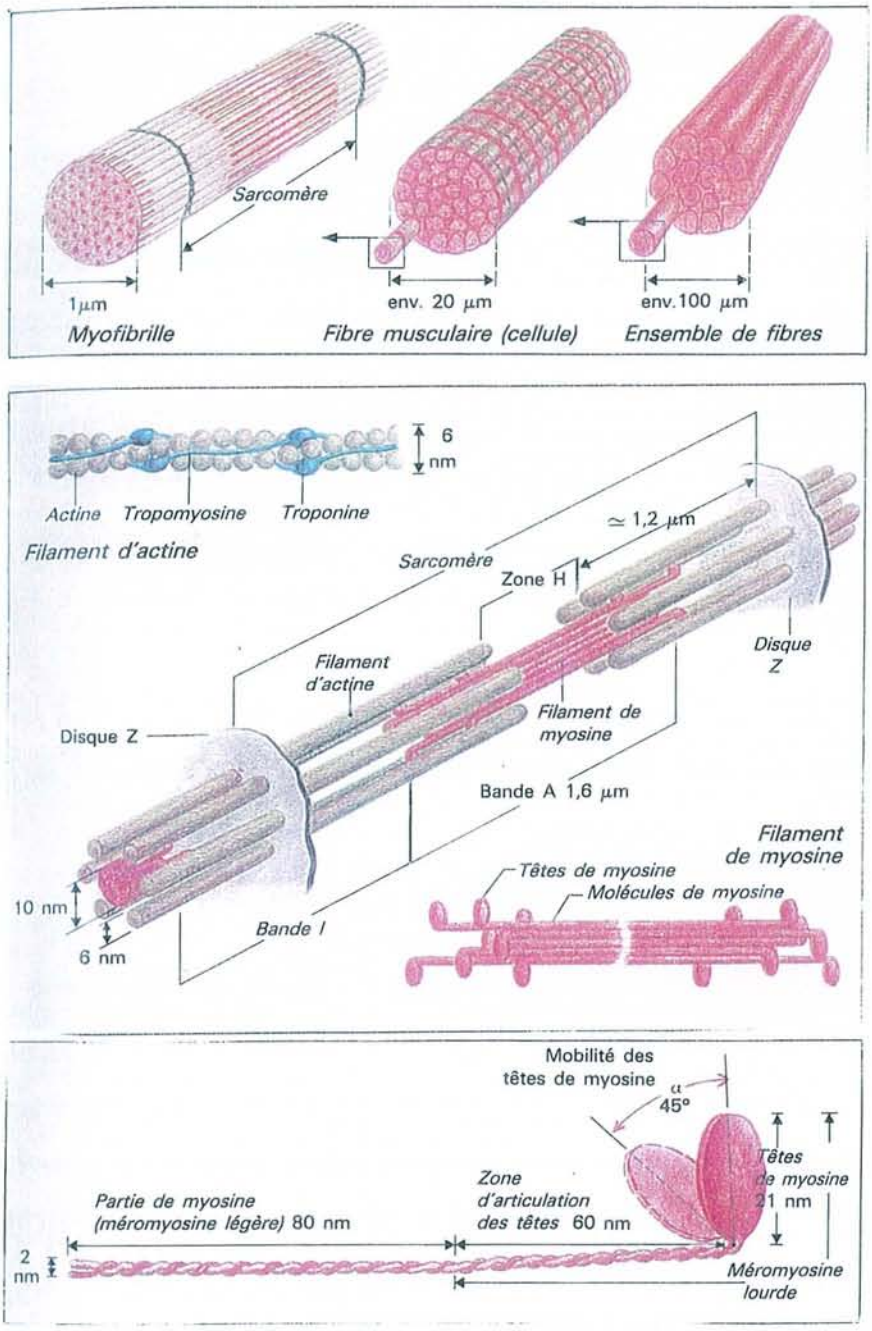


Figure N°19 : L'appareil contractil

III. LE COMPLEXE DES TROPONINES TnIc

Le complexe des troponines fait partie des protéines constitutives de la cellule musculaire. Les cellules musculaires sont de trois types. Chaque type de cellule constitue le muscle lisse, le muscle squelettique et le muscle cardiaque. Le muscle lisse est fait de fibre musculaire lente (s), le muscle squelettique est fait de fibre musculaire rapide (f) tandis que le coeur est fait de fibre spécifique cardiaque (c). Les trois types de fibres musculaires sont différentes en terme de structure, fonction et de réponse aux stimulations (Figure 18). Cependant, un point commun persiste au niveau de l'appareil de contraction de ces cellules.

1. L'appareil de contraction, notions générales

(Figure 19)

L'appareil de contraction est constitué de myofibrilles, elles-mêmes formées d'une succession d'unités fonctionnelles. L'unité fonctionnelle est constituée de filaments d'actine et de myosine.

le filament fin d'actine est organisé en un filament hélicoïdal. Deux molécules de tropomyosine se situent le long du filament. Les complexes de troponine se fixent à intervalles réguliers sur celui-ci. Le complexe des troponines est formé de 3 sous-unités, les troponines I, T et C.

Le filament épais est constitué de monomères de myosine. C'est une molécule formée d'un corps allongé hélicoïdal, d'une tête globulaire et de deux sous-unité fixées sur cette dernière.

2. Structure des protéines impliquées dans la contraction musculaire

2.1. La myosine

La myosine est le principal constituant des filaments épais. C'est une protéine polymérique de 540000 Daltons, constituée de 6 sous-unités: ce sont deux chaînes

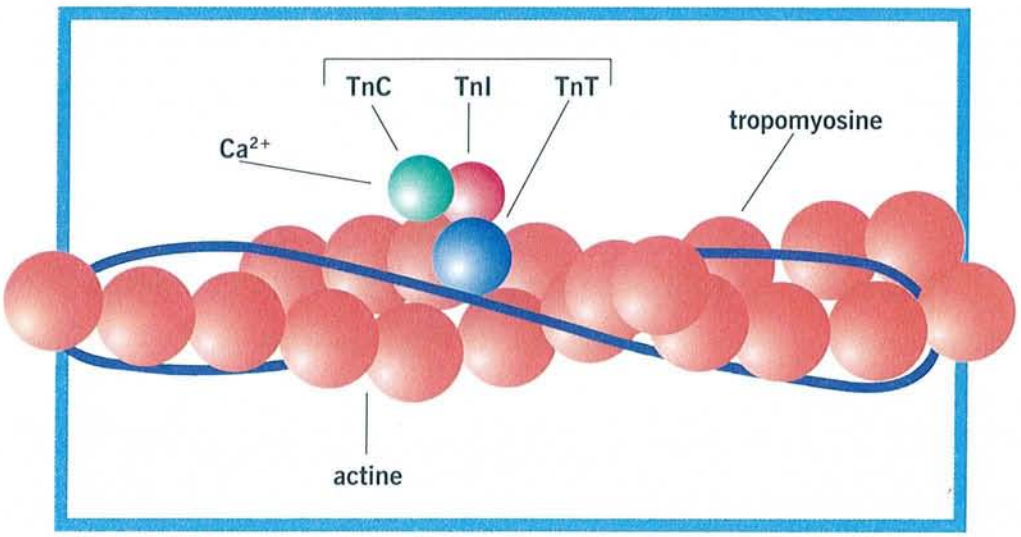


Figure N°20 : Complexe de la troponine au sain du filament fin

polypeptidiques lourdes (MHC) de 230000 Daltons couplées à deux paires de chaînes légères (MLC1 et MLC2) de 20000 Daltons. La MLC2 possède l'activité ATPase qui devient fonctionnelle au contact de l'actine. Dès que l'ATPase s'active, l'ATP libère de l'énergie qui est captée par la tête de myosine opérant un mouvement de balai sur l'actine.

2.2. L'actine

C'est une protéine globulaire de 41000 Daltons qui se polymérise en filament à structure hélicoïdale. L'actine est une protéine du cytosquelette qui se caractérise par son polymorphisme et ses multiples déterminants génétiques. L'actine de l'appareil contractile présente cependant une grande homologie d'une cellule musculaire à l'autre. On peut y dénombrer 4 isoformes: l'α-cardiaque,l' α-squelette, l'α-muscle lisse et l'γ-muscle lisse. Présenter des sites de fixation pour les têtes de myosine et activer l'ATPase de la myosine constituent ses fonctions dans la contraction musculaire.

2.3. La tropomyosine

La tropomyosine est constituée de deux chaînes polypeptidiques α-hélicoïdales identiques dans les muscles squelettiques rapides; c'est un homodimère.

Dans les muscles squelettiques lents, la tropomyosine est sous la forme d'un hétérodimère, avec une chaîne α et d'une chaîne β. C'est une protéine rigide et enroulée autour de l'axe du filament de myofibrille. Soutenant le filament d'actine sur sa longueur, deux molécules de tropomyosine stabilisent et rigidifient le filament.

Le ratio des isoformes α/α , α/β, et β/β est différent d'une fibre musculaire mature à une autre, et se modifie lors d'une dénervation ou d'une pathologie musculaire.

Enfin, l'étude de corrélation entre l'expression de la troponine et des isoformes de la tropomyosine suggère une co-régulation des gènes de ces deux molécules.

Le gène de la chaîne α (appelé CMH3) se situe sur le chromosome 15 en position 15q2, celui de la chaîne β (appelé CMH1) se situe sur le chromosome 14 en position 14q11 .(Forissier et al., 1996).

2.4. Le complexe des troponines (Larue, 1996)

Comme pour la tropomyosine, le complexe des troponines est fixé sur l'actine dans le filament fin de la myofibrille. La proportion des molécules de troponine, tropomyosine et d'actine est respectivement de 1/9, 1/9 et de 7/9 (El-Saleh et al., 1986). Le complexe est constitué de trois sous-unités(I, T ,C). Chaque sous-unité est connue pour s'exprimer en de multiples isoformes.(figure 20)

Au repos musculaire, le complexe des troponines joue le rôle de verrou. Il empêche la fixation de la tête de myosine sur l'actine. Quand la concentration en calcium augmente, le complexe pivote en libérant les sites de fixation de la myosine. Il en résulte l'activation de la myosine et la contraction musculaire.

2.4.1. *Troponine T*

La troponine T est portée par la tropomyosine . Cette sous-unité détermine la position du complexe des troponines sur le filament fin. Elle ne semble avoir qu'une fonction structurelle. La troponine T est déterminée par un seul gène. Par des phénomènes de splicing , de nombreuses formes sont exprimées dans le coeur et les muscles. Breitbart et al. ont réussi à déterminer 64 différentes isoformes de troponines T.

En pratique courante, on isole trois formes, deux dans les muscles squelettiques et une dans le coeur humain, avec un poids commun de 37500 Daltons. L' homologie de séquence d'acides aminés est de l'ordre de 90 %, pour les trois formes.
La troponine T cardiaque est composée d'une séquence variable (1-147) et d'une séquence fixe liant la troponine C (147-288). La partie centrale , partie hydrophile, est très souple.

2.4.2. *Troponine C* (Ricchiuti et al., 1998)

La troponine C est une protéine fixée sur la troponine T. Son poids moléculaire est de l'ordre de 18000 Daltons. Il existe trois formes, du muscle squelettique, lisse et

du myocarde.

Les formes des muscles squelettiques et cardiaques présentent une grande homologie de structure ce qui réduit son intérêt à la doser par manque de spécificité. Son rôle est de capter les ions calcium et confère à la myofibrille sa sensibilité à ces ions.

La forme cardiaque diffère de celles des muscles par l'absence d'un site de fixation du calcium de faible affinité, ce qui interviendrait dans ses caractéristiques fonctionnelles.

2.4.3. *Troponine I*

La troponine I est une protéine de structure quaternaire. Il existe trois formes, une cardiaque (TnIc), une autre dans les muscles squelettiques (TnIf) et, enfin, une présente dans les muscles lents (TnIs). Les séquences d'acides aminés des 3 formes (TnIc, TnIf et TnIs) ont été décrites par Ebashi et al.(1971), mettant en évidence une différence de structure entre ces trois formes. Depuis, les formes de la troponines I ont été étudiées chez différentes espèces animales (lapin, bovin, singe et humain) ce qui a permis de conclure, que ces trois formes sont spécifiques des tissus mais ne sont pas spécifiques d'espèce (Dhoot et al., 1978). Les trois formes ont un poids moléculaire différent (19800 Da pour la TnIf et la TnIs et 24000 Da pour la TnIc).

Quelques soient les muscles considérés, la troponine I est une protéine clef dans la contraction musculaire. Une augmentation d'ions calcium fixés sur la troponine C est accompagnée d'un pivotement de la troponine I qui libère les zones d'ancrage de l'actine pour les têtes de myosine. La troponine I perd à ce moment son activité inhibiteur de la ATPase.

Dans le tissu cardiaque, il existe une concentration de 4 mg de TnIc pour 1 g de tissu (0,4%). Il a été mis en évidence une fraction cytosolique de TnIc correspondant à 2,8% de la totalité de la TnIc soit 0,12 mg de TnIc pour 1 g de tissu. (Adam et al., 1994b)

3.La troponine Ic

3.1. Structure

La troponine Ic est une protéine de structure quaternaire. La troponine Ic a un poids moléculaire différent des TnIf et TnIs (19800 Da), elle pèse 24000 Daltons. La présence d'une partie N-terminale supplémentaire de 31 acides aminés sur la troponine Ic en est la cause.

La troponine Ic est définie comme une chaîne polypeptidique de 211 acides aminés. En 1992, une carte épitopique complète de la troponine Ic a été établie par Larue et al, grâce au développement d'anticorps monoclonaux dirigés vers la troponine Ic humaine. Sur cette carte, on distingue 6 domaines épitopiques distincts spécifiques de la troponine Ic, car non retrouvés au niveau des formes musculaires. La séquence d'acides aminées de la TnIc est maintenant bien connue. Un modèle de la molécule de la TnIc peut déjà être synthétisé et utilisé à des fins de recherche.

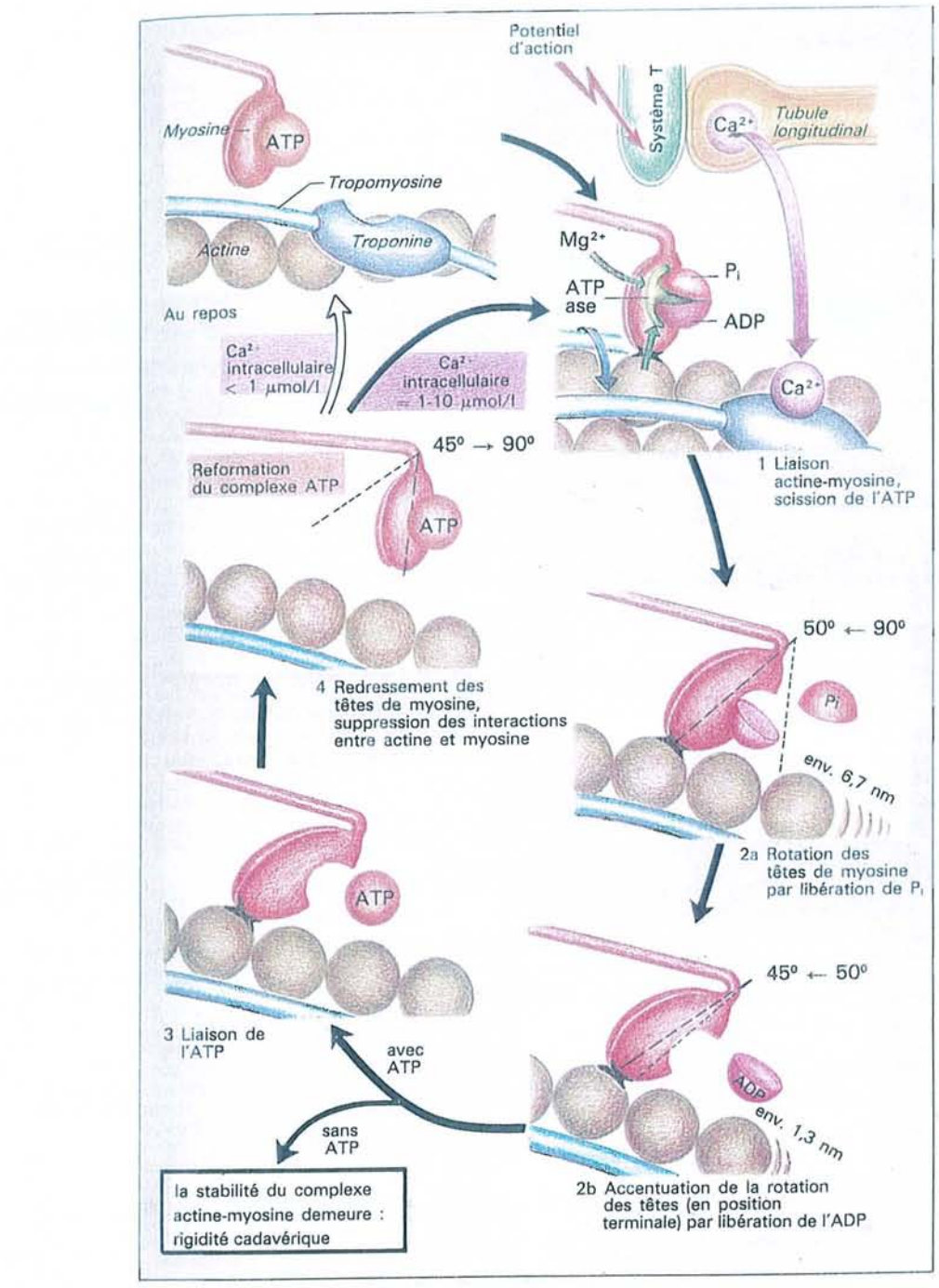
Il a été démontré pour la séquence d'acides aminés de la partie N-terminale (AA 1-100) 31 % d'homologie entre la forme cardiaque et musculaire. L'homologie entre les mêmes formes est de 56% lorsqu'on s'intéresse à la partie C-terminale (AA 101-179).

3.2. Génétique

Chez l'adulte, la TnIs n'est présente à l'état physiologique que dans les fibres musculaires lentes, la TnIf que dans celles des muscles rapides.

Par contre, au cours de myopathies diverses ou du développement foetal, les fibres musculaires lentes et rapides peuvent exprimer les deux formes de façon concomitante. Dans ces situations, la TnIc n' est en aucun cas exprimée par les cellules musculaires rapides et lentes; elle n'est exprimée que par le myocarde, de façon identique dans les différentes cavités cardiaques. (hunkler et Cumming, 1991)

Les trois formes de la troponine I sont codées par trois gènes différents sur trois différents chromosomes (Vallins et al., 1990). La localisation des gènes ne semble pas encore connue.



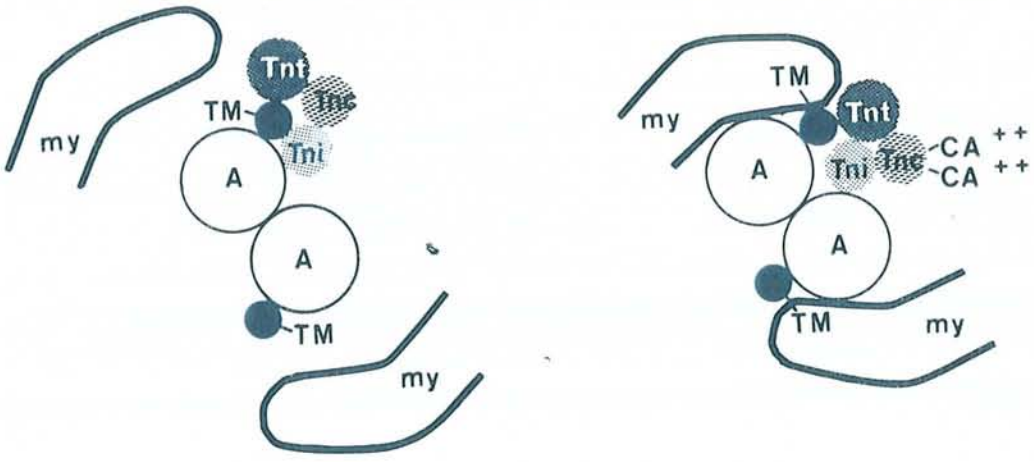


Figure N°21 : Rôle fonctionnel de la troponine I

Sasse et al (1993) ont montré la présence de deux formes de troponine I dans le coeur foetal : l'une étant la TnIc et l'autre qui présente les caractéristiques électrophorétiques et immunologiques de la TnIs (Bhavsar et al., 1991). Quelque soit le stade de développement du coeur foetal, la TnIc et la TnIs sont exprimées dans le coeur. La TnIs en est la forme prépondérante. Neuf mois après la naissance, la TnIs n'est plus exprimée dans le coeur, la TnIc étant la seule détectable. Il y a donc une transition dans l'expression de ces deux formes qui s'effectue entre la 20° semaine de la vie foetale et le neuvième mois postnatal. Avec le temps, la TnIc augmente et la TnIs diminue, aboutissant à la notion de switch de la troponine I aux environs de la naissance de l'enfant.

On a pu montrer la présence de l'ARN_m de la TnIs dans les myocytes du coeur foetal alors qu'elle est absente dans le coeur de l'adulte. Le mécanisme de régulation de ce switch n'est pas connu actuellement mais semble se situer au niveau de la traduction de l'ARN_m (Sasse et al., 1993). Il a été également suggéré le rôle de l'équilibre hormonal, notamment des hormones thyroïdiennes du foetus (Diekmann et Solaro, 1990) dans le contrôle de cette régulation.

3.3. Rôle physiologique (figure 21)

Quelques soient les muscles considérés, la troponine I est une protéine clef dans la contraction musculaire. C'est un inhibiteur de l'ATPase.

Une augmentation d'ions calcium fixés sur la troponine C est accompagnée d'un pivotement de la troponine I qui libère les zones d'ancrage de l'actine pour les têtes de myosine. Lorsque la concentration de calcium augmente, la troponine I va perdre en même temps son activité inhibiteur de ATPase. L'activité ATPase induite au moment du contact de la myosine sur l'actine libère du phosphore à partir de l'ATP et déclenche le pivotement des têtes de myosine. Lorsque la concentration de calcium baisse, la troponine I va inhiber l'activité ATPase de la tête de myosine. Elle assure ainsi le relâchement de la contraction musculaire et supprime l'interaction entre l'actine et la myosine. (Adams et al., 1996)

L'existence des trois formes de troponine I pourraient contribuer à expliquer les différences fonctionnelles des différents muscles (Haider et Stimson, 1993).

Deux régions de la molécule de la troponine I cardiaque sont remarquables sur le plan fonctionnel :

La région 104 à 115 de la chaîne polypeptidique a été déterminée comme étant la région portant l'activité inhibitrice de l' ATPase de la troponine I. L'altération de cette région induit l'absence d'inhibition de l' ATPase.(Haider et Stimson, 1993)

Il existe dans la portion polypeptidique supplémentaire de la TnIc deux résidus sérines adjacents qui peuvent être phosphorylés lors d'une stimulation β-adrénergique. Cette phosphorylation est probablement sous le contrôle de protéine kinase AMPcyclique dépendant. Ces résidus ne sont pas situés sur la région N-terminale des autres formes et ils confèrent à la TnIc un rôle probablement important dans la réactivité cardiaque à certains stimuli.

L'évolution particulière de l'expression des formes de TnI au cours de la vie foetale et de la période néonatale suggère un fonctionnement cardiaque différent chez le foetus de celui de l'adulte. En particulier, la forme TnIs ne présente pas le site de phosphorylation spécifique de la région N-terminale de la TnIc qui interviendrait au cours d'une stimulation β-adrénergique.(Mittamann et al., 1990) De plus, il a été noté que le switch de la troponine I correspond à une période où sont observées des modifications de certaines propriétés fonctionnelles du myocarde, en particulier au niveau de la sensibilité au calcium et au pH de l'appareil contractile. (Haider et Stimson, 1993)

3.4. Qualités immunes

Le dosage de la troponine Ic est un dosage immunologique qui va dépendre des différents anticorps existants. Le développement des anticorps anti-troponine Ic a débuté avec la découverte de l'augmentation du taux circulant de la troponine Ic concomitant de l'apparition de lésions cardiaques. (Cummins et al, 1983)

La troponine I a été exploitée pour le diagnostic de l'infartus du myocarde pour la première fois en 1987. Le premier ELISA a été conçu par Cummins et al en 1987, en utilisant des anticorps polyclonaux. Depuis, ceux-ci ont été remplacés par des anticorps monoclonaux spécifiques de la troponine Ic par Russell et al en 1989.

En 1990, Ladenson et al ont travaillé sur le développement et la mise au point

d'un test ELISA utilisant deux anticorps monoclonaux dirigés contre deux sites antigéniques éloignés l'un de l'autre sur la molécule de la TnIc, ce qui a permis d'améliorer considérablement la sensibilité et la spécificité du dosage. Le seuil de détection de la molécule dans le sérum est alors passé de 10ng/ml en 1983 à 1.9ng/ml en 1992.

Au cours des années 1990, le développement de nombreux anticorps monoclonaux spécifiques anti-troponine Ic a permis d'établir une carte épitopique de la molécule. (Larue et al, 1992) La région la plus stable a été située enfin entre les acides aminés 33 et 110 (Mair et al., 1993) et elle est, avec la région N-terminale de la troponine Ic, la cible des différents anticorps utilisés dans les trousses de dosages mises sur le marché.

C'est ainsi qu'actuellement de nombreux dosages sont disponibles sur le marché dont la sensibilité va varier selon le type d'anticorps et les types de révélation utilisés.

3.5. Stabilité

La dégradation de la troponine I peut apparaître dans les cellules myocardique au cours d'infarctus, avec la préservation de la tropomyosine et de la troponine T. Une dégradation protéique par des enzymes activées (la cathepsine) directement ou indirectement par certain stimuli, la diminution d'ATP, l'accumulation de lactate, l'élévation du pH et une redistribution des électrolytes dans la cellule sont considérés comme étant responsable de cette activation. En fait, le mécanisme de dégradation est peu connu actuellement.

Des études récentes contradictoires quant aux formes de troponine présentes au niveau du sang circulant montre que le catabolisme des troponines dans le sérum est complexe.

La forme "libre" de troponine I est libérée en petite quantité. Elle serait délicate à doser car elle correspond à la forme la plus sensible à la protéolyse sérique. Elle correspondrait à un contingent de cette molécule présente dans le cytoplasme des myocytes plus qu'à une partie du complexe de troponine libéré isolement par la myofibrille. (Haider et stimson, 1993)

Il existe également le complexe T-I-C dans le sérum. Ceci a été démontré par

une technique immunologique en sandwich utilisant des anticorps de spécificité différente pour le complexe troponine (Alan Wu et al., 1998).

La troponine I est libérée par la cellule de façon prédominante sous la forme de complexe binaire IC. La troponine C semble conférer à la troponine I une relative stabilité vis-à-vis de la catalyse sérique. Enfin, il a été mis en évidence des formes réduites , oxydées et mono ou bi phosphorylées de la troponine I, qui correspondrait aux premières étapes de la dégradation de la molécule dans le sérum.

3.6. Conclusion sur le plan analytique

L'ensemble de ces considérations pose le problème de l'interprétation des résultats du dosage de TnI qui ne sont pas toujours bien corrélés avec le contexte clinique. De nombreuses questions restent ainsi posées:

Quel est le comportement des anticorps anti-troponine I vis à vis de l' altération sérique de la molécule chez l'adulte et le foetus ?

Quelle serait l'anticorps anti-troponine I le plus judicieux en cas de sérum foetal en considérant le switch ?

Peut être un anticorps adapté au sang foetal est-t- il nécessaire, identifiant une molécule de Troponine I spécifique au coeur foetal ?

4. Variations préanalytiques

Le mode de prélèvement peut influencer le dosage. Le recueil de sang sur EDTA rompt les formes complexées de troponine et peut donc induire des résultats différents de ceux obtenus sur du sérum ou du plasma hépariné. La présence de particules de fibrine provenant d'une coagulation incomplète, ou celle de débris de membranes lorsque le sérum est hémolysé, peuvent gêner le lavage et engendrer des faux positifs. Ceci peut être évité en utilisant du plasma hépariné à la place du sérum, après une centrifugation suffisante.

Dans le sérum ou le plasma, la troponine Ic est stable environ 14 jours à +4°C, au moins 1 an à -20°C et plusieurs années à -80°C.

La TnIc s'oxyde par exposition à l'air en 5 heures . Cependant, les formes

Tableau N°10 : Valeur de référence de la TnIc selon huit trousses mise sur le marché

Fournisseurs	Automates	Seuil de détection (en ng/ml)	Valeurs de la population saine (en ng/ml)	Valeurs admises pour le diagnostic de l'infarctus du myocarde (en ng/ml)
Baxter Diagnostic	Stratus*	0,44	de 0 à 0,63	1,5
Behring	Opus*	0,33	inf. à 0,5	2
Behring	Dimension RxL*	0,05	inf. à 0,1	0,5
Sanofi Pasteur	Access*	0,03	de 0 à 0,07	0,1
Abbott	Axsym*	0,3	inf. à 0,5	2
Chiron	ACS 180*	0,15	inf. à 0,24	1,5
Bayer	Immuno1*	0,1		0,9
DPC	Immulite*	0,1		1

Tableau N°11 : Corrélations des techniques de dosage de TnIc
selon l'équation $Y = A \cdot X + B$
où X est la valeur des TnIc en ng/ml sur l'automate Stratus*
où B est l'ordonné de l'abscisse à l'origine
où A est le coefficient de régression
et où Y est la valeur de la TnIc sur différents automates
r est le coefficient de corrélation

Y (en ng/ml)	A	B	r
OPUS*	1,595	-0,377	0,92
Dim. RxL*	0,93	-0,29	0,98
Access*	0,0996	0,049	0,811
Axsym*	3,42	-1,09	0,851
ACS180*	1,03	0,084	0,94
Immuno1*	0,81	-0,41	0,96

oxydées et non oxydées sont reconnues de la même façon par les anticorps des trousses utilisées dans le commerce.

5. Les valeurs normales

Les valeurs seuils présentées dans la littérature sont variables selon la trousse de dosage utilisée. Par opposition aux autres marqueurs développés, les trousses ne sont pas standardisées. De par la réactivité différente de chaque anticorps spécifique et par les différents modes de révélation, le seuil de détection et les valeurs de référence s'expriment selon un ordre de grandeur propre à chaque trousse. Chaque trousse doit faire l'objet d'études clinico-biologiques poussées, afin que tous admettent leur standardisation. Dans cette optique, huit trousses sont présentées dans le tableau 10 et 11.

D'autres fournisseurs ont adapté des trousses de dosage de la TnIc. Cependant les seuils décisionnels et les valeurs de référence sont encore vagues dans la littérature pour être mentionnés ici.

Certains travaux ont cependant montré l'absence de standardisation du dosage par la mise en évidence de réactions croisées avec les différentes formes de troponine Ic des différents dosages actuellement disponibles sur le marché (Wu, 1998).

Aussi, la troponine Ic est libérée dans le sérum soit sous forme libre soit sous forme complexée à la troponine T (forme IT) ou à la troponine C (forme IC) ou les deux en même temps (la forme ICT). Cela induirait un biais sur la réactivité des anticorps spécifiques de la troponine Ic, bien que ceux-ci soient dirigés contre l'épitope situé entre le résidu 33 et 110 de la troponine Ic, considéré comme étant la plus stable.

Larue et al. en 1998 ont présenté leurs travaux concernant l'identification des multiples épitopes de la Troponine Ic reconnus par les différents anticorps mis sur le marché. Il a été ainsi établi une carte d'anticorps suivant leur déterminisme épitopique. La grande diversité épitopique de la TnIc est alors en défaveur d'une réactivité uniforme des couples d'anticorps utilisés dans les différentes trousses de dosage.

Par ailleurs, la réactivité de ces anticorps varierait probablement vis-à-vis du même épitope en fonction du degré de phosphorylation, de l'état d'oxydo-réduction

et de l'état de dégradation de la TnIc par différentes protéases sériques.

A cela s'ajoute une notion de libération lente de TnIc par les cellules myocardiques. En effet, une libération biphasique est admise par certains, une libération du pool cytosolique de la TnIc immédiate suivie de son relargage massif et progressif correspondant à la dégradation des myofibrilles (haider et stimson, 1993).

Suivant l'importance de la libération et de la dégradation, il est fortement probable que la réactivité des anticorps soit différente d'un fabricant à un autre.

Les sociétés savantes de biochimie ont soulevé ce problème.

Pour le résoudre, une règle proposée par certaines équipes est d'utiliser le premier test mis sur le marché américain pour réaliser les études cliniques, c'est à dire celui de Baxter Stratus*. Comme ceci ne semble pas réalisable, ces sociétés ont proposé de standardiser l'antigène, c'est à dire d'utiliser un complexe binaire IC synthétique comme matériel de référence pour développer les anticorps spécifiques.

Certaines équipes ont établi des facteurs de correction à appliquer aux différentes trousses de TnIc afin de retrouver les valeurs habituellement utilisées au niveau clinique : voir le tableau 11 de correspondance des tests de troponine Ic entre eux.

Selon Larue et al., en 1998, le seul moyen pour standardiser le test serait de sélectionner la paire d'anticorps la plus pertinente afin de reproduire une réactivité uniforme dans toutes les trousses du marché.

Comme cette solution n'est pas envisageable, il est recommandé d'utiliser toujours une même trousse choisie par rapport aux performances connues tant au niveau analytique que clinique. Il est également important pour ce dosage de ne pas changer de fabricant de façon répétée, car le clinicien pourrait se trouver dans une situation d'incompréhension vis-à-vis de l'interprétation des résultats du fait de la réactivité variable des différents tests. Il en découle qu'il faut comparer avec une grande prudence les résultats clinico-biologiques entre eux, utilisant des trousses de différents fabricants.

6. Interprétation de la troponine Ic

6.1. Dans le diagnostic de l'infarctus du myocarde

Les publications concernant ce sujet sont multiples et un choix arbitraire de certains articles nous a permis d'établir les quelques notions qui suivent.

La troponine Ic présente trois qualités principales qui sont une augmentation rapide du taux (4 heures aprés l'infarctus), avec une grande cardiospécificité et une "demi-vie" longue (6 jours).

Il a été démontré qu' un taux élevé de troponine Ic sérique est particulièrement bien corrélé avec la survenue d'un infarctus du myocarde (Waskievicz et al., 1995). Le seul faux-positif de cette étude est le cas d'un patient avec une cholécystite ayant un taux à 5.3ng/ml mais un CKMB en dessous du seuil de décision. Au cours de cette étude, le taux de troponine Ic a été réactif également à une péricardite, un angor instable et une lésion cardiaque, ce qui est en accord avec la cardiospécificité de la troponine Ic.

Une autre étude a montré la cardiospécificité de la troponine Ic supérieure à la CKMB chez des patients subissant une intervention chirurgicale orthopédique importante et qui présentaient une myoglobine élevée (Adams et al., 1993).

Elle a montré également une spécificité supérieure dans les situations cliniques complexes, comme pour des atteintes musculaires aiguës, pour des myopathies chroniques et pour des insuffisants rénaux.

La concordance est de l'ordre de 93% entre troponine Ic et CKMB chez des patients avec douleur thoracique d'origine non cardiaque. Dans ces cas contradictoires pour les deux dosages, la troponine Ic présente une plus grande spécificité. Chez les marathoniens, la troponine Ic n'est pas augmentée, contrairement à la CK et la CKMB, ce qui est un argument supplémentaire en faveur de la cardiospécificité de la troponine Ic

La troponine Ic a été étudiée chez les patients ayant subi une chirurgie non-cardiaque. En effet, la cause la plus fréquente de décès en période périopératoire est l'infarctus du myocarde. Selon les études, les décès d'origine cardiaque représentent de 36% à 70% des décès. La troponine Ic a présenté une spécificité supérieure par

rapport à la CKMB (dosage massique) avec une sensibilité identique, ce qui fait préférer la troponine à la CKMB dans ce cas (Adams et al., 1994).

Chez le patient avec précordialgie, sans modification de l'ECG, une élévation de la troponine Ic permet de dépister 100% des IDM en cours de constitution. A l'inverse, la sensibilité est variable selon la méthode de dosage et le délai entre le début des douleurs et le prélèvement. A titre indicatif, la sensibilité est de 100% quand le délai est supérieur à 12 heures, elle est de seulement 16% pour un délai compris entre 0 et 4 heures (Adams, 1996).

La précocité de la troponine Ic en cas d'infarctus du myocarde est considérée comme comparable à celle de la CKMB, soit 4 à 6 heures après le début des signes cliniques d'IDM, quelques soient les méthodes de dosage utilisées. Cependant, dans le cas de la technique Access*, l'élévation de la troponine Ic semble être plus précoce, en moyenne 3,5 heures après l'apparition des signes cliniques (Gaultier, 1998).

Par ailleurs, les performances de cette technique ont été étudiées chez des patients arrivés en unité de soins intensifs, avec suspicion d'IDM. Avec un ECG non typique d'un infarctus du myocarde, la troponine Ic sérique a été mesurée toutes les 2 heures. Il en a résulté une élévation significative de la troponine Ic, remarquable par sa précocité, soit 2 heures avant les premiers signes échographiques. Ceci confère à la troponine Ic un intérêt particulier pour le diagnostic d'infarctus intra-mural ou sous-endocardique.

Après un IDM, le pic sérique est particulièrement long compris entre la 10ème heure et la 24ème heure du début de la douleur et la normalisation se fait entre le 6ème et le 8ème jour après la nécrose ce qui lui confère un intérêt certain pour le diagnostic à posteriori (Larue et al., 1993).

6.2. Dans l'angor instable

La troponine Ic sérique est associée le plus souvent à l'existence de lésions responsables d'aspects angiographiquement complexes qui présentent un risque de complications majeures.

D'après les études actuelles dans le cas d'un syndrome coronaire aigu, l'élévation de la troponine Ic, pourtant inférieure au seuil diagnostic de l'IDM est

prédictive de sa survenue dans les 5 mois (Bertichant et al., 1997).

Il a été montré que l'élévation de la troponine Ic dans les 24 heures après l'admission à l'hôpital est un marqueur prédictif d'événements cardiaques majeurs au cours de l'hospitalisation (Gaultier, 1998). Une élévation de la troponine Ic est associée à une mortalité de 3,7% à 42 jours, contre 1% quand la troponine Ic est négative, avec une relation proportionnelle entre le taux sérique de troponine Ic et le taux de mortalité .(Hamm et al, 1997; Antmann et al, 1996).

Avec une troponine Ic normale, le risque d'événement majeur cardiaque dans les 30 jours est de 0,3%, ce qui est un indicateur permettant de limiter le nombre d'hospitalisations (Gaultier, 1998).

La troponine Ic permet alors de moduler la gravité des angors instables et de graduer la prise en charge thérapeutique en vue de prévoir l'apparition d'IDM.

6.3. Dans la chirurgie coronaire et cardiaque

A la suite d'une angioplastie, il a été montré qu'une élévation de la troponine Ic n'a pas de valeur péjorative, et ne modifie pas le devenir de ces patients. Contrairement aux autres marqueurs cardiaques, la troponine Ic n'est donc pas utilisée dans ces circonstances.(Bertinchant et al., 1998 a)

Dans le cas de reperfusion par thrombolyse d'un infarctus du myocarde, la troponine s'élève plus tardivement (12 h) que la myoglobine (3 h) qui lui est préférée pour cette raison (Fournis et al., 1996). Cependant, certains auteurs utilisent la troponine Ic dans le syndrome de reperfusion pour évaluer la taille de la lésion qui lui est corrélée (Gao et al., 1997).

Dans le cas de pontage coronarien, une étude fait ressortir une grande sensibilité et spécificité de la troponine Ic en considérant trois prélévements, le premier au moment de l'intervention, le second 12 heures après et le troisième 24 heures après. Des taux de troponine Ic supérieurs à 3,7ng/ml pendant le déclampage aortique, supérieurs à 3,1 ng/ml à 12 heures et supérieurs à 2,5 ng/ml à 24 heures sont prédictifs d'un infarctus du myocarde (Mair et al., 1994).

Ces quelques exemples montrent que la troponine Ic est devenue un outil précieux pour évaluer les nouvelles techniques chirurgicales sur le coeur. Ainsi, le choix des techniques de cardioplégie, nécessaires pour certains actes chirurgicaux est évalué grâce à la troponine Ic qui a permis de diagnostiquer des lésions minimes perchirurgicales (Pichon et al., 1997). Ces études ont été réalisées avec la technique Access*, développée par Sanofi Pasteur, qui semble présenter une grande sensibilité.

6.4. Dans d'autres circonstances

Dans le cas de polytraumatismes, la troponine Ic a été testée non seulement pour diagnostiquer un infarctus du myocarde franc mais aussi pour évaluer la présence de microlésions du myocarde. L' intérêt est alors de prévenir, grâce à ce marqueur, la survenue fréquente de troubles du rythme cardiaque à la suite de ces microlésions.

La troponine Ic a pris également une place importante dans la démarche diagnostique d'une contusion myocardique chez le polytraumatisé, la sensibilité et la spécificité est de l'ordre de 100% pour diagnostiquer une contusion (Bertinchant et al, 1998 b).

Enfin, il est à noter que la fenêtre de diagnostic est plus étroite dans le cas d'une contusion myocardique avec infarctus du myocarde, le pic se situant entre la 6ème et la 12ème heure, et se normalisant avant le 4ème jour.

A la suite d'un choc hypovolémique, le phénomène d'ischémie-reperfusion aboutit à un dysfonctionnement du coeur, ce qui nécessite, dans ces conditions, un monitorage cardiovasculaire clinique et biologique. La troponine Ic est ici relarguée de façon proportionnelle à l'ampleur de l'hypovolémie et présente une certaine valeur prédictive des défaillances viscérales ultérieures. Pour certains auteurs, la troponine Ic serait un indicateur de sévérité de l'agression myocardique liée au choc initial, justifiant un monitorage cardiaque prolongé (Edouard, 1998).

Dans le suivi des transplantations cardiaques, la troponine Ic peut également constituer un marqueur de rejet plus sensible que les données de l'histologie sur biopsie (Adams et al, 1994 a).

Enfin, au cours de la phase initiale de chocs septiques, une augmentation de la troponine Ic isolée avec ECG normal et CKMB normale a été rapportée. Elle semble être le témoin d'une lésion cardiaque rentrant dans le cadre d'un dysfonctionnement cardiaque global. Aucune corrélation n'a cependant été possible du point de vue du pronostic.(Estagnasie et al., 1998)

6.5. La TnIc et l'enfant

Les valeurs normales sont empruntées à celles de l'adulte (Hirsch et al., 1998). Un taux élevé de troponine Ic n'a jusqu'à ce jour jamais été décrit chez les enfants exempts de pathologie cardiaque. Dans le cas de stabilité hémodynamique au cours d'une cardiopathie non aiguë acquise ou d'une cardiopathie congénitale, cyanosante ou non, la troponine Ic n'est jamais augmentée (Hirsch et al., 1997).

L'intérêt d'un marqueur spécifique du myocarde chez l'enfant se porte sur des pathologies souvent différentes de celles de l'adulte. En effet, l'IDM par lésions coronaires est rare chez l'enfant. La nécrose myocardique survient le plus souvent à la suite d'un processus terminal de maladies malformatives ou dégénératives cardiaques. Ceux-ci incluent également les conséquences des traitements par anthracycline, ainsi que le maladie de Marfan et la rare maladie de Kawasaki.

En pédiatrie, la troponine Ic apporte des données intéressantes en période post chirurgicale. Une élévation de l'ordre de 10ng/ml à 3 heure après une opération d'évolution simple nécessitant une circulation extra-corporelle (CEC) ou après déclampage de l'aorte, apparaît le plus souvent. Le taux de troponine Ic est corrélé non pas au geste de chirurgie cardiaque lui-même, mais au temps de clampage aortique et au temps de shunt de la circulation cardiaque nécessaire à certains gestes, comme les gestes réparateurs de cardiopathie congénitale. La décroissance se fait lentement jusqu'à la 45ème heure. Il apparaît donc clairement que ce taux est corrélé avec la souffrance myocardique peropératoire. Un taux de troponine Ic inférieur à 9 ng/ml présage d'une bonne évolution. Par contre, si les taux sont plus élevés, le pronostic se

greffe d'un taux de mortalité élevée de l'ordre 67% (Mauriat et al., 1998). Le taux de troponine Ic dosé après 12 heures et 24 heures après une intervention chirurgicale sur le coeur est bien corrélé au devenir de l'enfant. La troponine Ic peut donc être utilisée dans les premières heures après une intervention sur une cardiopathie congénitale comme un indicateur pronostic (Hirsch et al., 1996).

Dans le cas de transplantation cardiaque en période néonatale, il a été prouvé qu'un taux supérieur à 3,1 ng/ml de troponine Ic chez l'enfant donneur du transplant était de mauvais pronostic pour le receveur. Dans ce cas, le transplant évoluait le plus souvent vers une lésion aiguë ou un rejet aigu aboutissant au décès de l'enfant si une autre greffe n'était pas possible (Hirsch et al., 1996).

Dans les traumatismes thoraciques, une élévation de la troponine Ic peut correspondre à une lésion myocardique qu'elle soit lésionnel, ou consécutive au traumatisme. La troponine Ic est un dosage clef pour le diagnostic de lésions franches du myocarde par rapport aux autres dosages comme la CKMB.

Dans le cas de lésions cardiaques minimes suite à un choc hypovolémique, un choc sceptique ou un traumatisme, les résultats des différents marqueurs sont contradictoires, en particulier du fait d'un manque de standardisation. D'autre part, l'élévation souvent modérée de la troponine Ic est difficile à interpréter du fait du manque de sensibilité de certaines techniques de dosage et de fourchette de valeurs de références chez l'enfant.

Une étude réalisée avec la technique Stratus* (Dade Behring) chez des nouveau-nés a permis de montrer que la troponine Ic était parfois élevée dans certaines circonstances. La TnIc est élevée dans plus de la moitié des cas alors que le reste du bilan biologique ne présente pas d'anomalie ou au contraire ,la présence d'un syndrome inflammatoire ou d'un ictère. Les valeurs élevées se répartissent entre 0,4 et 1,7 ng/ml. Les auteurs de l'étude avancent alors l'hypothèse que cette élévation du taux de la troponine Ic dans le sang du nouveau-né serait en rapport avec une souffrance myocardique foetale. Ces mêmes auteurs se posent également la question du devenir des nouveau-nés ayant présentés une troponine Ic élevée, vis-à-vis de la mort subite du nourrisson ou d'un éventuel infarctus du myocarde au cours de la vie de ces sujets (David et al., 1996;Hirsch et al., 1997).

Il a été noté sur le sang des nouveaux-nés, l'existence d'une élévation du taux de troponine Ic après un accouchement difficile (David et al., 1996). Le taux de troponine Ic et celui de la troponine T pourraient être également mesurés afin de localiser les dommages causés à l'enfant au cours d'une fin de grossesse difficile (Holleman et al., 1998). Enfin, des études préliminaires (Schroeder et al, 1999; Amboni et al., 1997) ont été réalisées sur le sang foetale in utero et au moment de la naissance, et ils ont montré qu'une augmentation du taux de la troponine Ic semble être indicatrice d'une souffrance myocardique ponctuelle associée à un syndrome hypoxique foetal.

En résumé, la troponine Ic n'est pas utilisée chez l'enfant pour le diagnostic d'IDM du fait de la rareté de la survenue de celui-là par insuffisance coronarienne. L'élévation de la troponine Ic est cependant vue dans des situations extrêmes, signifiant une souffrance du myocarde. En outre, l'élévation du taux de troponine Ic ne semble pas apparaître en situation de stabilité hémodynamique avec un coeur sain ou avec une cardiopathie acquise ou congénitale.

L'étude de la troponine Ic semble intéressante principalement dans deux circonstances. La première situation est une surveillance cardiaque post-opératoire, la deuxième étant la période néonatale.

Dans des situations post-opératoires, la troponine Ic peut rentrer dans les critères d'évaluation de l'état du coeur et du pronostic de l'enfant.

Des taux de troponine Ic ont été mesurés au décours d'accouchements difficiles. En tenant compte du taux de la troponine Ic dosé par des techniques sensibles, le diagnostic de souffrance aiguë et ponctuelle du nouveau-né semble être actuellement possible.

L'étude que nous nous proposons de présenter a pour but de confirmer cette hypothèse au niveau du sang de foetus prélevé in utero exclusivement.

PRÉSENTATION DE L'ETUDE

PRESENTATION DE L'ETUDE

Nous étudions les marqueurs de lésions tissulaires précédemment développés. Utilisés habituellement chez l'adulte pour le diagnostic de lésions cardiaques, ils nous intéressent chez le foetus pour savoir s'ils sont informatifs en cas de souffrance foetale hypoxique quand une ponction de sang foetal est pratiquée.

Nous avons ainsi l'activité CK totale avec ses isoformes et le dosage pondéral de la fraction MB d'une part et l'activité LDH totale avec ses isoformes d'autre part. Une protéine structurelle, la troponine Ic, est étudiée car indicatrice non seulement de la destruction de la cellule myocardique mais aussi, grâce à des techniques sensibles, de sa souffrance hypoxique.

Le but de cette étude est d'évaluer les performances de ces marqueurs chez le foetus comme critères de gravité et de pronostic dans les souffrances foetales. Ceci permettra d'apporter au clinicien un argument supplémentaire au cours de situations chroniques de pronostic imprécis quand une ponction de sang foetale est décidée.

Précisons ainsi le cadre nosologique de l'étude et plaçons ces marqueurs de souffrance tissulaire dans les contextes cliniques.

I. PRÉAMBULE : LA SOUFFRANCE FOETALE

(Tournie et al., 1993; Fournié et al., 1987)

1. Définition

La souffrance foetale chronique survient au cours des deux derniers trimestres de la grossesse. Elle affecte la vitalité, la croissance et la maturation du foetus in utero. Toute souffrance foetale chronique peut devenir subaiguë et/ou se terminer brusquement par une souffrance aiguë et une mort foetale in utero. Cette notion de progression lente est caractéristique de la souffrance foetale chronique.

2. Physiopathologie

Deux événements initiaux développent cette situation: le déficit nutritionnel et l'hypoxie

2.1. Le déficit nutritionnel

Il retentit sur le développement des organes et la croissance du foetus. Deux cas sont à considérer: la carence d'apport et les altérations du métabolisme cellulaire. La carence d'apport, qui apparaît tardivement, ne conduit qu'à un retard pondéral du foetus. Apparaissant tôt, cela aboutit à un retard pondéral et statural. Et lorsqu'il est sévère, le pôle céphalique est atteint. Quand les altérations atteignent le métabolisme cellulaire en cause, d'origine congénitale ou génétique, le retard de croissance est souvent précoce et important.

2.2 L'hypoxie

Elle est parfois due à une insuffisance des échanges materno-foetaux, entraînant chez le foetus une modification des conditions circulatoires, bien documentées par le Doppler. L'hypoxie développe deux conséquences. Une circulation préférentielle s'établit pour les organes nobles du foetus: le cerveau, le coeur, les surrénales et le placenta. Une diminution des apports sanguins se fait au niveau des autres territoires, due à une vasoconstriction. Cette réduction circulatoire entraîne une modification du métabolisme et l'utilisation de la glycolyse anaérobie, d'où demande accrue de glycogène provenant des réserves hépatiques, cardiaques et musculaires et rejet d'acide lactique dans la circulation avec acidose métabolique.

La chute du pH peut apparaître. Ceci est expliqué par le fait que le foetus ne possède que les systèmes tampons sanguins pour lutter contre les excès d'ions H+ non éliminés par le placenta, contrairement à un enfant ou un adulte qui modifie de surcroît l'hématose. Quand ces systèmes sont dépassés, le pH chute rapidement.

3. Conséquences cliniques

Une pathologie foetale chronique peut être dépistée en clinique par la mise en évidence d'un retard de croissance intra-utérin, qui est un signe tardif de souffrance foetale chronique en dehors d'anomalie chromosomique.Il est perceptible à partir de 28 semaines d'aménorrhée. L'examen clef en est la mesure de la hauteur utérine qui doit être faite par un praticien expérimenté. L'idéal, pour la fiabilité du dépistage, est la prise de cette mesure lors de deux ou trois consultations successives par le même opérateur. La cinétique de la croissance foetale peut alors être jugée. Ce diagnostic doit être conforter par l'examen échographique; car, dans certaines situations, l'examen clinique est insuffisant (obésité, hydramnios, dextro-rotation de l'utérus).

La réduction des mouvements actifs foetaux, résultat des pertes en glycogène et de l'acidose lactique, doit être évaluée en qualité et en quantité. Un contrôle régulier qui montre une diminution progressive des mouvements, traduit une souffrance foetale.

Le contrôle du rythme cardiaque foetal peut montrer des perturbations du tracé. Par exemple, un rythme non réactif ou à micro-oscillations constituent des signes en faveur d'une souffrance foetale. Un rythme plat, un ralentissement tardif du rythme après une contraction utérine spontanée sont des signes de gravité. Le signe d'extrême gravité est le tracé sinusoïdal.

4. Notions échographiques et vélocimétriques

(Robert et al., 1997; Bilardo et al., 1990; Cynober, 1995)

L'échographie nous apporte des renseignements précieux sur la morphologie et la biometrie du foetus, sur ses annexes et sur la quantité du liquide amniotique.

L'échographie permet d'établir la présomption d'une pathologie chromosomique par la mise en évidence de malformations caractéristiques. Elles sont un liquide amniotique insuffisant ou excessif et des malformations de l'appareil génito-urinaire, du coeur, du tube digestif, du système nerveux central, de la face et du cloaque.

Certaines anomalies échographiques peuvent également constituer des signes

de gravité d'un retard de croissance d'origine hypoxique ou métabolique.

Grâce à la biométrie en échographie, un retard de croissance in utero peut être confirmé ou infirmé. Habituellement, on oppose les défauts de croissance intra-utérin harmonieux et dysharmonieux. Les retards de croissance intra-utérins harmonieux représentent 25% des hypotrophies et sont considérés comme de mauvais pronostic car il existe un retentissement cérébral précoce. Les retards de croissance intra-utérins dysharmonieux, où la croissance de l'abdomen est la première atteinte représentent 75% des hypotrophies. Le pronostic foetal est meilleur car la croissance céphalique reste longtemps conservée; elle peut néanmoins s'infléchir tardivement en cas de souffrance foetale prolongée.

L'évaluation du poids corporel du foetus est établie de préférence avec le périmètre abdominal. Il permet d'avoir une idée sur l'importance du retard et sur l'état nutritionnel du foetus (Tchobroustsky, 1995), étant le reflet de la taille du foie et du tissu adipeux sous-cutané.

On suppose que la mesure des mouvements thoraciques, faite grâce à l'échographie, pourrait être un bon indice de souffrance surtout si on note des arrêts prolongés de ces mouvements. Les mouvements actifs sont contrôlés par l'échographie. La présence de mouvements lents est considérée comme un signe de gravité, de mauvais pronostic.

L'échographiste appréciera le pronostic du retard de croissance intra-utérin sur certains critères.

-le type de RCIU avec ou non l'altération de la céphalométrie

-la dynamique de croissance par deux examens successifs

-le défaut de liquide amniotique, facteur de gravité du RCIU

-l'aspect du placenta avec des images de nécrose plus ou moins calcifiées

-les malformations associées de grande valeur pronostic

-par le résultat de la vélocimétrie des différentes artères foetales

Le Doppler des vaisseaux est mis à contribution dans l'exploration d'une souffrance foetale. Il peut apporter un élément étiologique à une souffrance, comme pour l'insuffisance placentaire. La vélocimétrie des artères utérines et ombilicales est

ainsi étudiée. Pour une étiologie vasculaire de la souffrance foetale, on note habituellement un Doppler utérin pathologique et une vélocimétrie ombilicale normale ou perturbée. En cas d'anomalie foetale, seul le Doppler ombilical est anormal.

Enfin en cas de normalité des deux mesures Doppler, on évoque plutôt une cause constitutionnelle, en général modérée et de bon pronostic.

De nombreuses équipes s'investissent pour établir des corrélations entre les données que peuvent nous fournir les mesures du Doppler et le bien être du foetus. Les renseignements du Doppler sont de plus en plus précis et précieux. Par exemple, la diminution ou la disparition du flux diastolique ombilical, aussi mesuré par l'élévation de l'indice de Pourcelot, est en relation étroite avec l'hypoxémie. Il a été montré qu'il existe, associé à cette vélocimétrie,un pronostic péjoratif du foetus.

L'hémodynamique foeto-placentaire chez l'animal, étudiée au moyen du rapport cérébro-placentaire est particulièrement bien corrélée avec les variations de la PO_2 foetale. Ce rapport montre une sensibilité de 85% dans la prédiction du RCIU et des souffrances anoxiques foetales et néonatales (Arbeille et al., 1995).

Enfin, l'hémodynamique foetale est étudiée par un index Doppler aortico-carotidien considérant le degré de pulsatilité de l'artère carotide commune et la vélocimétrie au niveau de l'aorte thoracique descendante . Cette index est corrélé avec un autre index établi à partir des données du gaz du sang de la veine ombilicale du foetus, appelé l'index d'asphyxie. L'index d'asphyxie est défini par la formule suivante:

$$\text{l'index d'asphyxie} = -\Delta PO_2 + 1{,}43\,(\Delta PCO_2) - 180{,}2\,(\Delta pH)$$

Δ = variation entre la valeur normale de la valeur considérée par rapport à la valeur constatée

Cette étude montre un intérêt certain quant à l'évaluation d'une souffrance foetale hypoxique. En effet, tous les index Doppler normaux correspondaient à des gaz du sang normaux. Les index Doppler anormaux étaient corrélés à 60% à un index d'asphyxie supérieur de deux déviations standard au dessus de la moyenne et sont asphyxiés sévèrement. Le Doppler peut alors contribuer d'une part au diagnostic de souffrance foetale et d'autre part à l'évaluation de l'hypoxie de sa gravité et de l'acidémie foetale sans avoir à recourir à une ponction de sang foetal (Bilardo et al., 1990).

D'autre part, l'étude du flux des vaisseaux du foetus a permis de comprendre

Tableau n°12 : tableau des valeurs de référence de la gazométrie sanguine et de l'équilibre acido-basique chez 35 foetus sains(Berrebi et al., 1992)

	Méres			Foetus		
Périodes(SA)	pH	pH	pO2	pCO2	HCO3-	Saturation
20-34(n=35)	7.40+/-0.01	7.41+/-0.03	65+/-31	34+/-5	21+/-6	85+/-12
20-23(n=13)	7.40+/-0.01	7.41+/-0.03	72+/-29	31+/-4	19+/-2	89+/-7
24-27(n=11)	7.40+/-0.01	7.41+/-0.01	68+/-35	34+/-3	21+/-1	86+/-13
28-34(n=11)	7.41+/-0.03	7.42+/-0.04	49+/-18	39+/-5	26+/-9	78+/-13

la physiopathologie en cas d'hypoxie. Il est admis, en effet, que le foetus réagit à l'hypoxie chronique en préservant la circulation sanguine du système nerveux et du coeur, en réduisant celle du tractus intestinal, des reins et des extrémités inférieures. Il est admis également qu'à l'extrême d'une souffrance foetale chronique, le cerveau et le coeur peuvent être lésés.

5. Biologie actuelle de la souffrance foetale chronique

Cette biologie dépend de la voie d'abord du foetus. Le prélèvement du liquide amniotique par amniocentèse est intéressant pour déterminer l'index de Lilley avec lequel on peut apprécier une souffrance foetale (la présence de méconium ou hyperbilirubinamie). Avec la venue de nouvelles techniques permettant une ponction de sang foetal, le champ d'action s'est particulièrement élargi.

5.1. Données actuelles de la biologie foetale appliquées à la souffrance foetale

5.1.1. *Equilibre acido-basique et gaz du sang*

a) Valeurs normales (Berrebi et al, 1992)

On peut noter une stabilité dans le temps du pH. Par contre, au cour de la croissance intra-utérine, il existe une tendance à la réduction de la pO_2 et de la saturation en oxygène du sang ainsi qu'à l'augmentation de la pCO_2 et de la concentration en bicarbonate. Il faut remarquer qu'il existe une différence significative de la valeur normale de pO_2 entre l'équipe de Berrebi et celle de Daffos et Forrestier en 1988 qui trouvent une valeur de 50 mmHg+/-13 (tableau 12). De plus, la valeur retrouvée de la pO_2 est plus élevée que celle admise dans les traités de physiologie soit aux alentours de 30 mmHg.

b) Conséquences sur l'équilibre acido-basique

Certaines souffrances foetales aboutissent à des perturbations de ces paramètres. Il apparaît théoriquement d'abord une hypoxie, puis une hypercapnie et une acidose accompagnée d'une hyperlactatémie.

Etant admis que les ions H^+ sont éliminés uniquement par le placenta, une perturbation des échanges gazeux à ce niveau aboutit à une rétention de CO_2 et à une "acidose respiratoire".

Une acidose métabolique peut apparaître au cours d'une souffrance foetale chronique. Cependant, elle n'est le résultat que d'un phénomène au long cours. Elle fait suite à une hypoxie chronique qui modifie le métabolisme foetal avec redistribution vasculaire et production finale d'acide lactique par glycolyse anaérobie.

En fait, on admet qu'un équilibre acido-basique perturbé prend son origine au niveau du placenta par une détérioration des échanges gazeux. Enfin, le foetus apparaît comme un producteur d'acide lactique en cas de souffrance foetale chronique liée à l'insuffisance d'apport en oxygène (Kruger et al., 1998).

c) Rôle actuel décisionnel des gaz du sang

Au cours de la grossesse, sur le plan diagnostic, l'intérêt réside dans l'identification de foetus non hypoxique parmi les foetus pour lesquels les autres critères de gravité de la souffrance foetale n'apportent pas d'élément convaincant. La preuve apportée d'un foetus non hypoxique limitera l'hospitalisation et permettra d'envisager un sauvetage foetal.

Au cours du travail, des conduites à tenir ne considérant que le pH sont proposées dans certains cas (Hohlfeld et al., 1998).

-Un pH normal supérieur à 7,25 avec des troubles du rythme cardiaque foetal persistants amène le clinicien à contrôler le pH quelque temps après, afin de le confirmer.

-Un pH dit pré-pathologique compris entre 7,20 et 7,25 avec des troubles du rythme cardiaque foetal persistants impose, pour certains, l'extraction; sans trouble du rythme, un contrôle du pH est nécessaire.

-Un pH inférieur à 7,20 impose une extraction immédiate.

Avant les perturbations du pH, une acidose respiratoire, détectée par la

Tableau N°13: valeurs de référence de foetus sains à la naissance de la numération formule en fonction de l'âge de la grossesse
(Daffos et Forrestier, 1988)
(Orlandi et al., 1987)

Paramètres	20 à 23 SA (nombre de valeurs utilisées)	24 à 27 SA (nombre de valeurs utilisées)	28 à 34 SA(nombre de valeurs utilisées)
GB(10^3/µl)	3.7+/-0.9 (27)	3.9+/-0.8 (15)	5.1+/-1.3 (18)
GR(10^6/µl)	2.78+/-0.58 (27)	2.89+/-0.33 (15)	3.39+/-0.55 (18)
Hb(g/dl)	11.7+/-2.3 (27)	11.5+/-1.2 (15)	13.2+/-2.1 (18)
Ht(%)	34.2+/-7.1 (27)	33.9+/-3.5 (15)	38.5+/-6.0 (18)
VGM(µ^3)	123.2+/-7.1 (27)	117.6+/-4.4 (15)	113.0+/-6.2 (18)
Pl(10^3/µl)	195+/-57 (21)	228+/-52 (15)	209+/-47 (17)
Neu(%)	8+/-4 (25)	11+/-6 (15)	19+/-12 (17)
Eos(%)	2+/-2 (25)	4+/-2 (15)	4+/-4 (17)
Bas(%)	0+/-1 (25)	0+/-1 (15)	0+/-1 (17)
Lym(%)	81+/-5 (25)	79+/-8 (15)	69+/-13 (17)
Mon(%)	7+/-4 (25)	5+/-2 (15)	7+/-4 (17)
Erytroblaste (%)	20+/-17 (25)	7+/-4 (15)	4+/-3 (17)

Tableau N°14 : Valeurs de référence pour la numération et formule sanguine de foetus sains prélevés à la naissance entre la 20ème et la 34ème semaine d'aménorrhée sur 106 foetus (Berrebi et al., 1992)

Paramètres	Valeurs avec dérivation standard	Effectifs en foetus jugés sains
GB(10^3/µl)	4.2+/-1.2	60
GR(10^6/µl)	2.99+/-0.59	60
Hb(g/dl)	12.1+/-2.1	60
Ht(%)	35.4+/-6.4	60
VGM(µ^3)	118.9+/-7.4	60
Pl(10^3/µl)	208+/-54	53
Neu(%)	12+/-9	57
Eos(%)	3+/-3	57
Bas(%)	0+/-1	57
Lym(%)	77+/-11	57
Mon(%)	7+/-4	57
Erytroblaste(%)	13+/-15	57

gazométrie, définie par une pCO_2 augmentée avec un excès de base normal, semble être de meilleur pronostic pour le devenir de l'enfant que l'acidose métabolique.

La baisse du pH foetal est un indicateur tardif de la souffrance foetale et représente un facteur de mauvais pronostic et une urgence. Dans le cas d'une acidose importante, il faut se poser la question de l'extraction ou de l'abandon. Ainsi, certaines équipes comme celle de Nancy, prennent le seuil de décision à 7,2 en dessous duquel l'enfant doit naître à brève échéance, sous couvert d'absence de malformation grave, d'un caryotype foetal normal (Routiot, 1996).

Durant la phase d'accouchement, la gazométrie du sang foetal semble être un complément indispensable à l'anomalie du rythme cardiaque foetal pour évaluer l'asphyxie à la naissance. Elle permet d'éviter dans certains cas des césariennes inutiles en cas de diagnostic faussement positif de souffrance foetale.

L'intérêt pronostique de l'équilibre acido-basique pendant le travail est mis en cause. En effet, la baisse du pH semble être péjoratif pour le développement neurologique de l'enfant que lorsqu'il est inférieur à 7,05 (Dennis et al., 1989; Fee et al., 1990). Certaines équipes ont cependant montré que la notion de pH couplée à l'indice d'Apgar à cinq minutes de vie ne représente pas des indices fiables de l'avenir foetal et de son développement neurologique ultérieur (Ruth et Ravio, 1988).

5.1.2. *L'hématologie et la souffrance foetale*

L'hématologie ne présente actuellement qu'un intérêt dans la compréhension de la physiopathologie de la souffrance foetale.

a) Valeurs normales

Sur une population de 15 et 25 foetus normaux (Daffos et Forestier, 1988; Orlandi et al., 1987), des valeurs de référence pour la numération et la formule sanguine en fonction des semaines d'aménorrhée sont apparues dès 1988 (tableau 13). D'autres équipes sur 106 foetus jugés sains prélevés entre 20 et 34 SA, ont déterminé des valeurs de référence sans tenir compte de l'âge de grossesse (Berrebi et al., 1992) (tableau 14).

b) Notions à déduire actuellement

- *Sur la lignée rouge*

L'hémoglobine croît progressivement au cours de la grossesse, ainsi que l'hématocrite. Parallèlement, on peut noter une augmentation du taux d'érythropoïétine et en rapport à cette tendance. Cet état semble compenser une diminution progressive de l'affinité de l'hémoglobine avec l'oxygène. Il est à noter, également, la diminution du volume globulaire moyen probablement due à la diminution progressive et significative du taux d'érythroblastes.

En cas de souffrance foetale, le taux d'érythroblastes, sous l'influence de l'érythropoïétine, augmente proportionnellement au degré d'hypoxie foetale. Cependant, le taux d'hémoglobine, le nombre de globules rouges et l'hématocrite ne sont que faiblement augmentés. D'autre part, certains auteurs ont montré qu'en cas de souffrance foetale chronique avec flux diastolique nul, un hématocrite élevé de l'ordre de 50% était de meilleur pronostic périnatal qu'une hématocrite de l'ordre de 42%(car meilleur transfert de l'O_2) (Nicolini et al., 1990).

- *Sur les leucocytes et les plaquettes*

On note une augmentation significative de la concentration des globules blancs au cours de la grossesse. Parallèlement, les polynucléaires neutrophiles augmentent en nombre et en concentration alors que les lymphocytes ne diminuent qu'en concentration. Les taux de polynucléaires éosinophiles, basophiles, de monocytes ne se modifient pas, statistiquement parlant.

En cas de souffrance foetale, il est noté une leucopénie et une thrombopénie. Trois mécanismes ont été avancés pour expliquer cette évolution:

-D'abord un mécanisme direct avec un déficit en nutriment pourrait limiter la synthèse de ces éléments

-Une autre explication consiste à impliquer l'érythropoïétine qui dévie l'hématopoïèse vers la lignée rouge aux dépens des autres lignées

-Enfin, certains supposent la présence d'une coagulopathie de

consommation au cours d'une souffrance foetale.(Wilcox et al., 1989)

Certaines équipes ont montré la présence d'une leucocytose qui serait en rapport avec l'hypercortisolémie de stress en cas de souffrance foetale (Daffos et al., 1990).

Les études sont actuellement trop succinctes pour caractériser des critères de gravité. Cependant, l'hypoplaquettose est réputée être un facteur de mauvais pronostic (Sonek et Nicoides, 1994; Routiot, 1998)

5.1.3. *La biochimie et la souffrance foetale*

a) Paramètres étudiés

Pour définir le bien-être du foetus, certaines valeurs de référence apparaissent dans la littérature. Cette démarche est motivée par l'espoir de les appliquer dans l'avenir à une médecine anténatale. (tableau 13 et 14)

Parmi les paramètres exposés sur le tableau 13, il faut noter particulièrement les marqueurs de cytolyse comme les activités enzymatiques LDH et CK, qui rentrent dans le cadre de notre étude. La LDH a été étudiée au cours de souffrance foetale et s'est avérée être un très bon marqueur à la naissance, bien corrélée avec le taux de bicarbonates (Gozzo et al., 1998; Reberri et al., 1992).

- *Le statut hormonal*

Le statut hormonal a été étudié chez le foetus et peut expliquer le retard de croissance vu dans les souffrances foetales chroniques. L'IGF 1 est ainsi bien corrélée avec l'hypoxie. Etant produit par le foie, on suppose que la redistribution vasculaire au détriment des territoires mésentériques et hépatiques est l'élément initiateur de ce déficit (Price et al., 1992). Sur le plan thyroïdien, on note, parfois, un état d'hypothyroïdie bien corrélé à l'hypoxie et à une acidose foetale (Ville et al;, 1993) et qui pourrait être à l'origine de certains retards psychomoteurs des hypotrophes. Au niveau des hormones surrénaliennes, il est intéressant de noter un cortisol plasmatique dosable chez le foetus, donc augmenté, ainsi qu'une ACTH diminuée. Ceci est expliqué

également par la redistribution vasculaire qui privilégie les organes nobles tel que la surrénale. La diminution de l'ACTH, produite par le placenta serait expliqué par un défaut de perfusion du placenta (Economides et Nicolaides, 1989).

- *Sur le plan nutritionnel*

Sur le plan nutritionnel, la glycémie, les acides aminés et les triglycérides ont été étudiés. Il apparaît une hypoglycémie et cela semble être le résultat de plusieurs mécanismes, comme la réduction du flux placentaire, un transfert transplacentaire insuffisant et un métabolisme du glucose perturbé. Les taux d'acides aminés sont perturbés, parfois bas, parfois élevés selon l'élément considéré. Ils pourraient être le reflet d'une diminution de leur utilisation pour la synthèse de protéine, d'une destruction tissulaire et d'un phénomène de néoglucogénèse (Economides et Nicolaides, 1989; Ville et al, 1993). Les triglycérides semblent augmentés dans le sang foetal en cas de souffrance foetale, contrairement à l'état de bien-être. Deux mécanismes sont en cause, une lipolyse augmentée avec un apport nutritionnel insuffisant et une réduction de l'utilisation des triglycérides.

b) Pourquoi choisir les CK, les LDH et la troponine Ic ?

Toutes les perturbations décrites au cours de la souffrance foetale chronique font redouter une souffrance tissulaire.

La redistribution vasculaire se fait au détriment de tissus qui peuvent se détériorer. L'hypoxie conduit à un métabolisme anaérobie qui produit notamment de l'acide lactique et une acidose cellulaire.

De plus, les critères biologiques de la souffrance foetale explorent les voies du métabolisme énergétique foetal. Les marqueurs de lésions tissulaires représentent donc un aspect et un point de vue différent de la souffrance foetale prenant en compte l'état tissulaire du foetus.

En considérant la redistribution vasculaire, les organes nobles sont préservés au cours d'une souffrance foetale chronique hypoxique. Ce sont les reins, les surrénales, le coeur et le cerveau. Les tissus moins perfusés sont représentés par les

membres et les territoires mésentériques avec le foie.

Nous pensons ainsi que de déterminer un marqueur fiable, spécifique d'un des organes nobles, le coeur, pourrait nous apporter un critère de gravité et de pronostic quant à la survie du foetus. Ce sont des marqueurs qui pourront compléter, avec leurs limites, la gazométrie du sang foetale, la lactatémie et d'autres critères dans l'évaluation de l'état de santé du foetus.

II. MATÉRIEL ET MÉTHODE

1. Aspects méthodologiques et limites de l'étude

1.1. Position actuelle de la biologie du foetus au point de vu pratique

Il est des pathologies évidentes et indiscutables comme les malformations cardiaques ou les tumeurs cérébrales. En revanche, il est impossible de définir de manière simple et objective la souffrance foetale. Il en va de même pour le bien-être foetal. On a donc recours à une série de critères dont la multiplicité rend bien compte de l'imperfection.

Ce sont d'abord des critères à long terme. Ces critères sont l'hypotrophie foetale utilisant le diagramme de Lubchenko ou les courbes de Leroy-Lefort, la dépression néonatale évaluée par le score d'Apgar et les séquelles psychomotrices au cours de la croissance de l'enfant.

Ce sont, plus récemment, des critères de biométrie clinique et échographique, des critères de vélocimétrie-Doppler. Actuellement, le diagnostic de souffrance foetale est de plus en plus assuré grâce à de nouvelles interprétations échographiques et vélocimétrique.

La biologie n'apparaît ainsi plus nécessaire en première intention pour le diagnostic de souffrance. Par contre, elle joue un rôle fondamental dans l'appréciation du degré de gravité de la souffrance foetale.

1.2. Particularité de la biologie foetale : Le foetus normal

La ponction de sang foetal comporte un risque évalué à 1% de mort foetale in utero. C'est donc un acte mûrement réfléchi et décidé en accord avec les membres d'une commission multidisciplinaire qui évaluent les éventuelles conséquences et bénéfices attendus. Un foetus sain ne devrait pas, dans ces conditions, bénéficier de ponction de sang foetal.

Cependant, certains foetus pourraient être sélectionnés et dénommés sains, c'est à dire sans souffrance foetale, de façon rétrospective selon plusieurs critères:

Tous les foetus sains devraient impérativement répondre à des critères classiquement utilisés aujourd'hui, choisis dans différentes disciplines médicales.

Le poids de naissance, la biométrie échographique et les courbes de poids en fonction de l'âge de naissance, établies par Lubchenko, peuvent être utilisés.

Certains indices d'échographie et de Doppler peuvent être un critère de sélection.

L'absence de dépression néonatale (gaz du sang, score d'Apgar recueillis à la naissance) et les données anatomopathologiques du placenta peuvent être prises en compte.

Les critères pris en compte sont ainsi multiples.

Cependant, pour chaque cas de l'étude présentée, certains critères sont mentionnés et d'autres non.

Il existe de plus un biais au niveau du recrutement de la population. En effet, il existe une sélection au niveau des patientes de la maternité, qui n'est pas celle de l'ensemble de la consultation de gynécologie et obstétrique de ville. Il y a ,en plus, et surtout, une sélection clinique et paraclinique des foetus à prélever. Le couple mère-enfant présente sans ambiguïté un point d'appel qui nous semble important à considérer pour être extrêmement prudent quant à la sélection de foetus dit sain.

Nous avons donc choisi d'aborder notre étude sans considérer la notion de population de foetus normal.

Quelques foetus pourraient cependant répondre à ces critères.

Il existe, en effet, dans notre étude, deux foetus qui nous semblent proches de

Tableau N°15: Valeurs de deux foetus, l'un sans anomalie génétique et l'autre sans infestation comparer à des Valeurs de référence à la naissance recueillies dans la littérature.
(Pantegini, Gozzo, Chemnitz)

.

	Suspicion de trisomie 21	Suspicion de toxoplasmose congénitale	Valeurs de référence recueillies dans la littérature
TnIc en ng/ml	0.02	0.02	(<0,03)
CKMB act. en % de CK totale	16	18	4,2±1,5
CK totale en UI/L	59	85	208±92
LDH totale en UI/L	466	464	664±409
PpO2mmHg		14.4	65±32

l'état de bien-être foetal. Ce sont des foetus qui ont eu une croissance foetale normale, un caryotype normal, une naissance à terme par voie basse et une évolution néonatale sans problème. Les motifs de prélèvement foetal sont :

-un facteur de risque élevé de trisomie 21

-une sérologie de toxoplasmose qui a conduit à la recherche d'ADN spécifique sur un échantillon foetal.

(Toutes ces recherches sur sang foetal se sont avérées négatives)

Sur le tableau 15, les valeurs retrouvées pour ces deux cas particuliers sont présentées ainsi que les valeurs de référence en néonatalogie sur sang de cordon ombilical. La valeur des résultats trouvés pour ces foetus sont à l'appréciation du lecteur.

1.3. Entre l'analyse globale et celle au cas par cas

Le recrutement est dépendant de la ponction de sang foetal effectuée chez le foetus et donc du motif de ce geste. Il existe ainsi quatre motifs principaux qui ont conduit à aller chercher cette voie d'abord. Ce sont l'exsanguinotransfusion au cours d'une alloimmunisation foeto-maternelle, l'étude génétique du foetus (caryotype et recherche de maladie familiale), recherche d'agent infectieux chez le foetus et le foeticide dans l'ITG.

Nous ne disposons ainsi que d'un groupe de foetus très disparat quant à l'origine des anomalies initiales, quant au degré de l'atteinte et quant au prélèvement par rapport à la prise en charge thérapeutique.

Cependant, la mise en évidence d'une souffrance hypoxique du myocarde semble maintenant accessible théoriquement chez le foetus grâce au dosage de la Troponine Ic. En pratique, est-ce vérifié ? Quel en est son intérêt pronostic ?

Pour y répondre, l'étude se divise en deux partie. L'une, globale, pour rechercher si les paramètres étudiés sont sensibles à un état d'hypoxie sévère et l'autre, au cas par cas pour montrer l'intérêt pronostic de rechercher la troponine Ic.

C'est sur ces deux approches que l'étude s'appuie.

directe de l'agent causal. Les pathologies incriminées sont actuellement la toxoplasmose, la rubéole, la varicelle, le CMV et le parvovirus B19 responsables d'infection materno-foetale aux conséquences importantes pour le foetus.

Les autres indications sont dominées par les diagnostics, les traitements et les suivis de l'incompatibilité sanguines foeto-maternelles.

Le foetus est devenu également un sujet d'application de la pharmacologie et de la thérapeutique.

La cordocentèse n'a pas été envisagée jusqu'à présent pour le diagnostic d'une souffrance foetale chronique et aiguë. Le contexte clinique, l'échographie et le doppler sont, grâce aux récents progrès, suffisants pour cela.

Cependant, la cordocentèse représente une voie d'abord directe sur le foetus. L'étude de la biochimie foetale nous permet, ainsi, de mieux comprendre la physiologie du foetus et, surtout, d'établir d'éventuels critères supplémentaires de gravité et de pronostic d'une souffrance foetale chronique, quand la ponction de sang foetal est décidée.

2.2. Technique de prélèvement et qualité de l'échantillon

2.2.1. *Technique de ponction du sang foetal*

(Daffos et al., 1989)

L'ensemble des étapes techniques sont effectuées avec de grandes mesures d'asepsie.

La procédure débute par une échographie détaillée du foetus et de ses annexes. La position du foetus est étudiée et le cordon est repéré, analysé pour déterminer une zone stable qui deviendra le site de ponction.

L'aiguille est introduite par voie trans-abdominale, en évitant un passage transplacentaire. L'aiguille est suivie dans sa progression par l'échographie.

La quantité de sang prélevée dépend du terme de la grossesse. Par exemple, à 20 semaines d'aménorrhée, 2 à 3 ml peuvent être prélevés. Deux notions antagonistes doivent être en fait à l'esprit de l'opérateur :

Une quantité minimale de sang est nécessaire aux dosages

prescrits.

Une petite quantité est souhaitée pour limiter le retentissement sur le foetus.

Le site de ponction est le plus souvent l'insertion du cordon sur le placenta. L'intérêt de ce site est la stabilité du cordon. Cependant, l'insertion du cordon n'est pas toujours accessible. Dans ce cas, l'opérateur pique sur une anse libre du cordon ou sur l'insertion ombilicale du cordon (Sonek et Nicolaides, 1994).

L'équipe de la maternité régionale de Nancy préfère prélever sur anse libre. L' avantage est certain. La fiabilité est accrue par l'absence de contamination par le sang maternel. De plus, le risque de retentissement foetal est moindre qu'avec les autres techniques de prélèvement.

Le prélèvement se fait au niveau de la veine ombilicale qui est plus facilement différenciée à l'échographie, ayant un calibre supérieur à celui de l'artère. En outre, le spasme artériel, très facilement déclenché au contact de l'aiguille, est le principal motif pour éviter l'artère.

Les inconvénients sont constitués par le fait que la technique est plus délicate nécessitant un opérateur entraîné. L'aiguille est assujettie au mouvement du foetus et la ponction est obligatoirement trans-amniotique, ce qui expose au risque d'une hémorragie intra-amniotique.

2.2.2. *Qualité de l'échantillon*

Pour l'étude biochimique d'un prélèvement foetal, deux tubes secs d'une contenance de 1 ml sont remplis à raison de 0.3 ml au minimum chacun. Les tubes sont immédiatement acheminés dans la glace au Laboratoire Central de Biochimie du CHU de Nancy, qui a été prévenu au préalable. Les analyses sont faites immédiatement, sans conservation.

Techniquement, tout est mis en oeuvre pour aboutir à des dosages de la plus grande qualité.

La pureté du sang foetal doit être analysée pour limiter les artefacts pré-analytiques et afin de s'assurer de la fiabilité les explorations biologiques. Tout manquement à ce contrôle de qualité est à proscrire. Le but est de répondre à deux

questions:

- Y-a-t-il eu contamination par le sang de la mère?

- Y-at-t-il eu contamination par le liquide amniotique?

Dans le cadre de notre étude, l'absence de contamination par le sang de la mère est assurée par le mode de prélèvement sur anse libre.

Pour évaluer une contamination par le liquide amniotique, le prélèvement doit être en partie placé en milieu EDTA afin de détecter une dilution par la réalisation d'une numération sanguine.

Le prélèvement est analysé dans le service de gynécologie par un cooxymètre qui évalue la pression partielle en oxygène, la saturation de l'hémoglobine et le taux d'hémoglobine.

Le reste de l'échantillon est transporté dans un microtube sec, bien fermé et placé dans de la glace pour les analyses de biochimie.

3. Les méthodes de dosage

Au laboratoire, le prélèvement est centrifugé à 1000g pendant 10 minutes pour séparer le sérum des éléments figurés du sang, afin de l'analyser sur les différents postes de biochimie.

Pour étudier les différents marqueurs de notre étude, le sérum foetal passe successivement sur trois postes différents et n'est pas fractionné pour éviter la perte de liquide à analyser.

La première étape se fait sur un automate de biochimie (WAKO 30R, Biochem. Immuno System, France) qui permet l'analyse de l'activité enzymatique des CK totales, LDH totales et CKMB.

Puis, le sérum est dirigé vers un automate d'immunoanalyse (Access*, Sanofi Pasteur, France) qui permet le dosage de la troponine Ic et le dosage pondéral de la CKMB.

Enfin, une dernière fraction du sérum est utilisée pour l'électrophorèse des LDH sur automate (Cardiorep*, Helena, France).

3.1. L'activité LDH totale, CK totale et la CKMB activité

L'automate utilisé est un WAKO 30R couplé à un système informatique de validation technique et relié selon un mode bidirectionnel avec le système informatique du laboratoire. La validation technique des dosages se fait au niveau de l'informatique couplée à l'automate à l'aide de contrôles de qualité adaptés. Les activités enzymatiques sont mesurées grâce à des techniques colorimétriques. Les méthodes employées sont celles recommandées par la DGKC à 37°C pour la CK et CKMB et par la SFBC pour la LDH.

L'activité CK totale est dosée grâce à une trousse commercialisée par Biomérieux*. Cette trousse se présente sous la forme d'un test monoréactif et utilise une méthode spectrophotométrique. Le calcul nécessaire à l'obtention du résultat s'effectue selon un mode cinétique, en suivant pendant la réaction chimique, la disparition du $NADP^+$ à 340 nm de longueur d'onde. La vitesse de disparition du $NADP^+$ est alors proportionnelle à la concentration de CK totale. La technique utilisée recommande des valeurs usuelles chez les adultes, inférieures à 190 UI/l.

L'activité LDH totale est réalisée grâce à une trousse fournie également par Biomérieux*. Il s'agit d'une trousse monoréactif qui utilise une méthode spectrophotométrique. Le calcul nécessaire à l'obtention du résultat s'effectue selon un mode cinétique, en suivant pendant la réaction chimique la disparition du $NADH/H^+$ à 340 nm de longueur d'onde. La vitesse de disparition du $NADH/H^+$ est alors proportionnelle à la concentration de LDH totale. La technique utilisée recommande des valeurs usuelles chez les adultes comprises entre 210 et 410 UI/l.

L'activité CKMB est réalisée également avec une trousse Biomérieux*. La réaction chimique et le mode de dosage est identique à la CK totale. Seule une étape supplémentaire d'immunoinhibition de la fraction M au moyen d'un anticorps monoclonal anti M précède la mesure de l'activité CK résiduelle. L'activité liée à la fraction BB de la CK étant négligeable, l'activité CK résiduelle qui est dosée, est liée à la fraction B de la CKMB et multipliée par 2 pour obtenir le résultat final. La technique utilisée recommande des valeurs usuelles chez les adultes, inférieures à 5% de l'activité CK totale.

Les prises d'essai sont de 5 µl pour le dosage des LDH, 6µl pour le dosage des

CK et 15 µl pour celui de la CKMB activité. Le volume mort est relativement important, bien qu'il soit minimisé grâce à des godets adaptés.

3.2. Le dosage pondéral de la CKMB et la troponine Ic

Ces dosages sont réalisés selon des techniques immunoenzymatiques sur l'automate de type Access* (Sanofi*, Pasteur).

Il s'agit un appareil multiparamétrique utilisant des réactions immunoenzymatiques de type sandwich sur particules magnétiques, qui mesure une chimioluminescence à l'aide d'un luminomètre. L'appareil mesure la luminescence du substrat transformé (Dioxétane-P*) par un conjugué (phosphatase alcaline) prenant en sandwich la molécule à doser, avec un anticorps spécifique fixé à une phase solide aimantée. Le calcul de l'appareil tient compte d'un mode cumulatif des photons émis. La taux de l'échantillon est déterminé au moyen d'une courbe d'étalonnage multi-points qui est en mémoire (établie à l'usine, réajustée et contrôlée périodiquement au laboratoire).

La prise d'essai est de 20µl pour le dosage pondéral de la CKMB et de 50 µl pour celui de la troponine Ic.

3.2.1. *Le dosage pondéral de la CKMB*

Les anticorps utilisés sont de deux types :

Les anticorps fixés à la phase solide sont des anticorps anti-fraction B humaine spécifique d'origine murine. Les anticorps conjugués (phosphatase alcaline) sont ici dirigés contre l'ensemble des fractions MB.

Le sérum et ses composants réagissent dans un premier temps avec les anticorps de la phase solide dans la cupule. Après lavage, le conjugué est ajouté dans le milieu réactionnel et va réagir avec les CKMB fixés par les anticorps de la phase solide. La phase solide avec le milieu réactionnel est ensuite lavé pour éliminer tous les constituants non fixés. Le substrat enfin ajouté devient chimioluminescent par transformation enzymatique. La quantité de lumière émise est mesurée par un luminomètre et donne, par une courbe étalon, une concentration massique de CKMB

dans l'échantillon. Le résultat est obtenu au bout de 15 minutes et est exprimé en ng/ml de CKMB. Le seuil de sensibilité est de 0,3 ng/ml. La linéarité du test est assurée jusqu'à 300 ng/ml. La réaction croisée avec les autres isoformes CKMM et CKBB sont respectivement de 3,1% et de 8% ce qui est meilleur que le dosage de l'activité CKMB. De plus, l'avantage de ce test est l'absence de réaction croisée avec l'adénylate kinase et les macroCK. La technique utilisée recommande des valeurs usuelles chez les adultes, inférieures à 6 ng/ml.

3.2.2. *La troponine Ic*

Le dosage de la troponine Ic sur l'Access* se fait également par une technique en sandwich en une étape. Il utilise une technique immunoenzymatique chimioluninescent à particules paramagnétiques. Les anticorps utilisés sont d'une part l'anticorps 11E12 qui reconnaît le résidu 27 à 36 de la portion N-terminale spécifique de la TnIc et d'autre part l'anticorps 8E1 qui reconnaît la partie centrale de la molécule (151 à 160). L'anticorps 11E12 associé à l'activité enzymatique phosphatase alcaline constitue le conjugué. L'anticorps 8E1 est fixé sur les particules magnétiques.

Le dosage de la troponine Ic sur sang foetal présente la particularité d'être effectué sur sérum qui est dans ce cas conservé dans de la glace.

Le seuil de sensibilité est pour cette trousse de 0,03 ng/ml. La limite de linéarité est de 50 ng/ml. Le risque d'effet crochet est considéré nul jusqu'à un taux de 600 ng/ml.

La valeur de référence chez l'adulte, est inférieure à 0,07 ng/ml. Le seuil de décision est actuellement fixé à 0,1 ng/ml pour un infarctus du myocarde. Cependant, une valeur comprise entre 0,07 et 0,1 ng/ml est un élément qui semble corrélé à une souffrance cardiaque hypoxique, et devra être vérifié par un deuxième prélèvement 1 à 2 heures après.

3.3. Les isoformes des LDH

Les isoformes de la LDH sont séparées par une électrophorèse et sont révélées

grâce à une réaction colorimétrique spécifique de la LDH.

Le matériel utilisé comprend un générateur de courant continu et une cuve d'électrophorèse qui comprend un support de gel et un compartiment qui reçoit le tampon de migration. Le gel utilisé est un gel d'agarose à 1% dans un tampon barbital à 1,5%, contenant 0,1% d'azide de sodium.

Le volume nécessaire de sérum pour l'électrophorèse est de 1 µl. Après le dépôt de sérum sur le gel, la migration des isoformes dans le gel s'effectue à 200 Volts pendant 30 minutes.

La réaction de coloration est ensuite appliquée pendant 30 minutes. Il s'agit d'une méthode de révélation colorimétrique qui utilise le nitrobleu de tétrazolium. La coloration est ensuite fixée et le gel séché.

Les bandes ainsi obtenues sont ensuite intégrées au moyen d'un système d'analyse d'images Biorad* et du logiciel Molecular Analyst* en analysant les variations de la densité optique de chaque bande, mesurée à 600 nm.

La technique utilisée recommande des valeurs usuelles chez les adultes, des 5 isoformes :

LDH1 :15 à 31%

LDH2 :26 à 40%

LDH3 :18 à 36%

LDH4 :4 à 14%

LDH5 :4 à 19%

4. Outils statistiques employés

4.1. Statistiques descriptives

L'analyse qualitative et quantitative de la population permet d'établir la répartition des foetus selon leur anomalie prédominante et leur devenir.

4.2. Les corrélations

Les relations entre les marqueurs biologiques ont été cherchées par des tests de

coefficient de corrélation. On a réalisé une analyse en composante principale afin de visualiser les relations potentielles entre les marqueurs biologiques.

Les relations entre les marqueurs biologiques et le moment de la ponction de sang foetal ont été recherchées par des tests de corrélation. Celles, entre les marqueurs biologiques et la dépression foetale, ont été recherchées par un test de Kruskall-Wallis. Celles, entre les marqueurs biologiques et le sexe du foetus , ont été recherchées par un test de Mann-Witney.

La comparaison entre les dosages et la souffrance foetale, par ses étiologies, et la malformation cardiaque a été recherchée par un test de Mann-Witney.

Enfin, l'environnement informatique se compose du logiciel Exel*, Quattro* et BMDP*.

Tableau N°17 : Corrélation des 12 paramètres entre eux (tous foetus confondus)

Corréler à	CK totale	CKMB act.	CKMB Mas.	TnIc	LDH totale	LDH 1	LDH 2	LDH 3	LDH 4	LDH 5	Pp O_2
CK totale	×	●	●	●	●						
CKMB activité	●	×	●		●						
CKMB masse	●	●	×	●							
TnIc	●		●	×	●						
LDH total	●	●		●	×						
LDH1						×	●	○	○	○	●
LDH2						●	×		○	○	●
LDH3						○		×		●	●
LDH4						○	○		×	●	○
LDH5						○	○	○	●	×	○
PpO_2						●	●	●	○	○	×

Aucune corrélation n'est mis en évidence entre le rapport LDH1/LDH2 et les 11 autres paramètres

●: corrélation(avec un $p< 0.05$) avec un coefficient de corrélation positif
○: corrélation(avec un $p< 0.05$) avec un coefficient de corrélation négatif

Tableau N°16 : Statistique descriptive de 12 paramètres mesurés le plus souvent de l'étude (dont la PpO2)

Paramètres	Effectifs (n)	Valeurs minimum	Valeurs maximum	Moyennes	Ecart-types	Médianes
CK totale en UI/l	114	14	4120	233.3	586	103
CKMB activité en UI/l	99	10	336	28.2	36.2	18
CKMB pondérale en ng/ml	33	0	80	10.1	14.4	5.7
Troponine Ic en ng/ml	109	0.01	29.8	0.73	3.55	0.02
LDH totale en UI/l	104	259	11010	982	1529	534
LDH 1 en %	48	8	30	18.3	5.4	18.5
LDH 2 en %	48	12.5	39.3	29.9	5.9	31
LDH 3 en %	48	16.8	50	29.3	7.5	27
LDH 4 en %	48	2.2	34.5	13.1	7.3	11.9
LDH 5 en %	48	0	36.5	10	6.4	9.8
Rapport LDH1/ LDH2	48	0.38	1.02	0.61	0.13	0.64
PpO_2 en mmHg	47	2.1	31	14.2	7.45	12.8

III. RÉSULTATS

1. Descriptions et répartitions de nos marqueurs cardiaques

Les données statistiques globales de douze paramètres sont présentées dans le tableau 16, tous foetus confondus. Il s'agit de la troponine Ic, la CK totale, la CKMB activité, le dosage pondéral de la CKMB, la LDH totale, celui de ses isoformes (LDH1, LDH2, LDH3, LDH4, LDH5), le rapport LDH1/LDH2, et, pour indication, la pression partielle en O_2.

Pour tous ces paramètres, nous donnons les effectifs des populations étudiées, le minimum, le maximum des valeurs rencontrées, la moyenne, la dérivation standard et la médiane.

Il est utile de noter que les dosages n'ont pas tous été faits sur chaque prélèvement. Ceci constitue un biais statistique dans l'étude présentée. Certains dosages comme le dosage pondéral de la CKMB, semblent difficile à exploiter du fait du nombre réduit de foetus (33) sur lesquels ce dosage a été effectué.

Nous remarquons, au niveau de la distribution des valeurs, qu'il y a un domaine relativement large dans lequel se placent celles-ci. Des écart-types importants par rapport aux moyennes ainsi que les moyennes différentes des médianes semblent présager d'une répartition complexe des valeurs des paramètres. Ceci est vrai pour la troponine Ic, la LDH totale et les CK.

Les isoformes de la LDH ainsi que le rapport LDH1/LDH2 semblent être caractérisés par une relative constance et semblent faire partie de notions différentes.

2. Corrélations entre les différents marqueurs

2.1. Tableaux de corrélations

Tous les paramètres sont d'abord étudiés entre eux. L'ensemble des foetus sont pris en compte et les corrélations se font deux à deux. Les résultats sont présentées dans le tableau 17.

La corrélation est acceptée lorsque le risque (p) optimisé est inférieur à 0,05 et

Tableau N°18 : Corrélations des paramètres de façon détaillé détaillées

Corrélations	Nombre de foetus(n)	Ordonné à l'origine(b)	Facteur de corrélation(a)	Coefficient de corrélation(R)	Risque(p)
PpO2 / LDH1	14	12	0.39	0.54	0.04
PpO2 / LDH2	14	23	0.5	0.615	0.019
PpO2 / LDH3	14	22	0.61	0.64	0.014
PpO2 / LDH4	14	20.3	-0.64	-0.68	0.007
PpO2 /LDH5	14	25	-1.16	-0.684	0.014
TnIc / LDH totale	90	-0.404	0.000812	0.611	< à 0.001
TnIc /CK totale	102	-0.403	0.0035	0.975	< à 0.001
TnIc / CKMB mas.	31	0.04	0.12	0.454	0.01
CK totale / CKMB act.	97	36.47	4.22	0.668	< à 0.001
CK totale / CKMB mas.	32	69.49	7.63	0.94	< à 0.001
CKMB mas. / CKMB act.	29	13.45	1.397	0.798	< à 0.001
LDH/ CKMB activité	84	319.04	19.9	0.29	0.007
LDH/ CK totale	97	602.35	1.63	0.602	< à 0.001
LDH1 / LDH2	48	-1.43	0.66	0.712	< à 0.001
LDH1 / LDH3	48	24.27	-0.205	-0.284	0.05
LDH1 / LDH4	48	25.037	-0.52	-0.7	< à 0.001
LDH1 / LDH5	48	21.177	-0.313	0.375	0.011
LDH2 / LDH4	48	38.69	-0.628	-0.785	< à 0.001
LDH2 / LDH5	48	34.26	-0.47	0.5	< à 0.001
LDH3 / LDH5	48	34.7	-0.61	-0.55	< à 0.001
LDH4 / LDH5	48	9.45	0.42	0.365	0.014

NB: valeurs de l'axe des abscisses X a + b = Valeurs de l'axe des ordonnées

Les paramètres sont corrélés lorsque p est inférieur à 0,05.

le sens de la corrélation est précisé.

Les caractéristiques de la corrélation sont détaillées dans le tableau 18.

On y trouve le nombre de foetus présents pour le calcul de corrélation. Les données de la droite de corrélation y sont mentionnées ainsi que le coefficient de corrélation avec le risque calculé.

2.2. Analyse des données du tableau 19 et 20

Il est important de constater que nous travaillons sur deux domaines qui semblent bien distincts.

En effet, toutes les isoformes sont corrélées entre elles, sauf la LDH3 avec la LDH2 et la LDH3 avec la LDH4. Les coefficients de corrélation sont positifs entre la LDH1 et 2, et entre la LDH4 et 5. Ils sont négatifs entre LDH1 et 5, entre LDH1 et 4, entre LDH2 et 4 et enfin entre LDH2 et 5. L'état d'oxygénation du sang de la veine ombilicale est corrélé avec chaque isoforme de la LDH. Plus la pression partielle en oxygène est élevée, plus les isoformes 1, 2 et 3 prédominent sur les isoformes 4 et 5 et inversement.

Les marqueurs de lésions tissulaires sont, ici, isolés des isoformes de la LDH ainsi que de l'état d'oxygénation foetal.

L'absence de corrélation entre la LDH totale et chacunes de ses isoformes est importante à signaler.

En outre, la présence de corrélations entre la LDH et les autres marqueurs tissulaires est réelle. La LDH est donc corrélée avec la TnIc, la CKMB activité et l'activité CK totale.

Nous n'avons pas trouvé de relation entre la LDH totale et le dosage pondéral de la CKMB. Nous supposons que cette dernière notion est le résultat d'un manque d'effectif.

Il est enfin important de noter la corrélation entre les quatre marqueurs tissulaires étudiés. De ce fait, l'activité CKMB, le dosage pondéral de la CKMB, la LDH totale et troponine Ic sont tous corrélés entre eux, ce qui laisse présager une composante cardiaque de certaines souffrances foetales.

2.3. Analyse en composante principale

L'étude est poursuivie par la réalisation d'un test statistique relativement puissant qui est l'analyse en composante principale. Il permet d'extraire de plusieurs paramètres chiffrés, des profils de foetus. Ce test, sans être formel, a été étudié sur 39 patients pour lesquels les neuf marqueurs ont été analysés. Ce sont les CK totales avec son isoforme CKMB activité, les LDH totales avec ses cinq isoformes et la troponine Ic.

Cette analyse statistique a pour but d'orienter l'étude et a permis de résumer 66% de la variance des neuf facteurs biologiques selon trois axes. Les foetus peuvent se répartir selon trois profils particuliers à définir.

Le premier profil reposant sur les isoformes 1, 2 et 4 des LDH forme l'essentiel du premier axe.

Le deuxième profil reposant sur la troponine Ic, la LDH 3 et 5, les CK totales et la CKMB activité forme l'essentiel du deuxième.

Le troisième profil est caractérisé par la LDH et la LDH 3.

Le premier profil, constitué d'isoformes de la LDH, serait peut-être celui de l'hypoxémie foetale. La LDH 3 et 5 semblent exprimer des éléments différents, car présentes dans un autre profil.

Au niveau des marqueurs de lyse tissulaire, la LDH totale semble exprimer un caractère particulier de certains foetus.

La troponine Ic, les CK totales et la CKMB activité semblent définir un autre profil de foetus.

Ces résultats permettent d'envisager plusieurs hypothèses :

Premièrement, sommes-nous en présence d'une adaptation métabolique du foetus au cours de l'hypoxémie, avec une production de certaines isoformes de LDH sélectives par leurs performances enzymatiques, ou, juste une conséquence d'une hypovascularisation de certains territoires réactionnelle à l'hypoxémie ?

Deuxièmement, la LDH totale dont l'interprétation biologique correspond à une lyse globale des tissus, semble exprimer à elle seule un état foetal. Est-ce un état de gravité ou d'hypoxie foetale ?

Troisièmement, la troponine Ic et les CKMB caractériseraient-elles une atteinte cardiaque ou un autre état qui peut être un stade avancé d'une déchéance foetale, se surajoutant à la LDH ?

Quatrièmement, les LDH 3 et 5 sont-elles corrélées à des éléments cliniques particuliers ?

3. Corrélation clinico-biologique

3.1. Influence de l'âge du foetus au moment du prélèvement et à la naissance, du poids après l'expulsion du foetus et du sexe.

Seule une relation entre la LDH 3 et le moment de ponction foetale a pu être mise en évidence. Sur 48 foetus, le coefficient de corrélation est de -0,34 avec un risque de 0,019. (Figure 22) Plus le foetus est âgé, moins la part des LDH 3 constituant la LDH, est importante. S'agit-il alors d'un marqueur de maturation foetale globale ou s'agit-il, en considérant la répartition tissulaire des isoformes de la LDH, d'un marqueur de maturation du poumon ? Dans la dernière hypothèse, il sera intéressant de la confirmer avec l'existence de pathologie pulmonaire après la naissance.

En étudiant les marqueurs selon le poids du foetus à l'expulsion, nous montrons une corrélation avec les LDH 5. Sur 34 foetus, le coefficient de corrélation est de 0,4 avec un risque de 0,019. Plus le poids du foetus à l'expulsion est important, plus la part des LDH 5 est importante, quelque soit l'âge de ponction. (Figure 23)

La LDH 5 se présente-elle comme un élément prédictif de l'état staturo-pondéral du foetus à la naissance ? Quelque soit l'âge de naissance, les foetus ayant une proportion de LDH 5 élevée, naissent avec un poids de naissance statistiquement plus important. S'agit-il ainsi d'un indicateur d'une adaptation sous la forme d'une accentuation de la maturation foetale ? Est-ce consécutif à un état de souffrance ? Est-ce une adaptation positive vis-à-vis du pronostic ? Il est à noter qu'il n'existe pas ici de corrélation entre l'hypotrophie et un taux bas de LDH 5.

Aucune autre relation entre les autres marqueurs et l'âge de naissance, l'âge de

ponction, le poids de naissance, l'état d'hypotrophie et le sexe du foetus n'a été mise en évidence.

3.2. Descriptions de deux cas cliniques

3.2.1. *Illustration d'une réactivité cardiaque* à la souffrance

Le premier cas intéressant pour avoir été le promoteur de notre étude est celui d'un foetus prélevé à 30 semaines d'aménorrhée. Il présentait une tumeur cardiaque initialement découverte à l'échographie. Le prélèvement de ce foetus a donné des résultats remarquables dans le domaine des marqueurs tissulaires notamment de spécificité cardiaque . La troponine Ic était à une valeur extrêmement élevée, soit à 29 ng/ml. La CK totale et la CKMB activité étaient respectivement à 2682 UI/l et 336 UI/l. Enfin, la LDH totale était à 2277 UI/l. Le foetus a présenté une évolution ultérieure défavorable. L'étude anatomopathologique a diagnostiqué un myxome de l'oreillette.

Il s'agit d'un trouble d'hypoxémie de transport par défaut de la pompe cardiaque. Ici, La troponine Ic est réactive à l'état de souffrance. La question est de savoir si l'élévation des marqueurs est corrélée parce qu'il y a une anomalie de fonctionnement cardiaque.

3.2.2. *Illustration d'une hypoxie cardiaque*

Le deuxième cas est celui d'un foetus qui a été prélevé lors de son expulsion à l'âge de 31 semaines d'aménorrhée. Il s'agissait d'un enfant mort-né, l'origine de ce décès étant une souffrance foetale d'origine vasculaire. L'étude anatomopathologique a montré des signes d'hypoxie au niveau du placenta et une hypotrophie sévère du foetus sans autre anomalie notamment au niveau du coeur. Ce cas est remarquable dans le fait qu'une souffrance foetale d'origine vasculaire a révélé des taux de troponine Ic, LDH totale et CK totale respectivement à 14,6 ng/ml, 7605 UI/l et 4120 UI/l.

L'élévation de ces marqueurs accompagne là, une hypoxie foetale sévère. La

question est donc de savoir si une corrélation se fait au niveau d'une hypoxie cardiaque définitive ou de la souffrance foetale hypoxique.

3.3.. Etude sur les souffrances hypoxémiques déterminées par d'une part leurs étiologies et d'autre part l'origine cardiaque

3.3.1. *But de l'analyse statistique et règles de répartition des foetus dans les différents groupes*

L'étude statistique consiste à mettre en évidence des marqueurs de souffrance, notamment cardiaques, qui seraient statistiquement sensibles à un état d'hypoxie foetale et par extrapolation à un état de souffrance foetale au sens large du terme.

L'hypoxie et la souffrance cardiaque sont-elles une réalité statistique liée à un état d'hypoxie foetale dans notre population ?

3.3.2. Description générale de la population

La population étudiée est constituée de 115 foetus présentant des signes d'appel cliniques, échographiques ou biologiques. Cet échantillon de 115 foetus représentent un total de 135 ponctions de sang foetal. 53 foetus sont de sexe féminin et 62 foetus de sexe masculin, soit un sexe ratio de 1,18.

Sur 115 foetus étudiés, 51 naissances sont documentées, 25 par voie basse et 26 par césarienne. L'âge de la naissance est compris entre 26 et 41 semaines d'aménorrhée, la médiane étant de 37 semaines d'aménorrhée. 19 enfants sont nés à terme, dont 2 par césarienne, 32 enfants sont nés prématurément, dont 24 par césarienne. Parmi les 51 enfants qui sont nés, 15 sont de sexe féminin et 36 de sexe masculin, soit un sexe ratio de 2,4. Le poids moyen à la naissance est de 2570 grammes.

Le moment du prélèvement est compris entre la 16 ème et la 39 ème semaine d'aménorrhée, la médiane étant de 28 SA.

Tableau N°19 : Répartition des foetus hypoxique par anomalie principale et selon la gravité et le devenir du foetus

Pathologie principale	Effectifs	Nombres d'enfants nés (pourcentage)	Mode de naissance donné en nombre de césarienne	Age moyen de naissance en semaine d'aménorrhée	Existence d'une dépression néonatale en pourcentage
Alloimmu-nisation foeto-maternelle	13	11 sur 13 (88%)	8 sur 11	34,6	27% (3)
RCIU par insuffisance vasculaire et d'origine indéterminée	23	14 sur 23 (66%)	8 sur 14	34	27% (3)
Anémie d'origine inconnue	1	1 sur 1	1 sur 1	40	100% (1)
Anasarque d'origine inconnue	3	3 sur 3 (100%)	0 sur 3	38,5	100% (3)
Grossesse gémellaire (foetus en cause)	2	1 sur 2 (66%)	1 sur 1	37	100% (1)
Au total	40	30 sur 40 (70%)	18 sur 30		
Au total des foetus hypoxique et non hypoxique	107	51 (51%)	26 sur 51		

Tableau N°20 : Répartition des foetus non hypoxique par anomalie principale et selon la gravité et le devenir du foetus

Pathologie principal	Effectifs	Nombres d'enfants nés (%)	Nombre de césarienne	Age moyen de naissance en semaine d'aménor-rhée	Effectif d'enfants nés avec une dépression néonatale
Malformations du système nerveux	15	5 sur 15 (26%)	0 sur 5	39,4	60% (3)
Tératomes sacro-coccygiens et hamartome du tronc cérébral	3	0 sur 3 (0%)			
Malformations des extrémités	2	0 (100%)			
Agénésies rénales	2	0 (0%)			
Malformations cardiaques	18	11 sur 18 (61%)	6 sur 11	37,5	50% (3)
Malformations squelettiques avec un sd de Steve-Wideman et une chondrodysplasie	2	0 sur 2 (0%)			
Chylothorax d'origine inconnue	2	2	0	40	100% (2)
Alloimmunisation foeto-maternelle anti-Kell	1	1 (100%)	0 sur 1	40	100% (1)
Sd de Bartter	1	0 (0%)			
Malformations fasciales	4	1 sur 4 (25%)	0 sur 1	41	100% (1)
Hormologie de la trisomie 21 évocatrice	2	2 sur 2 (100%)	2 sur 2	38,5	100% (2)
Stigmates révélant une anomalie chromosomique	8	0 sur 8 (0%)			
Dépistage de maladie familiale	2	0 sur 2 (0%)			
Séroconversion maternelle de toxoplasmose et rubéole	5	4 sur 5 (80%)	0 sur 4	39,5	25% (1)
Au total	67	21sur 67 (32%)	8 sur 21		10

Tableau N°21 : Résumé des répartitions des foetus dans chaque groupe

Effectifs dans chaque groupe	**Sans malformation cardiaque**	**Avec Malformation cardiaque**	**Sommes des rangs**
Foetus sans hypoxie	46	3	**49**
Foetus avec hypoxie	**40**	**18**	**58**
Sommes des colonnes	86	21	107

Sur ces 115 foetus, 8 foetus n'ont pas été pris en compte pour l'étude statistique car ils ont été prélevés dans des cas trop particuliers pour les prendre en compte. Il s'agit des cas du myxome de l'oreillette, de deux prélèvements au cours d'une mort foetale in utero, d'une toxicomanie maternelle, de quatre anomalies génétiques.

Ces huit foetus présentent soit des anomalies intriquées entre elles, qui ont posé de réels problèmes lors de la répartition des foetus, soit une situation extrême, biaisant les résultats.

Nous invitons le lecteur à se reporter aux tableaux 19 et 20 pour avoir une vue d'ensemble de la répartition accompagnée de notion de gravité et de devenir des foetus. Le tableau 19 regroupe les foetus hypoxiques de par leur pathologie initiale. Le tableau 20 regroupe les foetus de souffrance non hypoxique.

Les règles de répartition des foetus sont les suivantes :

Explorant les stigmates de la souffrance cardiaque, nous avons d'une part constitué un groupe (le groupe 1) dont la souffrance foetale était due en grande partie à une malformation cardiaque.

D'autre part, avec l'étiologie de la souffrance foetale et le mode évolutif jusqu'à la période néonatale, un deuxième groupe (le groupe 2) est constitué de foetus ayant une souffrance foetale d'origine hypoxique, espérant concentrer les souffrances cardiaques. Ce groupe est formé par des foetus dont la description sera faite plus loin.

Le dernier groupe (le groupe 3) est constitué de foetus qui ne possèdent pas les deux caractères des deux groupes précédents. Ce groupe se compose de foetus dont la pathologie principale se répartit en malformations cérébrales, squelettiques et faciales, en pathologies tumorales et en la nécessité de rechercher des maladies infectieuses, des trisomies 21, des maladies familiales génétiques.

Le tableau N°21 résume les effectifs de chaque groupe.

3.3.3. *Description du groupe des malformations cardiaques*

Les données du groupe 1 sont fournies par l'échographiste,

l'anatomopathologiste et par le pédiatre. Les malformations sévères des gros vaisseaux sont prises également en compte. Le nombre de foetus qui présentent une malformation cardiaque est de vingt deux. Parmi ceux-ci, quatre foetus ont été classés dans le groupe 2 car l'anomalie cardiaque n'était pas l'anomalie prépondérante chez ces foetus. Le groupe de foetus ayant des malformations cardiaques dont le rôle prépondérant sur l'état foetal est certain, est ainsi composé de 18 foetus.

Nous décrivons les malformations cardiaques selon trois aspects : un groupe de malformations des gros vaisseaux, un groupe de malformations du cloisonnement des cavités cardiaques, un groupe d'anomalie du ventricule gauche et un groupe de malformations mixtes des gros vaisseaux et des cloisons cardiaques, chaque cas pouvant être associé à des anomalies valvulaires ou à d'autres malformations.

Deux foetus ont présenté juste des malformations des gros vaisseaux (une transposition complète des vaisseaux et une malformation du système porte).

Cinq foetus qui présentent une malformation des parois cardiaques. Deux canaux atrioventriculaires, deux ventricules uniques et une CIV constituent ce sous-groupe.

Un sous-groupe qui rassemble des anomalies du ventricule gauche isolées, comprend six foetus. Il y a ainsi une myocardiopathie hypertrophique, deux hypoplasies du ventricule gauche, une hypokinésie ventriculaire, une dilatation ventriculaire et un épanchement péricardique compressif.

Enfin, cinq foetus ont présenté des malformations mixtes des gros vaisseaux et du coeur même. On répertorie une tétralogie de Fallot, deux tronc artériel commun associé l'un à une communication interventriculaire (CIV) l'autre à une communication auriculoventriculaire complète (CAV) et deux hypoplasies de l'aorte associées l'un à une CIV l'autre à une dysplasie valvulaire.

3.3.4. *Description des foetus ayant une souffrance hypoxémique*

Dans le groupe de souffrance foetale *hypoxique*, nous avons classé quarante foetus faisant un ensemble de cinquante deux prélèvements.

Treize allo-immunisations foeto-maternelles se sont trouvées dans ce groupe. Six immunisations étaient du type D Rhésus. Quatre immunisations se portaient sur

plusieurs phénotypes Rhésus dont D et C. Trois immunisations n'ont pu être identifiées. Les index de Lilley ont montré dans ce sous-groupe une hétérogénéité de l'atteinte du foetus.

Vingt trois retards de croissance intra-utérin (RCIU) constituent pour plus de la moitié, le groupe de souffrance hypoxique. Ces RCIU sont parfois d'origine indéterminée (onze foetus), parfois d'origine établie et bien documentée (onze foetus et un cas particulier qui a présenté, en plus, un syndrome polymalformatif).

Parmi les onze foetus ayant un RCIU d'origine indéterminée, sept foetus ont présenté des signes de gravité tels qu'un oligamnios, une anasarque ou un immobilisme foetal. Les quatre autres foetus ne présentaient aucun autre signe particulier. Tous avaient des signes anatomopathologiques d'hypoxie placentaire.

Les douze autres foetus se répartissent essentiellement dans un groupe caractérisé par une insuffisance de perfusion utérine et placentaire et comprenant neuf foetus. A côté de ce petit groupe, trois foetus sont caractérisés par une anomalie du placenta, soit deux gémellités et un dysfonctionnement placentaire qui a conduit à une toxémie gravidique.

Un foetus avec une anémie compose ce groupe ainsi que trois foetus ayant une anasarque foeto-placentaire avec des signes anatomopathologiques d'hypoxie placentaire. Toutes ces anomalies étant d'origine indéterminée.

3.3.5. *Le groupe servant de témoin*

Ce groupe est de quarante neuf foetus faisant un ensemble de cinquante et un prélèvements.

Huit parmi douze anomalies génétiques ont été classées dans ce groupe. Il y a quatre trisomies 21, trois trisomies 18 et un syndrome de Turner mosaïque. En outre, parmi les douze foetus qui avaient une anomalie génétique, sept foetus ont présenté des malformations cardiaques. Une trisomie 21 était associée à une CAV et une CIV. Les deux foetus ayant une translocation 22q11 avaient l'un une CIV et l'autre une hypoplasie du ventricule gauche. Trois foetus ayant une trisomie 18 ont présenté un canal atrio-ventriculaire complet. Enfin, un foetus avec une trisomie 18 a présenté une tétralogie de Fallot.

Tableau N°22 : Comparaisons statistiques de trois groupes de foetus répartis selon l'existence ou non d'une hypoxie dont l'origine est cardiaque ou non.

Paramètres	*Degré de signification(p)*	**Foetus sans hypoxie (1)**	**Foetus avec hypoxie d'origine cardiaque (2)**	**Foetus avec hypoxie d' origine différente (3)**
		Effectifs=49	***Effectifs=18***	***Effectifs=40***
		Médiane [range interquartil] Moyenne (écart-type)	***Médiane [range interquartil] Moyenne (écart-type)***	***Médiane [range interquartil] Moyenne (écart-type)***
TnIc en ng/ml	0,44	0,02 [0,04] 0,067 (0,02)	0,02 [0,04] 0,065 (0,02)	0,03 [0,05] 1,03 (0,61)
CKMB mas. en ng/ml	0,14	5,55 [3,4] 8,3 (2,23)	3 [0,67] 2,98 (0,39)	5,7 [2,94] 8,2 (2,3)
CKMB act. en UI/L	0,73	17,5 [3] 24,6 (3,4)	19 [5,7] 21,5 (1,65)	18,5 [7,25] 23,9 (3,2)
CK totale en UI/L	0,97	95 [41,7] 140 (17,8)	89 [62,5] 133,4 (17,6)	108,5 [39,9] 364 (174,7)
LDH totale en UI/L	**0.038** **1→3**	482 [92,7] 560 (35,5)	558 [65] 588 (64)	543 [436] 1414 (376)
LDH1 en %	0,92	19 [3,46] 18,4 (1,3)	17 [4,5] 17,8 (2,5)	19,3 [3,65] 18,5 (1,6)
LDH2 en %	0,98	30,75 [3,41] 30,2 (1,22)	32,9 [3,43] 30,8 (2,4)	33,1 [5,2] 29,8 (1,75)
LDH3 en %	0,39	27,3 [4,6] 27,9 (1,2)	39,9 [9,7] 36,7 (5,4)	26,6 [4,3] 30,1 (2,15)
LDH4 en %	0,36	12,9 [4] 14,2 (1,8)	8,1 [5,1] 9,7 (2,8)	11,4 [4,3] 12,2 (2,03)
LDH5 en %	0,97	9,7 [3,7] 9,2 (1,1)	9,9 [0,5] 9,9 (0,85)	9,6 [3,7] 9,35 (1,5)
LDH1/LDH2	0,8	0,59 [0,1] 0,6 (0,028)	0,52 [0,08] 0,57 (0,055)	0,63 [0,106] 0,63 (0,05)

Les comparaisons entre les groupes s'effectuent par un test de Krüskall-Wallis :
si $p < 0.05$, alors il existe une différence statistiquement significative entre les groupes deux à deux.

Quand une différence est effective sur un paramètre, le test de Mann et Whitney modifié permet de désigner les deux groupes significativement différents. (Sous le petit p)

Deux foetus dont le prélèvement est motivé par la recherche d'une maladie familiale composent ce groupe. (Idiotie lié à l'X et diabète insipide familiale)

Quinze malformations cérebrales sont répertoriées dans ce groupe. Nous décrivons quatre malformations du tronc cérébral, huit malformations de l'encéphale avec des dilatations ventriculaires et obstacle à la circulation du liquide céphalo-rachidien et enfin trois méningocèles.

Trois tumeurs ont été mises en évidence sur trois foetus soit deux tératomes saccro-coccygiens et un hamartome du tronc cérébral.

Huit foetus ayant des malformations squelettiques composent le groupe. Il s'agit d'un syndrome de Steve-Wideman, d'une chondrodysplasie sévère, de deux malformations des extrémités et de quatre malformations faciales plus ou moins sévères.

Trois foetus qui présentent des anomalies viscérales font partie de ce groupe. Il y a ainsi deux agénésies rénales et un syndrome de Barter.

Cinq foetus prélevés pour la recherche de maladie infectieuse sont dans ce groupe. (deux pour suspicion de toxoplasmose, une pour suspicion de rubéole et deux toxoplasmose congénitale)

Deux foetus qui présentent un chylothorax, deux foetus suspects au niveau hormonal, de trisomie 21 et un foetus ayant une allo-immunisation foeto-maternelle de type Kell constituent enfin le groupe et clôturent la description.

3.3.6. *Résultats de la comparaison entre les groupes*

a) Sur les trois groupes constitués

Le seul marqueur permettant une variation significative entre les groupes 1 et 3 est la LDH totale (tableau 22). Pour les deux groupes considérés, la moyenne passe de 560 UI/L à 1414 UI/L et la médiane passe de 482 à 543 UI/L.

Il faut noter que l'écart-type et l'écart interquartile sont plus importants pour le groupe de foetus ayant une souffrance hypoxique. D'un groupe à l'autre, l'écart-type passe de 35,5 UI/L à 376 UI/L, l'écart interquantile passe de 92 UI/L à 436

Tableau N°23 : Comparaisons statistiques de deux groupes de foetus répartis selon l'existence d'une hypoxie

Paramètres	*Degré de signification(p)*	**Foetus sans hypoxie**	**Foetus avec hypoxie**
		Effectifs=49	***Effectifs=58***
		Médiane [range interquartil] Moyenne (écart-type)	***Médiane [range interquartil] Moyenne (écart-type)***
TnIc en ng/ml	0,11	0,02 [0,04] 0,067 (0,02)	0,03 [0,06] 0,84 (0,49)
CKMB mas. en ng/ml	0,57	5,55 [3,4] 8,3 (2,23)	4 [2,37] 6,4 (1,97)
CKMB act. en UI/L	0,58	17,5 [3] 24,6 (3,4)	19 [5] 21,4 (1,34)
CK totale en UI/L	0,65	95 [41,7] 140 (17,8)	111,5 [49,1] 319,5 (133,3)
LDH totale en UI/L	**0.02**	482 [92,7] 560 (35,5)	545[172] 1055,1 (267)
LDH1 en %	0,58	19 [3,46] 18,4 (1,3)	21[2,9] 19,5(1,43)
LDH2 en %	0,65	30,75 [3,41] 30,2 (1,22)	33,3[5,25] 30,4(1,66)
LDH3 en %	0,56	27,3 [4,6] 27,9 (1,2)	27,1 [6] 31,3 (2,4)
LDH4 en %	0,12	12,9 [4] 14,2 (1,8)	10,8 [3,55] 11,2 (1,9)
LDH5 en %	0,75	9,7 [3,7] 9,2 (1,1)	9,55 [2,32] 8,77 (1,2)
LDH1/LDH2	0,45	0,59 [0,1] 0,6 (0,028)	0,64[0,11] 0,65(0,04)

Comparaisons entre les deux groupes par un test de Mann et Whitney: si $p < 0.05$, alors il existe une différence statistiquement significative entre les deux groupes.

UI/L. Le degré de signification est de 0,038.

Aucune autre comparaison significative n'a été mise en évidence.

Cependant, en considérant les moyenne de chaque groupe, il faut noter deux marqueurs qui tendent à se comporter de la même façon que la LDH. Ce sont la troponine Ic et la CK totale. Les taux semblent progresser avec l'hypoxémie foetale. La moyenne double (de 140 à 364 UI/l pour la CK totale et de 0,067 à 1,03 pour la troponine Ic) du groupe sans hypoxémie au groupe avec hypoxémie.

Les autres marqueurs ne semblent pas révéler d'éléments de corrélation intéressants.

En fait, l'élément le plus frappant de ces premiers résultats est l'absence de paramètre significatif pour le groupe des malformations cardiaques. En éliminant de l'étude le myxome de l'oreillette, il semble qu'aucun de nos marqueurs ne puisse désigner l'origine cardiaque de la souffrance foetale. Partant sur ce principe, une autre étude est lancée en classant seulement les foetus du groupe des malformations cardiaques dans le groupe des souffrances hypoxémiques. Ceci est mis en oeuvre pour augmenter les effectifs des groupes et donc la puissance statistique du test.

b) Sur deux groupes

Seul la LDH totale varie de manière significative entre les deux groupes (tableau 23). La médiane passe de 482 UI/L à 545 UI/L et la moyenne de 560 à 1055 UI/L. Il faut noter que l'écart-type et l'écart interquartile sont plus importants pour le groupe de foetus ayant une souffrance hypoxémique. Aussi, l'écart-type passe de 35 UI/L à 267 UI/L, l'écart interquantile passe de 92 UI/L à 172 UI/L. Le degré de signification est de 0,02.

Aucune autre comparaison significative n'a été mise en évidence entre les deux groupes.

Cependant, il faut noter un marqueur qui tend à se comporter de la même façon que la LDH. Il s'agit de la troponine Ic. Elle semble progresser avec l'hypoxie foetale. La moyenne et la médiane augmentent (de 0,02 à 0,03 pour la médiane et de 0,067 à 0,84 pour la moyenne) du groupe sans hypoxie au groupe avec hypoxie. L'écart-type et l'écart interquartile sont plus importants pour le groupe de foetus ayant une

Tableau N°24: Valeurs de certains paramètres tissulaires des deux groupes de foetus de l'étude et les valeurs de référence en néonatalogie

	Référence en néonatalogie Apgar>7	**Foetus sans hypoxie**	**Foetus avec hypoxie**
	(Effectifs) Moyenne [écart-type]	***Moyenne ± écart-type***	***Moyenne ± écart-type***
TnIc en ng/ml	"<0,03"	0,067± 0,02	0,84 ±0,49
CKMB mas. en ng/ml	(35) 6±4	8,3 ±2,23	6,4 ±1,97
CKMB act. en UI/ml [en %]	(67) [4,2±1,5]	24,6 ±3,4	21,4 ±1,34
CK totale en UI/L	(67) 208±92	140 ± 17,8	319,5 ±133,3
LDH totale en UI/L	(47) 664±409	560 ±35,5	1055,1± 267

souffrance hypoxémique. D'un groupe à l'autre, l'écart-type passe de 0,02 à 0,49 ng/ml, l'écart interquantile passe de 0,04 à 0,06 ng/ml. Le degré de signification est de 0,11, et indique une tendance statistique.

Le degré de signification est passé de 0,44 à 0,11 de la première à la deuxième étude, ce qui pourrait être un manque de puissance statistique ou une variabilité du groupe 2, ce qui est incontournable dans une étude statistique rétrospective.

Considérant le degré de signification à 0,05 et une puissance statistique admise par tous de 80 %, 226 prélèvements auraient été nécessaires dans chaque groupe pour prouver une corrélation. Ici, dans la deuxième étude, nous avons une puissance statistique de 38 % avec 38 foetus ayant un taux de troponine Ic.

Enfin, à titre indicatif, le tableau N°24 place côte à côte les valeurs moyennes de chaque groupe avec des valeurs de référence de néonatalogie.

DISCUSSION

DISCUSSION

I. CONTRAINTES DE L'ÉTUDE

1. Limites de l'interprétation des marqueurs chez le foetus

1.1. La troponine Ic

La troponine Ic sérique s'est avérée être très élevée dans le cas d'un myxome de l'oreillette isolé. Nous avons ainsi une preuve que la troponine Ic peut apparaître dans le sérum du foetus et qu'elle est probablement produite au niveau du coeur. Dans la littérature, cette propriété est suggérée par des études sur le modèle animal, faites par Gao et al.. Elle est suggérée aussi par Hollander et al. qui a analysé le marqueur sur le sang de cordon à la naissance. Le seul élément aléatoire est l'existence d'une permutation dans le coeur de la forme foetale "s" vers la forme "c"définitive de la troponine I, à un moment indéterminé de la période foetale (à partir du sixième mois de grossesse) (Larue, 1996). Il faut noter que la cardiospécificité de la troponine Ic chez le foetus a été un élément important pour l'avoir préféré à la troponine T. A la question : est-ce une néo-production spécifique du myxome de l'oreillette ? Nous ne pouvons y répondre. Nous pouvons juste constater que dans ce cas, le taux a été le plus élevé de l'étude. La relation troponine Ic-myxome de l'oreillette est donc importante à signaler afin d'orienter le diagnostic d'une tumeur à localisation cardiaque chez le foetus.

Sa libération sérique semble cependant non spécifique au myxome car il y a d'autres situations dans lesquelles le taux de troponine Ic s'est avéré fluctuant. La première situation est celle de l'hypoxémie extrême, une mort foetale in utero d'origine hypoxique qui révèle une réactivité des marqueurs tissulaires (la LDH totale, la CK totale et la CKMB en dosage pondéral ou enzymatique) et notamment de la troponine Ic de façon importante. La deuxième situation est celle qui associe des foetus, dont la pathologie est différente et parfois marquée, à un taux de troponine Ic compris entre 0,07 et 0,3 ng/ml. C'est la plus intéressante car elle correspond, chez l'adulte, à une

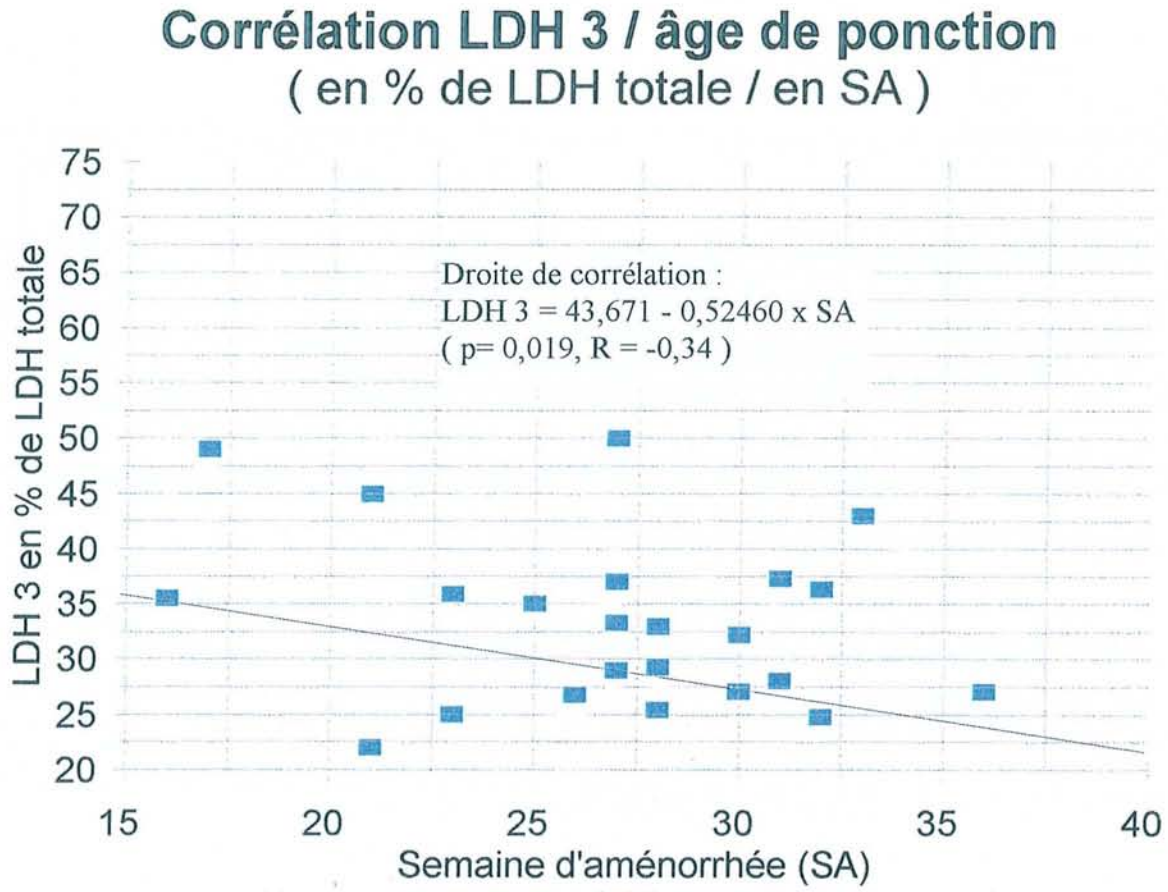


Figure N°22 : Corrélation LDH 3 / âge de ponction

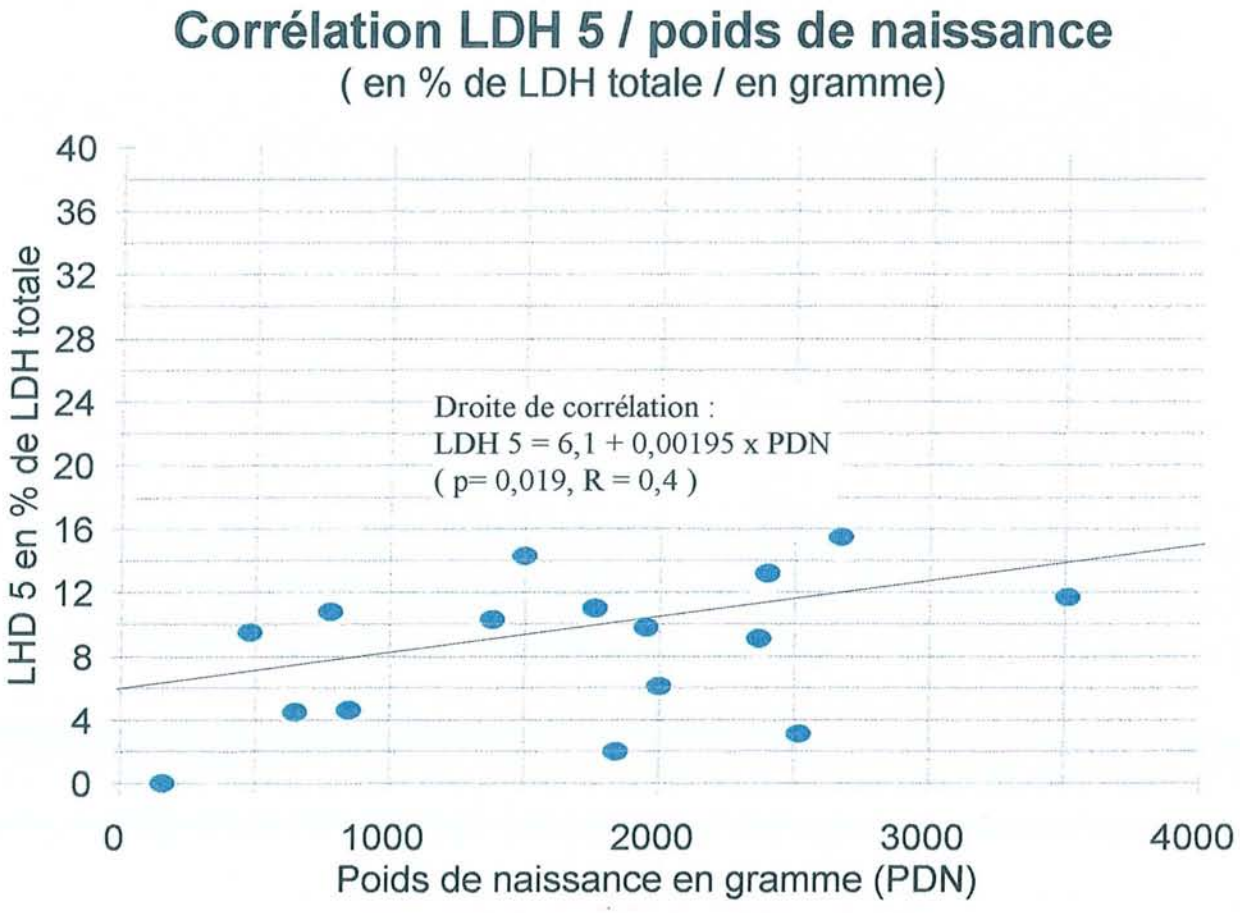


Figure N°23 : Corrélation LDH 5 / poids de naissance

situation fortement prédictive d'un infarctus du myocarde ou d'un IDM constitué, et donc d'un mauvais pronostic. Est-ce l'apparition de stigmates pouvant correspondre à des signes précurseurs de souffrance foetale ?

1.2. Les CK et les LDH

La CKMM et la CKMB sont présentes dans les muscles du foetus dès le 6ème mois d'âge foetal, remplaçant progressivement la CKBB. Il faut prendre en compte également le fait que les tissus placentaires produisent de façon non négligeable de la CKMB. La CKMB perd donc sa cardiospécificité. La CK totale et la CKMB peuvent être alors juste interprétées comme des marqueurs de lyse musculaire, cardiaque foetale et placentaire et donc de souffrance tissulaire.

La LDH totale est de plus une enzyme cellulaire ubiquitaire.

Dans le muscle foetal, l'isoforme LDH 5 est encore absente et il y a prédominance des tétramères renfermant la sous-unité H des LDH (LDH1, 2, 3 et 4). Enfin, dans le coeur foetal, l'isoforme LDH 1 prédomine. Dans ces conditions, les caractéristiques de la maturation enzymatique de la LDH nous limitent dans l'interprétation de la cardiospécificité de la LDH 1, et de son indicateur, le rapport LDH1/LDH2.

Tout ces marqueurs sont donc plus le fait d'une lyse cellulaire qui pourrait être une réponse indirecte à l'hypoxie avancée.

De par ces éléments, nous pensons qu'il faut interpréter les paramètres étudiés comme n'ayant pas encore de spécificité cardiaque à l'exception de la troponine Ic.

1.3. Ponction de sang foetal et demi-vie sérique

En analysant la cinétique des paramètres étudiés, il faut différencier d'un côté les paramètres de cinétique "lente", c'est-à-dire la troponine Ic et la LDH totale et de l'autre côté, les paramètres de cinétique "rapide" la CK totale. Les premiers ont une demi-vie de l'ordre d'une semaine alors que les derniers ont une demi-vie de l'ordre de 36 heures. Ceci est à prendre en considération. En effet, les contraintes de la ponction

de sang foetal font qu'elle ne peut pas être réitérer facilement ou même, mise en route seulement dans un souci d'évaluation de la gravité de la pathologie foetale.
Deux notions sont alors à déduire ici.

Premièrement, au cas par cas, le fait d'avoir ces deux types de paramètres permet éventuellement de déterminer si l'événement foetal est ancien et en voie de rémission ou persistant.

Deuxièmement, dans une étude statistique sur un échantillon de cent sept foetus, hétérogènes dans les processus physiopathologiques et dans les moments de la ponction foetale, il s'opère une dilution des informations telle que les paramètres de cinétique lente nous paraissent plus fiable à exprimer l'état de bien-être foetale.

2. Au niveau de la répartition des foetus dans les groupes

En prenant en compte la physiopathologie foetale notamment au niveau vasculaire, le coeur serait lésé théoriquement au stade de souffrance foetale hypoxique sévère.

Or, la souffrance foetale est définie par de multiples critères. Elles peut se définir avec certain éléments cliniques et paracliniques de mauvais pronostic.

Dans cette étude rétrospective, ces critères existent mais sont inconstants d'un cas à l'autre par leur nature et par leur appréciation. Ces critères sont de plus, d'interprétation parfois différente. Cette pluralité des renseignements recueillis a limité l'étude statistique entre les taux de troponine Ic et chacun des critères de gravité de la souffrance foetale mais aussi entre les taux de troponine Ic et le degré de souffrance foetale établie avec ces critères de mauvais pronostic.

Nous avons ainsi abordé le problème de la façon suivante :

Selon le critère étiologique et le mode évolutif, certains foetus sont répartis dans le groupe de souffrance d'origine hypoxémique. Ainsi, ce groupe a logiquement le plus de chance d'être constitué de foetus ayant une souffrance foetale avec souffrance tissulaire, ici, hypoxique. Il y a néanmoins aucune certitude pour ne pas intégrer des foetus ayant une pathologie de faible importance bien compensée sans souffrance tissulaire.

II. LDH ET SES ISOFORMES

2.1. La LDH totale

Malgré les limites de l'étude, la mise en évidence d'un marqueur de souffrance tissulaire, la LDH totale qui différencie un état d'hypoxémie foetale a été prouvée statistiquement.

Nous avons en outre, vérifié que le relarguage de LDH dans le sérum au cours de pathologies hémolytiques, n'influençait pas ce résultat. En éliminant les pathologies hémolytiques de l'étude statistique, le résultat n'a pas changé.

Il paraît donc judicieux de prendre le taux de LDH totale comme un critère de souffrance tissulaire foetale et un facteur de mauvais pronostic, qu'elle soit hypoxémique ou nutritionnelle.

Il semble que la LDH totale apparaisse dès à présent, comme un dosage clef pour évaluer l'état de souffrance foetale. Il semble nécessaire de conforter cette impression par des études complémentaires.

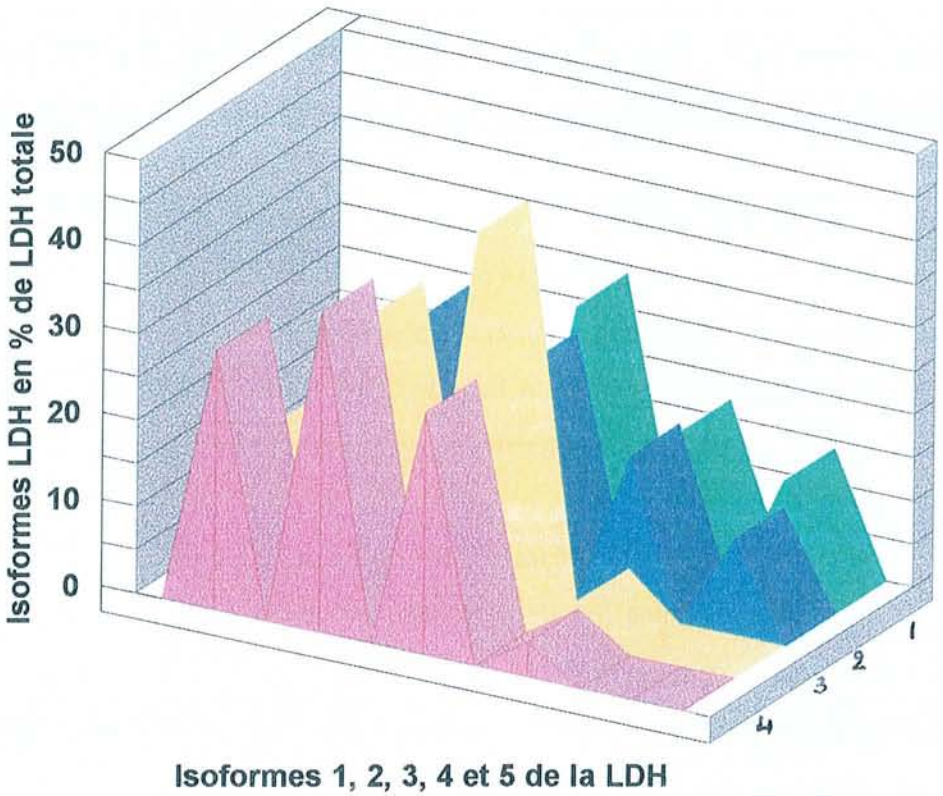
Il y a une corrélation entre tous les marqueurs tissulaires (CK totale, LDH totale, TnIc, CKMB activité et CKMB massique).

La LDH totale paraît être isolée des isoformes de la LDH et de l'oxymètrie. Ce marqueur semble, dans l'étude, être indépendants du degré d'oxygénation du foetus. Ce constat paraît surprenant mais à notre sens, il témoigne probablement de la dilution des résultats par la diversité des pathologies en présence. L'étiologie peut en être l'hypoxie tissulaire suite à une hypoxémie. Mais elle peut en être aussi différente tel qu'un renouvellement cellulaire accéléré ou une lyse cellulaire d'origine intra ou extra cellulaire ou par vol vasculaire.

2.2. Les isoformes de la LDH

Les isoformes de la LDH semblent exprimer une autre situation. Elles sont déjà sans relation avec la LDH totale et les autres marqueurs tissulaires. Il faut noter, comme pour l'adulte, que les isoformes 1,2 et 3 évoluent ensemble dans le même sens. Il en est de même pour les isoformes 4 et 5. Ces deux groupes d'isoformes sont

Figure N°24 **Exemple de quatre répartition des isoformes de la LDH selon la PO2p**



Piste Verte (1): Le cas d'un foetus ayant une PO_2p à **10,1 mmHg** à 35 semaines d'aménorrhée prélevé avant une exsanguinotransfusion *in utero* pour une allo-immunisation foeto-maternelle; âge également de son extraction effectuée par césarienne suivie d'une exsanguinotransfusion en service de néonatalogie. Avec un Apgar à 5/10, l'évolution a été bonne, moyennant 19 jours d'hospitalisation. La troponine Ic et la LDH totale de ce prélèvement ont été mesurées respectivement à < 0,03 ng/ml et 450 UI/l.

Piste Bleue (2):Le cas d'un foetus ayant une PO_2p à **9,5 mmHg** à 26 semaines d'aménorrhée prélevé pour une exploration d'un retard de croissance intra-utérin précoce et une hormonologie maternelle suspect de trisomie 21 et myéloméningocoele; l'âge de l'extraction effectué par césarienne est à 32 semaines d'aménorrhée. Avec un Apgar à 3/5, l'évolution a été difficile puis bonne, nécessitant 10 jours d'hospitalisation en soins intensif. La troponine Ic et la LDH totale de ce prélèvement ont été mesurées respectivement à < 0,03 ng/ml et 2595 UI/l. Deux autres prélèvements à 28 et 32 semaines d'aménorrhée ont mis en évidence une diminution de la LDH totale à 1090 puis 426 UI/l.

Piste Jaune (3): Le cas d'un foetus ayant une PO_2p à **31 mmHg** prélevé à 21 semaines d'aménorrhée pour explorer l'étiologie d'une communication auriculoventriculaire complète détectée par échographie. L'âge de son extraction, effectuée par césarienne, est de 37 semaines d'aménorrhée. Malgré un Apgar à 8/9, l'évolution a été courte suite à une impasse thérapeutique. La troponine Ic et la LDH totale de ce prélèvement ont été mesurées respectivement à < 0,03 ng/ml et 560 UI/l.

Piste Rouge (4): Le cas d'un foetus ayant une PO_2p à **27 mmHg** prélevé à 28 semaines d'aménorrhée pour explorer l'étiologie d'un retard de croissance intra-utérin avec Doppler perturbé. L'âge de son extraction, effectuée par césarienne, est de 31 semaines d'aménorrhée devant l'apparition d'une toxémie gravidique. Avec un Apgar à 6/8, l'évolution a été bonne. La troponine Ic et la LDH totale de ce prélèvement ont été mesurées respectivement à 0,16 ng/ml et 624 UI/l.

corrélés ensemble dans le sens inverse. Deux hypothèses peuvent être avancées sur la variations de ces taux d'isoforme. La première est l'existence d'une spécificité tissulaire de chaque isoforme de la LDH. La deuxième est la production de différents isoformes selon leurs propriétés fonctionnelles dans des situations particulières.

Par ailleurs, il existe une corrélation entre la pression partielle en oxygène de la veine ombilicale et l'ensemble des isoformes de la LDH. Ainsi, la répartition des isoformes de la LDH semble être expliquée par une adaptation métabolique du foetus. L'hypoxie semble favoriser, au sein de la cellule, la production des isoformes 4 et 5. D'un point de vue enzymatique, ces isoformes sont plus performantes dans la production d'énergie en cas d'hypoxie et d'accumulation de lactate (métabolite du métabolisme anaérobie).

Nous pouvons nous reporter à la figure 24 de quatre exemples de répartition des isoformes de la LDH selon la PO2p.

L'âge du foetus au moment du prélèvement, le sexe et le poids après l'expulsion du foetus ont été analysés. Une corrélation entre la LDH3 et le moment de la ponction et une autre entre la LDH5 et le poids du foetus à la naissance est mise en évidence. La LDH3 peut être un marqueur de la croissance foetale ou de la maturation pulmonaire. La LDH 5 semble être un critère de maturation hépatique. Cependant, la pluralité des pathologies en présence et des degrés de gravité demande une confirmation de ces données.

III. La troponine Ic

Il y a une contradiction entre l'analyse des paramètres deux à deux et l'analyse clinico-biologique. Il apparaît néanmoins dans l'étude clinico-biologique une tendance concernant la troponine Ic à suivre la LDH totale. Assimiler l'interprétation de la troponine Ic à celle de la LDH totale est une éventualité. Pour appuyer cette intuition, la figure 25 présentant la corrélation entre la LDH totale et la troponine Ic est un élément d'analyse intéressant. Il semble apparaître deux nuages de points soit deux types de foetus : l'un regroupant des foetus dont le taux de LDH totale peut être élevé sans augmentation de la troponine Ic et l'autre regroupant des foetus dont le taux de LDH totale peut être élevé avec augmentation de la troponine Ic de façon

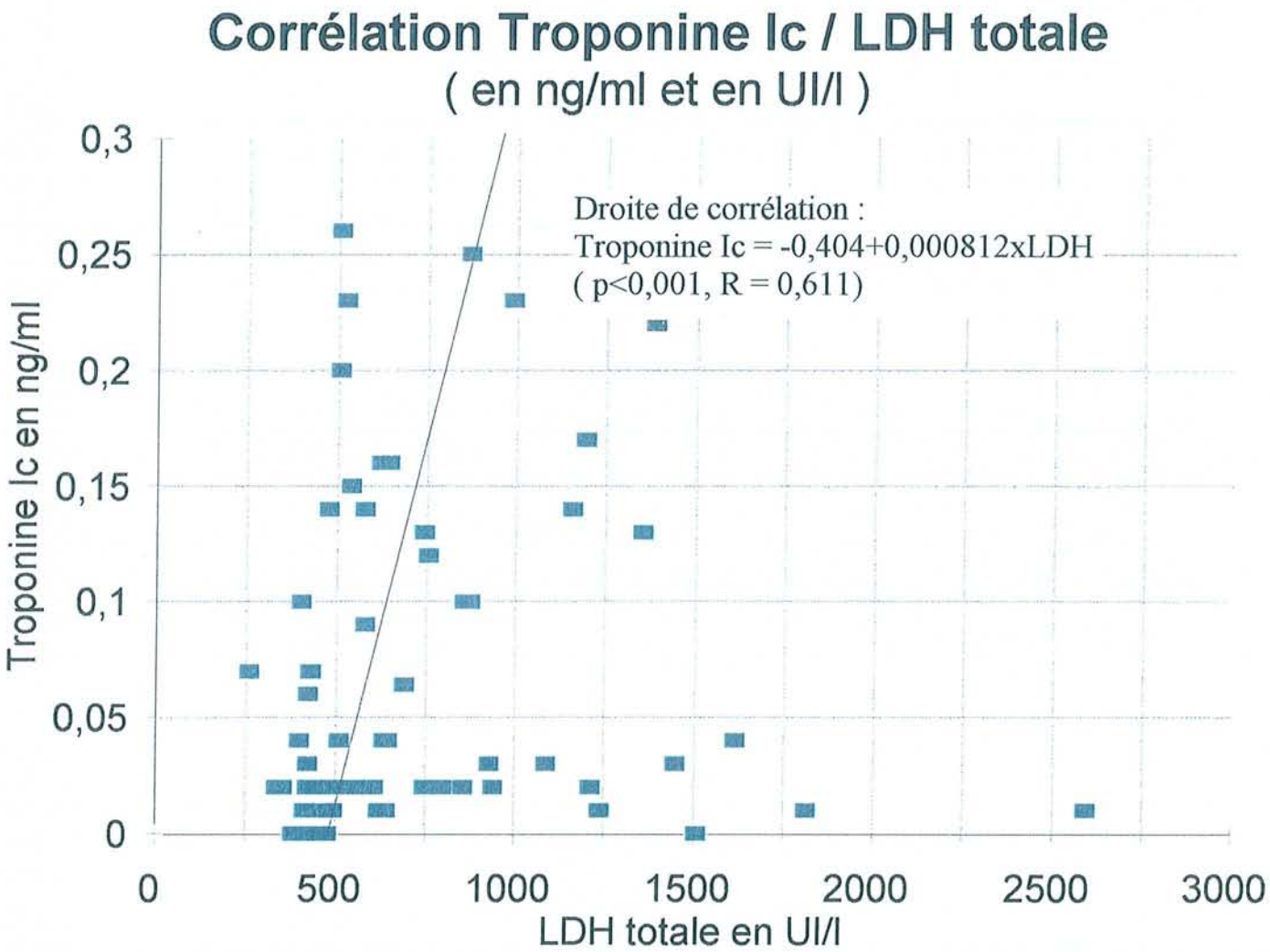


Figure N°25 : Corrélation entre LDH totale et troponine Ic

concomitante. Quelle peut-être la signification de ce constat ? Y-a-t-il une explication physiopathologique ? L'adaptation vasculaire à un stress peut-elle être plus ou moins performant. Selon les cas envisagé, les organes nobles sont alors plus ou moins protégés.

En établissant quatre groupe de foetus selon deux critères qui sont le taux de LDH totale inférieure ou supérieure à 750 UI/l et la troponine Ic inférieure ou supérieure à 0,08 ng/ml, nous obtenons la répartition suivante :

troponine Ic\LDH totale	**<750 UI/l**	**>750UI/l**
<0,08ng/ml	78 foetus dont 44 naissances et 34 ITG (dont 30 pour malformation)	14 foetus dont 3 naissances, 2 MFIU et 9 ITG (dont 2 pour malformation)
>0,08ng/ml	11 foetus dont 6 naissances et 5 ITG pour malformation	12 foetus dont 1 naissance, 2 MFIU et 9 ITG (dont 5 pour malformation)

En analysant l'étiologie de souffrance foetale dans chaque groupe, il ne ressort pas d'unité particulière. Chaque groupe est composé par des RCIU d'origine vasculaire, d'AIFM et de malformations multiples.

Par contre, pour le pronostic, il y a une nette différence surtout entre les groupes ayant un taux de la LDH totale supérieur à 750 UI/l et ceux ayant un taux inférieur à 750 UI/l. Un taux de la LDH totale supérieur à 750 UI/l désigne un foetus qui présente trois fois plus de risque (11/14)ou (17/26) d'être exposé à une décision d'ITG ou à une mort foetale *in utero*. La troponine Ic, couplée à la LDH totale, semble conforter ce pronostic, ceci dans la moitié des cas.

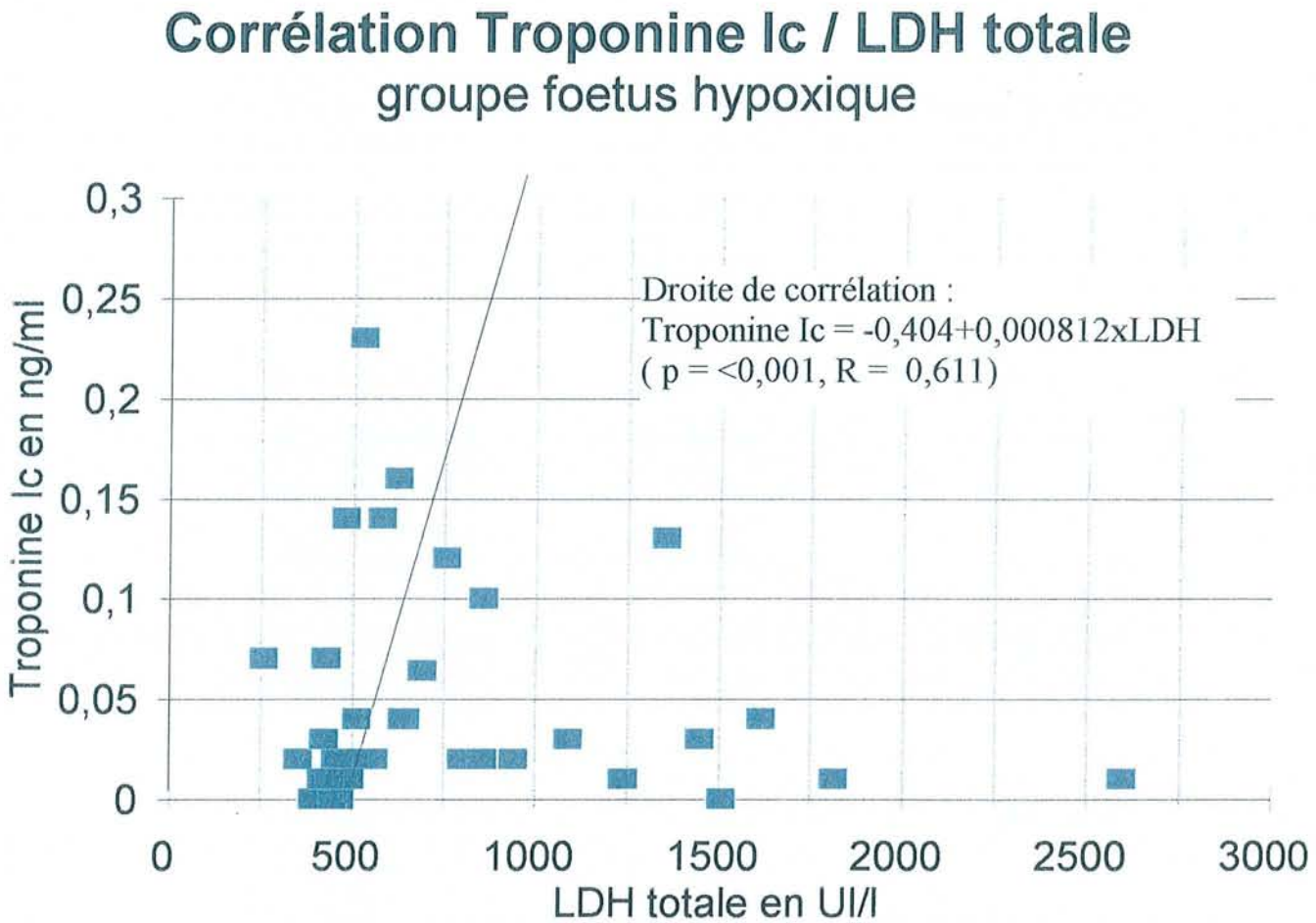


Figure N°25 : Corrélation entre LDH totale et troponine Ic

Une étude au cas par cas semble être ici nécessaire.

L'intérêt est au niveau du pronostic et pour mettre en évidence un intérêt à la troponine Ic, l'analyse qui suit se limite à deux cadres nosologiques de pathologie hypoxémique : l'une est l'alloimmunisation foeto-maternelle et l'autre une souffrance foetale d'origine vasculaire.

Dans le premier cadre nosologique, sept foetus ayant trois paramètres simultanés sont étudiés. Ces paramètres sont la troponine Ic, la LDH totale et l'index de Lilley.

En prenant en compte le taux de LDH totale et l'indice de Lilley, trois foetus ont présenté des éléments de mauvais pronostic, un avec un indice de Lilley de mauvais pronostic sans augmentation de la LDH (le taux de troponine Ic était augmenté) et deux avec une augmentation de la LDH totale et un indice de Lilley de bon pronostic.

L'état du premier foetus a nécessité deux exsanguino-transfusion in utero, une expulsion provoquée et une hospitalisation de 50 jours.

Le deuxième foetus n'a pas eu d'évolution favorable malgré une prise en charge thérapeutique (la troponine Ic et l'indice de Lilley étaient normaux).

Le troisième foetus a vécu malgré un taux élevé de LDH (6155 UI/ml), une expulsion déclenchée et une hospitalisation de 45 jours. Ce foetus n'avait pourtant pas d'indice de Lilley défavorable (Ia). Nous signalons entre autre ici l'intérêt de la LDH à prévoir la mise en oeuvre d'une lourde prise en charge néonatale.

Ce premier foetus présentait un taux de troponine Ic élevé avec un indice de Lilley défavorable sans augmentation de la LDH totale. Il s'agit d'un foetus dont l'évolution est marquée par une hémorragie intra-ovulaire, une expulsion provoquée et une dépression foetale à la naissance. En comparaison avec les deux autres foetus, la prise en charge n'a pas été moins importante. Ceci indique l'intérêt de la troponine Ic vis-à-vis de la LDH totale, à rattraper éventuellement ses insuffisances, afin d'anticiper la thérapeutique au cours d'une déplétion sanguine.

Dans le deuxième cadre nosologique, 12 foetus ayant deux paramètres simultanés ont été analysés. Ces paramètres sont la troponine Ic et la LDH totale.

Tous les foetus ont présenté un ou plusieurs signes de sévérité, comme la présence d'un oligoamnios, d'une atteinte céphalique. Tous les indices de Lilley sont de mauvais pronostic.

d'amènorrhée (SA). Le traitement a permis de prolonger la grossesse jusqu'à la trente deuxième SA correspondant à la date du quatrième prélèvement. Un événement aigu, une hémorragie ovulaire, a déclenché un accouchement prématuré. L'adaptation cardiorespiratoire était bonne et l'évolution ultérieure également, avec une hospitalisation de 31 jours. La période néonatale est marquée par une exsanguino-transfusion à la naissance. Au niveau biologique, l'indice de Lilley est mesuré à 2a à la vingt septième SA, l'hémoglobine est passée de 3 à 7,3 g/dl et la saturation en oxygène de l'hémoglobine est située entre 72 et 89 % à l'exception du quatrième prélèvement qui est à 27 %. Les isoformes 4 et 5 de la LDH du quatrième prélèvement sont situées au dessus de 10 % de la LDH totale. La LDH est passée de 440, pour les trois premiers prélèvements et à 1355 UI/ml pour le quatrième prélèvement. La troponine Ic sur le premier prélèvement à la vingt septième SA est restée négative et s'est positivée sur le quatrième prélèvement à un taux de 0,13 ng/ml, ce qui est remarquable car induite par une pathologie aigue foetale. La troponine Ic est sensible à une déplétion sanguine dans ce cas et peut-être à un début de désamorçage de la pompe cardiaque.

Enfin, le troisième est aussi une alloimmunisation foetomaternelle. La prise en charge se compose d'une exsanguinotransfusion *in utero* effectuée en trois fois ce qui a permis de prélever le sang ombilical à la vingt quatre, vingt huitième et trente deuxième SA. Ce traitement a permis de prolonger la grossesse jusqu'à la trente cinquième SA. L'élévation progressive et importante du taux d'anticorps maternels dirigés contre les hématies foetales a motivé une césarienne. L'adaptation cardiorespiratoire était bonne et l'évolution ultérieure également, avec une hospitalisation de 10 jours. Au niveau biologique, l'indice de Lilley est mesuré à IIa à la vingt quatrième et à la vingt huitième SA, l'hémoglobine est de 5,8 et 6,6 g/dl à la vingt quatrième et à la vingt huitième et la saturation en oxygène de l'hémoglobine est de 49 et 90 % à la vingt huitième et à la trente deuxième SA. Les isoformes 4 et 5 de la LDH du troisième prélèvement sont situées en dessous de 10 % de la LDH totale. La LDH est passée de 350, pour le premier prélèvement, à 860 UI/ml pour les deux autres. La troponine Ic sur les deux premiers prélèvements est restée négative et s'est positivée sur le troisième prélèvement à un taux de 0,1 ng/ml, c'est à dire au cours de l'aggravation de la situation. La troponine Ic est alors un indicateur de mauvais

pronostic dans ce cas précis.

Ce sont donc deux cas où la LDH totale et la troponine Ic réagissent ensemble vis-à-vis d'une aggravation de la souffrance foetale. La troponine Ic, bien que marqueur de la souffrance cardiaque, est ici un indicateur d'aggravation dans les alloimmunisations foetomaternelles. Il faut ainsi signaler l'intérêt de ce marqueur à conforter les raisons de la mise en oeuvre d'une thérapeutique dans ces pathologie.

CONCLUSION

CONCLUSION

L'étude des marqueurs de la souffrance cardiaque sur 115 foetus a permis de mettre en évidence les notions suivantes :

- Une corrélation entre la répartition des isoformes de la LDH sérique avec l'état d'oxygénation veineuse du sang du cordon. Il s'agit d'une élévation des isoformes 4 et 5 de la LDH au cours de L'hypoxémie foetale.

- Une corrélation entre les différents marqueurs de la souffrance cardiaque étudiés, notamment entre la LDH totale et la troponine Ic.

- La LDH totale semble être le marqueur le plus intéressant pour évaluer l'état de souffrance hypoxémique du foetus. La LDH totale est d'emblée un marqueur de souffrance foetale et d'autres études de type prospectives sont nécessaires pour conforter et étendre cette notion à la souffrance foetale.

- La LDH totale semble représenter également une notion prédictive intéressante quant à l'aggravation de l'état foetal.

- La troponine Ic, seul marqueur de notre étude à être spécifique d'un organe noble, le coeur, semble se comporter comme la LDH totale, dans certaines conditions qui restent à préciser. La troponine Ic semble conforter la valeur prédictive de la LDH totale dans certains cas d'hypoxie pour l'évolution de l'état foetal.

Il est rassurant de retrouver, pour la troponine Ic, les même conclusions que Schroeder et al. en 1998. Les résultats sont également en accord avec l'hypothèse de Amboni et al. en 1997 qui suggère la troponine Ic comme un index d'hypoxie myocardique.

Le myxome paraît, en outre, un cas particulier de part les valeurs retrouvées mais la troponine Ic semble être, en plus, de la même façon que la LDH totale un indicateur de souffrance foetale sévère.

Il est surprenant de voir les CK (CK totale, l'activité CKMB et le dosage pondérale de la CKMB) être si peu contributives à l'évaluation d'une souffrance foetale hypoxique. Nous attribuons ce fait à un problème d'échantillonnage et de la répartition des groupes qui va probablement à l'encontre de leurs pouvoirs informatifs.

Nous avons cependant, l'intime conviction que la LDH totale, la CKMB

massique et la troponine Ic peuvent apporter au clinicien, des éléments contributifs à l'évaluation de la souffrance foetale, en temps et en intensité.

Il serait donc, à notre sens, intéressant de poursuivre les études dans cette voie pour d'une part renforcer la puissance statistique de l'étude vis-à-vis de la troponine Ic et pour d'autre part conforter les résultats de l'étude actuelle. Nous pouvons espérer puiser des informations supplémentaires notamment sur les CK, ses isoformes afin d'être contributif à l'évaluation plus précise de la souffrance foetale.

BIBLIOGRAPHIE

BIBLIOGRAPHIE

Abe F., Nagamine Y., Ueda T., Shima K. (1992)
Creatine kinase activite and its isoenzyme levels in cord blood.
Rinsho Byori, 40 : 875 - 880.

Adams J.E., Bodor G.S., Davila-roman V.G., Delmez J.A., Apple F.S. (1993)
Cardiac troponin I - A marker with high specificity for cardiac injury.
Circulation, 88 : 101 - 106.

Adams J.E., Sigard G.A., Allen B.T., Bridwell K.H., Lenke L.G. (1994a)
Diagnosis of perioperative myiocardial infarction with measurement of cardiac troponin I.
New Engl. J. Med., 330 : 670 - 674.

Adams J.E., Schechtman K.B., Landt Y., Ladenson J.H., Jaffe A.S. (1994b)
Comparable detection of AMI by CKMB isoenzyme and cardiac troponin I.
Clin. Chem., 40 : 1291 - 1295.

Adams J.E., Dàvila-roman et collaborateur (1996)
Improuved detection of cardiac contusion with cardia troponin I.
Am. heart J.1996 : 308-312.

Annales du Contrôle de Qualité Biochimie. (1997)
Agence du médicament.
ISSN 1266-7900, 8 : 1885 - 1890.

Alan H.B.Wu., Yue-Jin Feng, Moore R., Apple S., McPherson P.H., Buechler K.F., Bodor G. (1998)

Characterisation of cardiac troponin subunit release into serum after acute myocardial infarction and comparison of assay for troponin T and I.

Clin. Chem. , 44 : 1198-1208.

Amato M., Aegerter E., Reiber W., Schneider H.(1992)

Creatine phosphokinase isoenzyme activity in umbilical artery, umbilical vein and capillary blood of newborn enfants at term.

Arch. Gynecol. Obst., 251 : 171 - 174.

Amboni P., Lamale L., Vernocchi A., Auriemma A., Passinetti G., Bellan C., Tempra A. (1997)

Cardiac troponin I as marker of minimal myocardial damage in asphytic newborns.

MEDLAB 97, A87 : 114 - 115.

Anderson P.A.W., Malouf N.N., Oakeley A.E., Pagani E.D., Allen D.P.(1991)

Troponin T isoform expression in humans : a comparison among normal and failing adult heart, foetal heart, and adult and fetal skeletal muscle.

Circulation, 69 : 1226-1226.

Antman E.M., Tanasijevic M.J., Thompson B. (1996)

Cardiac specific troponin I levels to predictthe risk of mortality in patients with acute coronary syndromes.

New Engl. J.Med., 335 : 1342-1349.

Arbeille P., Fignon F., Maulik D., Bodard S., Locatelli A.(1995)

Hémodynamique, hypoxie et souffrance foetale.

In : Doppler couleur- Doppler pulsé. Du foetus à l'adulte.

Couture A., Veyrac C., Baud C., Ferran J.L., eds,

Sauramps Médical (Monpellier) : 35.

Berrebi A., Bénichou A.C., Sarramon M.F., Bessiéres M.H., Rolland M., Kobuch W.E., Demur C., Solera M.L., Sie P., Amouroux J., Fournié A.(1992)

Valeurs biologiques de référence chez le foetus humain. A propos de 106 ponctions de cordon in utero.

J. Gynecol. Obstet. Biol. Reprod., 21 : 355 - 359.

Bertinchant JP. (1998a)

Value of cardiac troponin I determination in the diagnosis of myocardial contusion.

20th congress of the European Society of Cardiologie.

Abstract, Vienna, Austria, 22-26 August 1998.

Bertinchant JP. (1998b)

Cardiac troponine I elevation following successfull angioplasty is not associated with a worse late clinical outcome.

presented at the 20th congress of the European Society of Cardiologie, Vienna, Abstract Austria, 22-26 August 1998.

Bilardo C.M., Nicolaïdes K.L., Campbell B.(1990)

Doppler mesurements of fetal and utero-placental circulations: relationship with umbilical venous blood gases measured at cordocentesis.

Am. J. Obstet. Gynecol., 162 : 115 - 120.

Bhavsar P.K., Dhout G.H., Cumming D.V., Butler-Browne G.S., Yacoub M.H., Barton P.J. (1991)

Developmental expression of troponin I isoforms in fetal human heart.

FEBS letter, 292 :5-8.

Braun S. L., Baum H., Neumeier D., Vogt W. (1996)

Troponin T and troponin I after coronary artery bypass grafting: Discordant results in patients with renal failure.

Clin. Chem. , 42 : 781-783.

Breitbart R.E., Nguyen H.T., Medford R.M., Destree A.T., Madhavi V., Nadal-Ginard B. (1985)

Intricate combinatorial patterns of exon splicing generate multiple regulated troponin T isoforms from a single gene

Cell, 41 : 67.

Britton V.C., Hernandez A., Roberts R. (1980)

Plasma creatine kinase isoenzyme determinations in infants and children.

CHEST, 77 : 758 - 760.

Chemnitz G., Nevermann L., Schmidt F.W., Lobers J. (1979)

Creatine kinase and creatine kinase isoenzymes during pregnancy and labor and in the cord blood.

Clin. Biochem., 12 : 277 - 281.

Chemnitz G., Schmidt E., Koller P.U., Busch E.W. (1979)

Kreatinkinase

Deutsch Medical Wünscher, 104 : 257.

Chopin N., Lavaud J., Voyer M., Bailly M., Cloup M. (1980)

Creatine kinase sérique BB dans la souffrance cérébrale du nouveau-né.

Annale de biologie clinique, 38 : 345 - 350.

Curzen P., Bekir J. S., Mc Lintock D. G., Patel M. (1994)

Reality of cardiotocography in predicting baby's condition at birth.

British Medical Journal, 289 : 1345-1347.

Daffos F. Et Forestier F.(1988)

Biologie du sang foetal.

In : Médecine et biologie du foetus humain, Eds, Maloine, Paris : 79 - 123.

Daffos F., Descombey D., Mac Aleese J., Giovangrandi Y., Forestier F. (1989)
Prélèvement de sang foetal.
In : Deuxièmes journées d'enseignement de médecine et de biologie foetales : 22 - 42.

Dai Il, Jialal I, Keffer J. (1996)
Greater frequency of increased troponin Ic than increased troponin T in patients with chronic renal failure.
Clin. Chem, 42 : 114-115.

David P., Ronzier M., Le Pechon C. (1996)
Dosage de la troponine Ic chez le nouveau-né en maternité. Serait-elle le marqueur de la souffrance foetale ?
JIB, 9 : 111 - 112.

DGKC, the Commition for enzyme diagnostics and standardisation of the german sociéty of clinical chemistry (1972)
Standardisation of methods for the estimation of enzymes activities
in biological fluids.
Z. Klin. Chem. Klin. Biochem., 10 : 281 - 291.

Dhoot G.K.,Gell P.G.H., Perry S.V. (1978)
The localisation of the different forms of troponin I in skeletal and cardiac muscls cells.
Exp. cell. res., 117 : 357-370.

DiekmannL.J., Solaro R.J. (1990)
Troponin Ic in chest paint.
Circ. Res., 1990 : 344-351.

Dorè D. (1994)
Les LDH
In : Biochimie clinique, Maloine, Eds : 151-162.

Ebashi S., Wakabayashi T., Ebashi F. (1971)

Troponin and its components.

Biochem. J., 69 : 441.

Economides D.L., Nicolaïdes K.H.(1989)

Oxygenation and metabolism of smallfor gestational age fetuses.

Res. Gynecol., 1 : 550 - 556.

Edouard A. (1998)

Troponine Ic et polytraumatisés

In : Intérêt clinique de la troponine Ic, Compte rendus de l'atelier du 29/10/98 organisé par la société Atelier Dade Behring. Paris : 6-13.

Estagnasié P., Mourvillier B., Bogart C., Puy H., Coste F., Deybach J.C., Dreyfuss D. (1998)

Troponine Ic et choc septique.

In : Intérêt clinique de la troponine Ic, Compte rendus de l'atelier du 29/10/98 organisé par la société Atelier Dade Behring. Paris : 14-17.

Eyk J.E.V., Hodges R.S. (1988)

The biological importance of each amino acid residue of the troponin I inhibitory sequence 104-115 in the interaction with the troponin C and tropomyosin.

J. biochem. Chem., 263 : 1726-1732.

Fischbach F., Zawta B. (1992)

Age-dependent reference limits of several enzymes in plasma at different measuring temperatures.

Klinical Laboratory, 38 : 555.

Forissier J.F., Carrier L., Farza H. (1996)

Codon 102 of the cardiac troponin T gene Is a putative hot spot for mutations in familial hypertrophic cardiomyopathy.

Circulation, 94 : 3069-3073.

Fouse B., Shelton S., W.N.P. Herbert, Sedor F.(1998)

Reference Range Evaluation for Cord Blood Gas Parameters.

Clin. Chem., 44 (suppl) : A13-A14.

Kanemitsu F., Okigaki. T. (1988)

créatine kinase isoenzymes.

J. Chromatography, 429 : 399-417.

Gahlmann R., Kedes L. (1990)

Cloning, structural analysis and expression of the human fast twitch skeletal muscle troponin C gene.

J. Biol. Chem., 265 : 1250.

Gao W.D., Kennedy J.M., Solaro R.J. (1995)

Differential expression of TnI and TnT isoformes in rabbit heart during the perinatal period and during cardiovascular stress.

J.Mol.Cell Cardiol., 27 : 541 - 550.

Gaultier C. (1998)

Troponine Ic et angor instable.

In : Intérêt clinique de la troponine Ic, compte rendu de l'Atelier du 29 octobre 1998, édition Dade Behring : 3-5.

Gilboa N., Swanson J.R. (1976)

Serum creatine phosphokinase in normal newborns.

Arch. Dis. Child., 51 : 283 - 285.

Goodwin T. M., Belai I., Hernandez P., Durand M., and Paul R. (1992)
Asphyxial complications in the term newborn with severe umbelical acidemia.
Am. J Obstet. Gynecol.,164 : 1506-1512.

Gozzo M.L., Noia G., Barbaresi G., Colacicco L., Serraino M.A., De Santis M., Lippa S., Callà C., Caruso A., Mancuso S. et Giardina S. (1998)
Reference intervals for 18 clinical chemistry analytes in fetal plasma samples between 18 and 40 weeks of pregnancy.
Clin. Chem., 44 : 683 - 386.

Grand R.J.A., Wilkinson M. (1976)
The amino acid sequence of rabbit cardiac troponin I.
Biochemical journal, 159 : 633-641.

Grand J.W., Canter C.E., Spray T.L., Landt Y., Saffitz J.E., Ladenson J.H. (1994)
Elevated donor cardiac tropo,nine Ic : a marker of acute graft failure in infant heart recipients.
Circ., 90 : 2618 - 2621.

Haider K.H., Stimson W.H. (1993)
Cardiac troponin I: A biochemical marker for cardiac cell necrosis.
Disease Markers, 11 : 205 - 215.

Hamm C. (1997)
The pronostic value of serum troponin Ic in unstable angina.
New Engl. J. Med., 337 : 1648.

Hetland O., Dickstein K. (1998)

Cardiac troponins I and T in patients with suspected acute coronary syndrome: a comparative study in a routine setting.

Clin. Chem., 44 : 1430-1436.

Hirsch R., Landt Y.,Landt M., Canter E.Ladenson H., Wood M.K., Dent C.L., Huddleston B., Mendeloff E.N. (1996)

Patterns and predictive value of cardiac troponine Ic after cardiothoracic surgery in children.

Circ., 94 : 1996.

Hirsch R., Landt Y., Porter S., Canter E., Allan S., Jaffe S., Ladenson H., Grant W., Landt M.(1997)

Cardiac troponine Ic in pédiatriques: Normal values and potential use in the assessment of cardiac injury

J. pediatrics, Juin 97 : 872 - 877

Holfeld P., Marty F., De Grandi P., Tissot J.D., Bossart H.(1998)

Le livre de l'interne en obstétrique, 2ème édition.

Edition Médecine et Sciences, eds Flammarion : 294.

Hollander D.L., Wright L., Wright J.N., Nagey D.A., Pupkin M.J., Koch T. (1997)

Indicator of perinatal asphyxia.

Am. J. Obstet Gynecol, 157 : 839 - 843.

Holleman C., Fouse B., Schelton B., Kirvan K., Herbert W.N.P., Sedor F. (1998)

Troponin I and troponin T in umbilical cord blood.

Clin. Chem., 44 (Suppl) : A15.

Huijgen H.J., Sanders G.T.B., Koster R.W., Vreeken J., Bossuyt P.M.M. (1997)

The Clinical Value of Lactate deshydrogenase in Serum: a qualitative Review.

Eur; J. Clin. Chem. Clin. Biochem., 35 : 569 - 579.

Humphrey J.E., Cummins P. (1984)

Regulatory proteins of the myocardium. Atrial and ventricular tropomyosin and troponin I in the developping and adulte bovine and human hearts.

Journal molecular cells cardiology, 16 : 643-657.

Hunkler N.M., Cumming P. (1991)

Troponin I isoform expression in human heart.

Circ. Res., 69 : 1409-1414.

Jesse E., Adams, Kenneth B.Schechtman, Yvonne Landt, Jack H. Ladenson, and Allan S. Jaffe (1994)

Comparable detection of acute myocardial infarction by creatine kinase MB isoenzyme and cardiac troponin I.

Clin. Chem., 40 : 1291-1295.

Kanemitsu F., Oligaki T. (1988)

Créatine kinase isoenzymes..

J. Chromato. 429 : 399-417.

Katrukha G.A. (1998)

Degradation of cardiac troponin I: implication for reliable immunodetection.

Clin. Chem.,44 : 2433-2440.

Katus H.A., Looser S., Hallermayer K., Remppis A., Scheffold T., Borgya A., Essig U., Geus U. (1992)

Development and in vitro characterization of a new immunoassay of cardiac troponin T.

Clin. Chem., 38 : 386.

Kruger K., Kublickas M., Westgren M. (1998)

Lactate in scalp and cord blood from fetuses with ominous fetal heart rate patterns.

Obstret. Gynecol., 92 : 918 - 922.

Kwasowo-zasadowa R. (1997)

Acid-base balance and activity of CK, ALT, GPT, LDH enzymes in umbilical venous flood in full-term infants.

Ginekol. Pol., 68 : 515 - 517.

Lackmann G.M., Tollner U., Mader R. (1993)

Serum enzyme activities in full-term asphyxiated and healthy newborns : enzyme kinetics during the first 144 hours of life.

Enz. Prot., 47 : 160 - 172.

Lackmann G.M. (1996)

Influence of neonatal idiopathic respiratory distress syndrome on serum enzyme activities in premature healthy and asphyxiated newborns.

Am. J. Perinat., 13 : 329 - 334.

Larue D.C., Calzolari C., Bertrinchant JP., Leclercq F., Grolleau R., Pau C. (1993)

Cardiac-specific immunoenzymometric assay of troponin I in the early phase of acute myocardial infarction.

Clin. Chem., 39 : 972 - 979.

Larue C. (1996)

Muscle protéins.

In :Références Troponine Ic, Novembre 1998, Structure of Antigens : 183-219.

MHV Van Regenmortel, New-York- London- Tokyo, 3 .

Larue C., Ferrieres G., Laprade M., Calzolari C., Granier C. (1998)

Antigenic definition of cardiac troponin I.

Clin. Chem. Lab. Med., 36 : 361 - 365.

Laure C., Defacque-Lacquement H.,Calzolari C., N guyen D.L., Pau B. (1992)

New monoclonals antibodies as probes for human cardiac troponin I: Epitopic analysis with synthetic peptides.

Mol. Immunol., 29 : 271-278.

Lavoinne A., Quillard M., Hue G. (1997)

Marqueurs cardiaques.

Feuillets de Biologie, 38 : 67-71.

Legras B., Clerc C., Ruelland A., Vialard J., Millon J., Cloarec L. (1990)

Blood chemistry of human fetuses in the second and third trimesters.

Prenat. Diagn., 10 : 801 - 807.

Le-Saleh S., Warber K. And Poter J. (1986)

The roleof tropomyosin-trioponin in the regulation of skeletal muscle contraction.

J. Muscle Res. Cell. Motil., 7 : 387.

Lorentz K., Rohle G., Siekmann L. (1995)

Einführung der neuen standardmethoden 1994 zur Bestimmung der katalytischen enzymkonzentrationen bei 37°C.

DGKC, 26 : 290.

Lubchenko L.O., Hansman C., Dressler M., Boyd E.(1963)
Intrauterin growth as estimated from liveborn birthweight data at 24 to 42 weeks of gestation.
Pediatrics, 32 : 793- 800.

Mair J., Wagner I., Puschendorf B., Mair P., Lechleitner P., Dienstl F. (1993)
Cardiac troponin I to diagnose myocardial injury.
Lancet, 341 : 838 - 839.

Mair J., Larue C., Mair P., Balogh D., Calzolari C., Puschendorf B. (1994)
Use of cardiac troponin I diagnose perioperatve myocardial infarction in coronary artéry bypass grafting.
Clin. Chem., 40 : 2066 - 2070.

Mair J., Morandell D., Genser N., Lechleitner P., Dienstl F., Puschendorf B. (1995)
Equivalent early sensitivities of myoglobin, creatine kinase MB mass, creatine kinase isoform ratios and cardiac troponins I and T for acute myocardial infarction..
Clin. Chem., 41 : 1266-1272.

Marker C.L. (1984)
Biochemistry and function of lactate deshydrogenase.
Cells Biochemistry and Function, 2 : 131 - 134.

Mathieu M. (1991)
Créatine kinase, chapitre 15.
Référence en biochimie, éds Option Bio : 247 - 260.

Mauriat P. (1998)
Apport de la troponine Ic en chirurgie cardiaque pédiatrique.
In: Intérêt clinique de la troponine Ic, compte rendu de l'atelier du 29/10/1998, Hôpital Laennec, Paris, éds Dade Behring : 36- 40.

Mesnard L., Samson F., Espinasse I., Durand J., Neveux J.Y., Mercadier J.J. (1993)

Molecular cloning and developmental expression of human cardiac troponin T.

FEBS , 328 :139.

Mittamann K., Jacquet K., Heilmeyer jr L.M.G. (1990)

A common motif of two adjacent phosphoserines in bovine, rabbit and human cardiac troponin I.

FEBS , 273 : 41-45.

Murphy A.M., Jones L., Smis H.F., Strauss A.W. (1998)

The molecular cloning of rat cTnI and analysis of troponin I isoform expression in developing rat heart.

Biochem., 30 : 707-717.

Norbert Genser, Helmut Ellemunter, Johannes Mair, Franz M. Fink, Harald Maurer, Bernd Puschendo (1998)

Cardiac troponin T and CKMB mass concentrations in asphyxiated neonates.

Clin. Chem., 44 (suppl), A 0658.

Ohtsuka T., Gilbert R.D. (1995)

Cardiac enzyme activities in fetal and adult pregnant and nonpregnant sheep exposed to high-altitude hypoxemia.

J. Appl. Physiol., 79 : 1286 - 1289.

Orlandi F., Damiani G., Jakil C., Rossi C., Maggio A., Scola B., Cittadini E., Quartararo P. (1987)

Clinical results and and fetal biological data in 140 early second trimester diagnostic cardiocenteses.

Acta. Europ. Fertil., 18 : 329 - 333.

Panteghini M., Agnoletti G., Spandrio M. (1995)

Reference values for two serum cardiac markers, troponin T and CKMB mass in premature infants.

Clin. Chem., 41 : 1105-1109.

Parmacek M.S., Leiden J.M. (1991)

Structure, function and regulation of troponin C.

Circ., 84 : 991.

Philippon C. (1997)

Myoglobine, CKMB-masse, troponine I.

Feuillets de biologie, 38 : 41 - 45.

Price W.A., Rong L., Stiles A.D., D'ercole A.J. (1992)

Changes IGF 1 and 2, IGF binding protéin and IGF receptor transcript abundance after uterine artery ligation.

Pedia. Res., 32 : 291 - 295.

Puelo, P.R., Meyer D., Wathen C., Tawa C.B., Wheeler S., Hamburg R.J.,Ali N.,Obermueller S.D.,Triana J.F., Zimmermann J.L., Perryman M.B., Roberts R. (1994)

Use of rapid assay of subsforms of créatin kinase MB to diagnose or rule out acute myocardial infarction.

New Engl. J. Med., 331 : 561.

Ricchiuti V., Voss E.M., Nei A.,Odland M., Anderson P.A.W., Apple F.(1998)

Cardiac troponin T isoforms expressed in renal diseased skeletal muscle will not cause false-positive results by the second generation cardiac troponin T assay by Boehringer Mannheim.

Clin. Chem., 44 : 1919-1924.

Robert Y., Bourgeot P., Vaast P.(1997)

Cahiers de radiologie N°14, sous la direction de D. Doyon et L. Monnier-Cholley Eds Masson.

Roher A., Lieska N., Spitz W. (1986)

The amino acide sequence of human cardiac troponin C.

C. Muscl. Nerve, 9 : 73.

Routiot T. (1996)

Mémoire de DES de gynécologie obstétrique.

Retard de croissance in utero. Etude du caryotype et de la biologie foetale. A propos de 49 cas.

Faculté de médecine de Nancy.

Rudolph N., and Gross T. R. (1996)

Creatine phosphokinase activity in serum of newborn infants as an indicator of fetal trauma during birth.

Pediatrics, 38 : 1039-1046.

Ruth V.J., Ravio K.O. (1988)

Perinatal brain damage : predictive value of metabolic acidosis and the apgar score.

Br. Med. J., 297 : 24 - 27.

Sasse S., Brand N., Kyprianou P., Dhoot G., Wade R., Arai M., Periasamy M.,Yacoub M., Barton P. (1993)

troponin I gene expression during human cardiac development and in end-stage heart faillure.

Circ. Res., 72 : 932.

Scandinavian Society for Clinical Chemistry and Clinical Physiology (SSCC)(1974)

Recommands méthods for the determination of four enzymes in blood.

Scand. J. Clin. Lab. Invest., 33 : 291 - 306.

Schiele F. (1997)

Lactate déshydrogénase, chapitre N°22.

In : Référence en biochimie, éds Option Bio : 353 - 367.

Schmidt F.W. (1978)

Rationale for the use of enzyme determinations in the diagnosis of liver disease.

In : Evaluation of liver function edition Baltimore, Urban and Schwarzenberg : 51 - 78.

Schrive I., Caudie C., Glaisal S., Zougari M., Quincy Cl. (1989)

Infarctus du myocarde: évolution des marqueurs les plus précoces sous thrombolytiques.

In : Biologie prospective, 7ème colloque de Pont-à-Mousson, JLE : 229 - 233.

Schroeder H., Miton A., Nabet P., Dousset B. (1998)

Cardiac troponin I is a potential marker of myocardial damage associated with hypoxia in human fetus.

Clin. Chem., 44 (Suppl) : A128.

Siest G., Henny J., Schiele F. (1990)

Références en Biologie Clinique, Collection Option Bio.

éds Elsevier : 353 - 367.

Sonek J., NicolaÏdes K.J. (1994)

The role of cordocentesis in the diagnosis of fetal well-being.

Clinics in Perinatology, 21 : 743 - 764.

Steghens J.P., (1984)

Créatine kinase BB placentaire humaine.

Thése Doctorat es-sciences pharmaceutiques, Lyon.

Stein W., Decker E. (1989)

Post-transcriptional isoforms of CK : mechanisms and possible clinical applications

In : Biologie prospective.7°Colloque de Pont-à-Mousson : 235-241.

Stein W., Bohner J. (1982)

Unexpected créatine kinase patterns:isoenzyme electrophoresismay yield ambiguous results.

Clin. Chem., 28 : 1824.

Stein W., Bohner J., -Eggstein M., Lang H. (1983)

Creatine kinase variants.

Clin. Chem. Clin. Biochem., 21 : 859-876.

Stein W., Bohner J., Bahlinger M. (1986)

Macro creatine kinase.

Advances in clinical enzymologie , 3 : 95.

Steven J., Soldin Bailey J., Björn S., Beatey J., Hicks J.M. (1995)

Pediatric reference ranges for LDH.

Clin. Chem., 41 : s93.

Sutton T.M., O'brien J.F., Kleinberg F., House R.F., Feld R.H. (1981)

Serum level of creatine phosphokinase and its isoenzymes in normal and stressed neonates.

Mayo Clinical Proc , 56 : 150 - 154.

Sykes G, Johnson F, Molloy M.P., Ashworth F., Wei Gu, Stirrat M.G., Turnbull A. C. (1982)

Do Apgar scores indicate asphyxia?

Lancet, 27 : 494- 496.

Tanaka H., Deguchi T. (1995)

The propective effect of benidipine hypochloride against hypoxic myocardial injury of cultured mouse fetal heart cells.

Nippon Yakurigaku Zasshi, 105 : 161 - 169.

Tchobroustsky C. (1995 a)

Retard de croissance intra-utérin

In : Obstétrique, Papernik E., Cabrol D., Pons J.C.

Paris éd. Médecine-Sciences Flammarion : 555 - 563.

Tchobrousky C., Henrion R., Dumez Y., Doumergues M. (1995 b)

In : Décisions obstétricales, 2ème édition, édition Pradel

Tournié A., Grandjean H. Et Thoulon J-M.(1987)

La souffrance foetale, progrès en gynécologie 2

Collection publiée sous la direction du Pr. R. Zittoun

Edition Doin

Tournies H.D.E., Herwin R., Delecan M.(1993)

Gynécologie et obstétrique

Abrégés Illustrée, Masson 6ème édition

Valeurs usuelles en pédiatrie, 3 ème édition(1998)

Biologiste et pratitien, 113 : 25

Vallins W.J., Brand N.J., Dhabade N., Bulter-Brown G., Yacoub M.H., Barton P.J.R. (1990)

Molecular cloning of human cTnI using polymerase chain reaction.

FEBS, 270 : 57-61.

Vasseault A., Maire I., Sebille L., Bozon D. (1982)

Société Française de biologie clinique. (SFBC) Commission Enzymologie

Recommandations pour la mesure de la concentration catalytique de la lactate déshydrogénase dans le sérum humain à +30°C.

Annal de Biologie Clinique, 40 : 123 - 125.

Vassault A. (1983)

Lactate déshydrogénase UV method with pyruvate and NADH.

Methods of enzymatic analysis, 3éme édition Weinheim, Verlag chemie : 118 - 126.

Ville Y., Snirjders R.J.M., Nicolaïdes K.H. (1993)

Apport de la cordocentèse à l'étude des retards de croissance intra-utérins.

Réf. Gynecol. Obstet. , 1, 1 : 54 - 56.

Vincent D., Notter A., Cellier-Chapuis C. (1978)

Lactate deshydrogenase and its isoenzymes in human umbilical cord tissue.

C.R.Seances Soc.Biol. Fil., 172, 1162 - 1167.

Vipin Bhayana, Thomas Gougoulias, Steve Cohoe, and A. Ralph Henderson (1995)

Discordance Between Results For Serum Troponin T and Troponin I in Renal Disease.

Clin. Chem, 41 : 312-317.

Voet D., Voet J.G (1990a)

Structure quaternaire.

Biochimie, Eds De Boeck Université, Section 7-5 : 183.

Voet D., Voet J.G(1990)(b)

Glycolyse.

Biochimie, Eds De Boeck Université,Chapitre 16 : 464 - 466.

Waskiewicz D., Lavigne L., Salhaney J.,Annunziato M., Fagan G., Whiteley G. (1995)

Rapid self-contained troponin I assay for the Behring OPUS* immunoassay system.

Clin. Chem., 41 : poster 131.

Welder A.A., Grant R., Kutschke R.L., Anthony M., Bradlaw law J., Acosta D. (1991)

Effect of maternal calorie-restrictived diet of development of the foetal heart, as evaluated in primary cultures of rat myocardial cells.

Food chem. toxicol., 29 : 445 - 452.

Wilkinson J.M. (1980)

Troponin C from rabbit slow skeletal and cardiac muscle is the product of the single gene.

Eur. J. Biochem., 103 : 179.

VU

NANCY, le **5 AVRIL 2000**
Le Président de Thèse

Professeur **P. NABET**

NANCY, le **23 MAI 2000**
Le Doyen de la Faculté de Médecine

Professeur **J. ROLAND**

BIBLIOTHÈQUE MÉDECINE

AUTORISE À SOUTENIR ET À IMPRIMER LA THÈSE

NANCY, le **27 MAI 2000**

LE PRÉSIDENT DE L'UNIVERSITÉ DE NANCY 1

Professeur **C. BURLET**

RÉSUMÉ DE LA THÈSE:

La troponine Ic est une protéine fonctionnelle spécifique de l'appareil contractile du myocarde. Dans le coeur foetal, la troponine Ic est produite dès la vingtième semaine de vie *in utero*, exclusivement au niveau cardiaque. Il s'agit d'un caractère qui la rend plus intéressante que les autres marqueurs de la souffrance cardiaque habituellement utilisés, notamment la troponine T, LDH 1 et CKMB qui sont produites par d'autres organes chez le foetus.

Le dosage sérique est préconisé chez l'adulte pour confirmer un infarctus du myocarde. Grâce aux nouvelles techniques d'immunoanalyse qui améliorent la sensibilité du test, il est employé aussi pour mettre en évidence des souffrances hypoxiques du myocarde ou micronécroses.

Grâce à de nouvelles techniques permettant des ponctions de sang foetale *in utero*, les examens biologiques sont maintenant possibles.

Nous présentons ainsi une étude rétrospective sur 115 foetus prélevés *in utero* et répartissons les foetus selon une souffrance hypoxique, hypoxique d'origine cardiaque et non hypoxique. La LDH totale et ses isoformes, l'activité enzymatique des CK totales et CKMB et le dosage pondéral des troponine Ic et CKMB sont dosés sur ces sérums.

Les isoformes de la LDH sont corrélées à l'état d'hypoxémie foetale. La LDH totale est le marqueur le plus pertinent pour mettre en évidence une souffrance foetale hypoxique.

Enfin, après avoir signalé des taux importants de troponine Ic dans le sérum foetal pour des cas désespérés, et malgré l'adaptation vasculaire foetale à l'hypoxie privilégiant les organes nobles dont le coeur, les taux de troponine Ic sont souvent élevés en cas de souffrance. De plus, ils sont corrélés aux taux de LDH totale et semblent être corrélés le plus souvent à un pronostic complexe.

TITRE EN ANGLAIS :

Utility of heart pain markers in the fetal medecine.

THÈSE : MÉDECINE SPECIALISEE - ANNÉE 2000

MOTS CLEFS :

Sang foetal; Marqueurs biologiques-sang; Foetus, maladie-diagnostic

INTITULE ET ADRESSE DE L'U.F.R. :

FACULTE DE MEDECINE DE NANCY

9, avenue de la Forêt de haye

54505 - VANDOEUVRE LES NANCY Cedex