جامعة سيدي محمد بن عبد الله بفاس
UNIVERSITÉ SIDI MOHAMED BEN ABDELLAH DE FES
كلية العلوم ظهر المهراز فاس
FACULTE DES SCIENCES DHAR EL MAHRAZ FES

N° d'ordre : 15/2024

Centre des Études Doctorales : Sciences et Techniques et Sciences Médicales

Formation Doctorale : Molécules Bioactives, Santé et Biotechnologies (MBSB)

Discipline : Biologie

Spécialité : Génétique et biologie moléculaire

Laboratoire : Laboratoire de Biotechnologie, Environnement, Agroalimentaire et Santé. Laboratoire de génétique médicale et d'oncogénétique.

Thèse pour l'obtention de DOCTORAT

Biomarqueurs de prédisposition génétique et de réponse au clopidogrel dans le Syndrome coronarien aigu

Préparée par : Mr MOUHRACH Ismail

Soutenue le 29 mars 2024 devant le jury :

Nom et Prénom	**Grade**	**Etablissement**	**Qualité**
Pr. OULDIM Karim	PES	FMPF – Fès	Président
Pr. BENNIS Sanae	PES	FMPF – Fès	Rapporteur & examinateur
Pr. CHAFAI EL ALAOUI Siham	Pr. Agrégé	FMPR – Rabat	Rapporteur & examinateur
Pr. TAJIR Mariam	Pr. Agrégé	FMPO – Oujda	Rapporteur & examinateur
Pr. AKOUDAD Hafid	PES	FMPF – Fès	Examinateur
Pr. BOUIA Abdelhak	PES	FSDM – Fès	Examinateur
Pr. LOUASTE Bouchra	PH	FSDM – Fès	Examinateur
Pr. BOUGUENOUCH Laila	Pr. Agrégé	FMPF – Fès	Co-encadrante
Pr. BEKKARI Hicham	PES	FSDM – Fès	Directeur de thèse

Année universitaire :2023-2024

Résumé

La maladie coronarienne et l'infarctus du myocarde sont des maladies complexes dont l'héritabilité non mendélienne résulte de l'interaction intrinsèque de plusieurs gènes. La génétique de la maladie coronarienne a été bien étudiée au niveau de la signification à l'échelle du génome, et plusieurs loci génomiques de susceptibilité à la maladie coronarienne ont été collectivement identifiés par de récentes études d'association à l'échelle du génome. Les tests génétiques offrent la possibilité de pratiquer une médecine de précision en identifiant des sous-groupes de patients présentant un risque accru de maladie coronarienne, ce qui pourrait orienter vers des approches thérapeutiques ou préventives plus ciblées.

Le calcul du score de risque génétique pour les MCV représente ainsi une dimension complémentaire dans l'évaluation du risque global, prenant en compte les variations génétiques contribuant au risque individuel, en plus des facteurs de risque traditionnels. En parallèle à la prévention précoce des maladies cardiaques, la surveillance de la réponse thérapeutique revêt d'une importance cruciale. Dans cette optique, la pharmacogénomique des antiplaquettaires a révélé une variabilité substantielle de la réponse au clopidogrel chez les patients coronariens.

L'objectif global de notre recherche est double : examiner la relation entre les variations génétiques et la prédisposition au syndrome coronarien aigu (SCA), ainsi qu'analyser la variabilité de la réponse au clopidogrel au sein de la population marocaine.

Dans la première partie, une étude cas-témoins basée sur le séquençage nouvelle génération a été menée pour identifier des polymorphismes génétiques liés au SCA chez la population marocaine. Dans la seconde partie, nous avons évalué l'effet modulateur potentiel des variants alléliques des gènes CYP450 (*CYP2C9*, *CYP2D6*, *CYP2B6*, *CYP3A4*, *CYP3A5* et *CYP2C19*), ainsi que de polymorphisme *ABCB1* (c.3435C>T), sur la réponse au clopidogrel chez les patients atteints de SCA, en utilisant la technique de génotypage macroarray CYP+ GenoChip. La réactivité plaquettaire a été mesurée à l'aide du test VerifyNow P2Y12 afin d'évaluer la réponse au médicament.

La présente étude a mis en évidence deux variations génétiques (rs1800470 du gène *TGFB1* et rs699947 du gène *VEGFA*) liées aux SCA dans la population étudiée, suggérant leur utilité dans le calcul d'un score génétique combiné aux facteurs de risque classiques pour une évaluation plus complète du risque cardiovasculaire. Cette approche offre une base solide pour améliorer les programmes de prévention personnalisés en se basant sur les profils génomiques, thrombotiques et cardiovasculaires individuels.

L'étude pharmacogénétique du clopidogrel a démontré que les porteurs du variant *ABCB1* 3435T présentaient une tendance à ne pas répondre au traitement. Ainsi, ce variant pourrait potentiellement être envisagé comme un facteur prédictif de la réponse au clopidogrel, permettant de distinguer les répondeurs des individus susceptibles de résister au traitement.

Mots clés : maladies cardiovasculaires, syndrome coronarien aigu, polymorphismes génétiques, marqueurs génétiques, facteur de risque, clopidogrel.

Abstract

Coronary artery disease (CAD) and myocardial infarction (MI) represent intricate pathologies characterized by non-Mendelian heritability arising from the complex interplay of numerous genes. The genetics of CAD has undergone thorough investigation at the genomic scale, yielding the collective identification of several genomic loci predisposing individuals to CAD through recent large-scale genome-wide association studies. The application of genetic testing introduces a prospective avenue for precision medicine, wherein the identification of patient subgroups exhibiting an augmented susceptibility to coronary artery disease holds the potential to guide more nuanced and targeted therapeutic or preventive interventions.

The computation of genetic risk scores for cardiovascular diseases adds a supplementary dimension to overall risk assessment, accounting for genetic variations that contribute to individual risk in tandem with traditional risk factors. In concert with early preventative measures for cardiovascular diseases, the monitoring of therapeutic responsiveness assumes paramount significance. In this regard, the field of pharmacogenomics concerning antiplatelet agents has elucidated considerable heterogeneity in clopidogrel responsiveness among individuals with coronary afflictions.

The overarching objectives of our research are dual-fold: to explore the correlation between genetic variations and predisposition to acute coronary syndrome (ACS) and to adress the variability in clopidogrel responsiveness within the Moroccan population. The first segment of our investigation involved a case-control study based on next-generation sequencing, aiming to delineate genetic polymorphisms associated with ACS in the Moroccan population. The subsequent segment encompassed an evaluation of the potential modulatory impact of allelic variants of CYP450 genes (*CYP2C9*, *CYP2D6*, *CYP2B6*, *CYP3A4*, CYP3A5, and *CYP2C19*), alongside the *ABCB1* polymorphism (c.3435C>T), on clopidogrel responsiveness in ACS patients, employing the CYP+ GenoChip macroarray genotyping technique. Platelet reactivity was quantified through the application of the VerifyNow P2Y12 test to assess drug responsiveness.

This investigation has brought to light two discernible genetic variations (rs1800470 of the *TGFB1* gene and rs699947 of the *VEGFA* gene) associated with ACS in the population examined. Their potential utility lies in the computation of a genetic score, combined with conventional risk factors, to provide a more exhaustive assessment of cardiovascular risk. This methodology lays a robust foundation for refining personalized prevention initiatives grounded in individual genomic, thrombotic, and cardiovascular profiles.

The pharmacogenetic exploration of clopidogrel has revealed that carriers of the ABCB1 3435T variant tend not to respond to treatment. Consequently, this variant may be considered as a predictive determinant of response to clopidogrel, facilitating differentiation of responders from individuals predisposed to treatment resistance.

Keywords: cardiovascular diseases; acute coronary syndrome; genetic polymorphisms; genetic markers; risk factors; clopidogrel.

Dédicaces

Je dédie ce travail

À mes très chers parents,

Votre soutien indéfectible, votre foi en moi et vos prières constantes pour mon bonheur et ma réussite ont été une source inestimable de force et d'inspiration tout au long de mon parcours.

Aucun mot ne saurait exprimer adéquatement l'amour immense, la gratitude profonde et la reconnaissance infinie que je ressens à votre égard, pour les sacrifices et les efforts inlassables que vous avez consentis pour m'offrir une éducation, une formation et un bien-être optimaux.

Dans ce travail, je vous offre l'expression de mon amour le plus profond et de mon affection la plus sincère, en témoignage de ma reconnaissance éternelle.

Que Dieu vous protège, vous accorde une longue vie remplie de foi, de santé et de bonheur, et vous récompense par le plus haut des paradis.

À ma femme,

Compagne précieuse dans cette aventure académique. Partager cette même situation de thésard a été une expérience à la fois enrichissante et amusante, renforçant nos liens d'une manière unique.

Sa présence, son soutien inconditionnel et sa patience infinie ont été des piliers essentiels tout au long de cette période intense. Je suis profondément reconnaissant pour son intérêt constant à l'égard de mes études, ainsi que pour son engagement sans faille à mes côtés.

Son aide précieuse, tant sur le plan scientifique que sur le plan moral, a été d'une importance capitale pour mon cheminement. Sa capacité à me soutenir dans les moments de doute et d'incertitude a été une source de réconfort inestimable.

Je lui suis infiniment reconnaissant pour sa présence aimante et son soutien inconditionnel, et je souhaite exprimer toute ma gratitude pour sa contribution essentielle à la réalisation de ce travail.

À mes chers frères, ma chère sœur et à leurs familles,

Vous avez toujours été pour moi des modèles de courage, de patience et de persévérance. Je vous ai toujours regardés avec admiration et amour, et votre soutien inconditionnel a été une source inestimable de force et de motivation.

Je vous suis profondément reconnaissant de m'avoir encouragé et d'avoir toujours cru en moi. Dans ce travail, je vous offre le témoignage de mes sentiments les plus sincères et les plus affectueux.

Que Dieu vous protège, vous et vos enfants, et vous accorde santé, longue vie et réussite dans tous vos projets.

À mes chers amis du service de génétique, docteurs et futurs docteurs,

Au cours de ces années de thèse, nous avons partagé des moments inoubliables et surmonté ensemble les défis les plus complexes. Je tiens à vous exprimer ma profonde gratitude pour les précieux instants que nous avons partagés, que ce soit en discutant de divers sujets d'actualité, de concepts politiques, religieux, philosophiques et scientifiques, ou en esquissant les contours de nos rêves pour un avenir meilleur.

Votre amitié, votre soutien et votre camaraderie ont été d'une importance capitale dans cette aventure académique. Je vous remercie du fond du cœur pour ces moments de partage et de complicité.

Je vous souhaite à tous un avenir aussi brillant que vos aspirations les plus élevées. Puissiez-vous réaliser vos rêves les plus audacieux et atteindre des sommets insoupçonnés dans vos carrières et vos vies personnelles.

Remerciements

Je tiens à exprimer ma profonde gratitude envers mon directeur de thèse, le Professeur **Hicham BEKKARI**, pour l'opportunité précieuse qu'il m'a offerte de mener à bien cette thèse sous sa direction éclairée. Sa bienveillance, son soutien indéfectible et sa disponibilité sans faille tout au long de cette période ont été d'un soutien inestimable, surtout dans les moments les plus difficiles de ma vie. Je suis reconnaissant pour la confiance qu'il m'a accordée et l'autonomie qu'il m'a permis de bénéficier, des facteurs qui ont grandement contribué à la réussite de ce travail. J'ai été profondément inspiré par son esprit ouvert, sa capacité à inspirer la croissance chez ceux qui l'entourent et sa vision stimulante et ambitieuse de la recherche scientifique. Je souhaite lui exprimer toute mon admiration et ma gratitude sincère pour son précieux mentorat et son soutien continu. Que ces mots puissent témoigner de mon respect et de ma reconnaissance à son égard.

Je souhaite exprimer ma profonde reconnaissance envers Professeur **Laila BOUGUENOUCH**, ma co-directrice, pour son soutien indéfectible tout au long de cette thèse. Au-delà de son rôle professionnel, elle a été une figure exceptionnelle, m'offrant son assistance et son encouragement dans les moments les plus difficiles. Sa présence bienveillante et son dévouement sans faille ont été d'une aide précieuse, me permettant de surmonter les obstacles avec assurance. Je suis reconnaissant pour sa compréhension et son acceptation inconditionnelles, ainsi que pour sa capacité à reconnaître mes imperfections tout en me soutenant pleinement. Madame Bouguenouch a été une source de force et d'inspiration, et je lui adresse mes plus sincères remerciements pour son soutien inestimable et son accompagnement tout au long de ce parcours académique.

Je tiens à exprimer ma profonde gratitude envers le Professeur **Hafid AKOUDAD** pour son rôle déterminant dans l'encadrement de la partie clinique de cette thèse. Sa contribution remarquable a grandement enrichi ce travail de recherche. Je souhaite également souligner la qualité exceptionnelle de son accueil au sein de son service de Cardio-pédiatrie, ainsi que sa disponibilité exemplaire et son soutien efficace dans le recrutement des patients. La généreuse autorisation d'accéder aux registres cliniques qu'il m'a accordée a été d'une valeur inestimable pour la réalisation de cette étude. Je suis reconnaissant envers le Professeur Akoudad pour la confiance et l'autonomie qu'il m'a constamment témoignées, ainsi que pour ses qualités humaines remarquables qui ont été une source d'inspiration tout au long de ce projet. L'apport

du Professeur Akoudad a été indispensable à la réussite de cette thèse, et je lui adresse mes plus sincères remerciements et toute ma reconnaissance pour sa précieuse contribution.

Mes remerciements au président du jury,

Professeur **Karim OULDIM**, Professeur de génétique médicale à la faculté de Médecine et de pharmacie de Fès, Je tiens à vous remercier chaleureusement mon Professeur de m'avoir fait l'honneur de présider ce jury de thèse. Soyez assuré de ma sincère reconnaissance et de mon plus profond respect.

Au Membres du jury,

Professeur **Sanae BENNIS**, Professeur de biologie cellulaire à la faculté de Médecine et de pharmacie de Fès, Je tiens à vous remercier chaleureusement mon Professeur d'avoir accepté de faire partie de ce jury et de juger mon travail en tant que rapporteur. Soyez assurée de toute ma reconnaissance et de tout mon respect.

Professeur **Siham CHAFAI EL ALAOUI**, Professeur de génétique médicale à la faculté de médecine et de pharmacie de Rabat, Je vous remercie infiniment Professeur d'avoir accepté de juger ce travail en qualité de rapporteur. Soyez assuré de ma plus sincère reconnaissance et de mon plus profond respect.

Professeur **Mariam TAJIR**, Professeur de génétique médicale à la faculté de médecine et de pharmacie de Oujda, Je vous remercie grandement Professeur d'avoir accepté de juger ce travail en tant que rapporteur. Je vous en suis très reconnaissante et soyez assurée de de mon plus profond respect.

Professeur **Abdelhak BOUIA**, Professeur de génétique et de biologie moléculaire à la faculté des sciences Dhar El Mehraz de Fès, Je vous remercie chaleureusement cher professeur d'avoir accepté de juger ce travail en participant en qualité d'examinateur et pour le temps que vous avez consacré pour l'évaluation de ce travail. Soyez assuré de ma plus sincère reconnaissance et de mon plus profond respect.

Professeur **Bouchra LOUASTE**, Professeur de biotechnologie à la faculté des sciences Dhar El Mehraz de Fès, Je vous remercie grandement cher professeur d'avoir accepté de juger ce travail en qualité d'examinatrice et pour le temps que vous avez consacré pour l'évaluation de ce travail. Soyez assuré de ma plus sincère reconnaissance et de mon plus profond respect.

Liste des figures

Figure 1: Causes de mortalité au Maroc (OMS : Non Communicable Diseases, Country Profil 2018)..... 5
Figure 2: Effets du stress sur le développement des MCV 11
Figure 3: Cycle de la méthionine 13
Figure 4: Biosynthèse fibrinogène dans les hépatocytes 15
Figure 5: Rôle du fibrinogène dans la coagulation sanguine 16
Figure 6: Système de coagulation simplifié 17
Figure 7: Vue d'ensemble de la coagulation et de l'activation de la fibrinolyse 18
Figure 8: Rôle des principales cytokines et chimiokines dans l'initiation et la progression de l'athérosclérose 21
Figure 9 : Représentation schématique des cardiomyocytes comme source et cible du facteur de croissance endothélial vasculaire-A (VEGF-A) 24
Figure 10: Organisation des gènes et domaines fonctionnels codés des gènes VEGF humains et des gènes apparentés 25
Figure 11: Représentation schématique du gène humain FGF2 26
Figure 12: Structure du gène IGF-1 27
Figure 13: Structure du gène PDGFB 29
Figure 14 : Structure de l'artère normale large 31
Figure 15 : Étapes de développement de la plaque d'athérosclérose..... 32
Figure 16 :Vue d'ensemble de la biotransformation des inhibiteurs P2Y12 37
Figure 17 : Génotypes et phénotypes du cytochrome P450 38
Figure 18: Représentation schématique des protéines impliqués dans le pharmacocinétique du clopidogrel 40
Figure 19 : Marqueurs génétiques de l'HF et par conséquent des maladies coronariennes artérielles. 44
Figure 20 : Résultats des études GWAS et des locus de susceptibilité menés depuis 2010 ... 49
Figure 21 : Histogramme de taille des amplicons in-Silico du Panel Hotspot..... 57
Figure 22: Principe de détection de l'incorporation nucléotidique via les variations de pH dans la puce à ions Ion Torren,..... 59
Figure 23: Workflow de préparation des librairies Ion AmpliSeq d'ADN sur système Ion Chef 61
Figure 24 : Plaque PCR IonCode™ ;..... 62

Figure 25: Cartouche Ion AmpliSeq™ Chef Reagents DL8. 63
Figure 26: Schéma d'un instrument Ion ChefTM chargé pour préparation des librairies 64
Figure 27: Schéma d'un instrument Ion ChefTM chargé pour préparation des librairies 67
Figure 28: Principe de la technique TaqMan Genotyping 69
Figure 29: Rapport de séquençage Ion Torrent de la première puce 74
Figure 30: Rapport de séquençage Ion Torrent de la deuxième puce 74
Figure 31: Diagramme de discrimination allélique du polymorphisme rs2285094 75
Figure 32: Diagramme de discrimination allélique du polymorphisme rs308395 76
Figure 33: Diagramme de discrimination allélique du polymorphisme rs699947 76
Figure 34: Diagramme de discrimination allélique du polymorphisme rs35767 77
Figure 35: Diagramme de discrimination allélique du polymorphisme rs1800470 77
Figure 36: schéma explicatif de l'agrégométrie par transmission lumineuse du test VerifyNow. Accriva Diagnostics©2015 104
Figure 37 : Tube de réaction standard de 1.5ml avec la puce intégrée au fond. 107
Figure 38 : Présentation schématique de la puce GenoChip CYP+ : 107
Figure 39: Répartition des patients selon le sexe 116
Figure 40: Répartition des patients selon les facteurs de risques cardiovasculaires 116
Figure 41: Répartition des patients selon le diagnostic ECG 117
Figure 42: Distribution des patients selon les interactions médicamenteuses 117
Figure 43: Distribution des patients selon la réponse au clopidogrel 118

Liste des tableaux

Tableau 1 : Vue d'ensemble sur les inhibiteurs P2Y12. 36
Tableau 2 : Aperçu des causes génétiques du phénotype HF 45
Tableau 3: Les plateformes de séquençage NGS actuelles 50
Tableau 4: Polymorphismes mononucléotidiques (SNP) associés aux maladies cardiovasculaires (MCV) selon les données de recherche de 2005 à 2020 57
Tableau 5: Données montrant la recommandation du panel pour la préparation automatisée de la librairie avec Ampliseq workflow 64
Tableau 6: Données indiquant les informations appropriées saisies pour chaque cycle. 66
Tableau 7: polymorphisme détecté par TaqMan Genotyping 68
Tableau 8: Conditions expérimentales utilisés pour PCR en temps réel 69
Tableau 9: Protocole de PCR en temps réel utilisé pour l'amplification et la détection 70
Tableau 10: Séquences des sondes oligo-nucléotidiques utilisées pour le génotypage TaqMan 70
Tableau 11: Interprétation des signaux de fluorescence du génotypage TaqMan 70
Tableau 12: Caractéristiques démographiques de la population SCA étudiée 73
Tableau 13: Analyse des Fréquences Génotypiques et Alléliques de SNPs Sélectionnés au sein des Patients Atteints du SCA 79
Tableau 14: Fréquences Alléliques du SNP rs1800470 dans le gène TGFB1 : Une Analyse Comparative entre Patients Atteints du SCA et Sujets Témoins 83
Tableau 15: Distribution des fréquences génotypiques du SNP rs1800470 du gène TGFB1 entre cas et sujets témoins. 84
Tableau 16: Association du polymorphisme rs1800470 du gène TGFB1 avec le syndrome coronarien aigu. 84
Tableau 17: Fréquence alléliques du polymorphisme rs699947 du gène VEGFA chez les cas et les témoins 85
Tableau 18: Fréquences génotypiques du polymorphisme rs699947 du gène VEGFA chez les cas et les témoins dans l'étude sur le SCA 86
Tableau 19: Association du polymorphisme rs699947 du gène VEGFA avec le SCA 86
Tableau 20: Fréquence allélique du polymorphisme rs35767 dans IGF1 chez les patients atteints du syndrome coronarien aigu et chez les témoins. 87
Tableau 21: Fréquences génotypiques du polymorphisme rs35767 (A>G) du gène IGF1 chez les cas et les témoins 88

Tableau 22: Association du polymorphisme rs35767 du gène IGF1 avec le syndrome coronarien aigu 88
Tableau 23: Fréquence allélique du polymorphisme rs2285094 du gène PDGFB chez les cas et les témoins 89
Tableau 24: Répartition génotypique du polymorphisme rs2285094 du gène PDGFB chez les patients atteints de syndrome coronarien aigu 89
Tableau 25: Association du polymorphisme rs2285094 du gène PDGFB avec le syndrome coronarien aigu : Analyse des génotypes chez les cas et les témoins 90
Tableau 26: Fréquence allélique du polymorphisme rs308395 chez les cas et les témoins..... 91
Tableau 27: Distribution des fréquences génotypiques du polymorphisme rs308395 du gène FGF2 chez les cas et les témoins 91
Tableau 28: Analyse de l'association du polymorphisme rs308395 (C>G) du gène FGF2 avec le syndrome coronarien aigu 92
Tableau 29: liste complète des variants analysés et de leurs conséquences fonctionnelles ... 105
Tableau 30: Variants génétiques analysées par le kit GenoChip CYP+ 108
Tableau 31: Préparation des Mix de la PCR Multiplex du test GenoChip CYP+ 109
Tableau 32: Programme du thermocycleur de la PCR multiplex GenoChip CYP+ 110
Tableau 33: Couples d'amorces choisis pour le séquençage Sanger 112
Tableau 34: programme du thermocycleur de la PCR pour le séquençage Sanger 113
Tableau 35: Protocole de la réaction de séquence Sanger 114
Tableau 36: programme du thermocycleur de la réaction de séquence 114
Tableau 37: Protocole de purification des produits de séquençage 114
Tableau 38: Répartition des caractéristiques des patients dans les deux groupes répondeurs et non répondeurs au clopidogrel 119
Tableau 39: Distribution de la prévalence du génotype et de l'allèle dans la population étudiée 121
Tableau 40: Distribution génotype/phénotype des gènes étudiés en fonction des groupes répondeurs et non-répondeurs au clopidogrel. 123
Tableau 41: Pourcentage de concordance entre le génotype par GenoChip CYP+ macroarray et le séquençage Sanger du CYP2C19 124

SOMMAIRE

LISTE DES ABRÉVIATIONS

INTRODUCTION GENERALE 1

Chapitre I : Étude bibliographique 5

I. Introduction 5

II. Maladies cardiovasculaires 6

II.1 Définition des maladies cardiovasculaires 6

II.2 Facteurs de risques classiques des maladies cardiovasculaires 6

II.2.1 Facteurs de risques modifiables 7

II.2.2 Facteurs de risque non modifiables 12

II.3 Facteurs de risque émergents des maladies cardiovasculaires 13

II.3.1 Hyperhomocystéinémie 13

II.3.2 Facteurs thrombopéniques 14

II.3.2.1 Fibrinogène 14

II.3.2.2 Facteur VII 16

II.3.2.3 Système fibrinolytique 17

II.3.3 Marqueurs de l'inflammation et d'adhésion 19

II.3.3.1 Protéine C-réactive 19

II.3.3.2 Facteur de nécrose tumorale alpha 20

II.3.3.3 Interleukine-6 21

II.3.3.4 Autres cytokines Interferon- γ 22

II.3.3.5 Chimiokines 22

II.3.4 Facteurs de croissance 23

II.3.4.1 VEGF-A 23

II.3.4.2 FGF-2 25

II.3.4.3 IGF1 27

II.3.4.4 TGF-β1 28

II.3.4.5 PDGFB 29

III. Syndrome coronarien aigu 30

III.1 Introduction 30

III.2 Épidémiologie 30

III.3 Physiopathologie 31

III.4 Diagnostic et classification du SCA 32

III.5 Traitement du SCA 33

III.5.1 Revascularisation coronaire 34

III.5.2 Traitement antihypertensif 34

III.5.3 Traitement hypolipémiant 35

III.5.4 Traitement antiplaquettaire 35

III.6 Pharmacologie et génétique des inhibiteurs P2Y12 36

III.6.1 Les thiénopyridines 37

III.6.2 Les Non-thiénopyridines 38

III.6.3 Implications du polymorphisme génétique (cas du clopidogrel) 39

IV. Approches génétiques du syndrome coronarien aigu 42

IV.1 Analyse des liaisons génétiques 43

IV.2 Approche gène candidats 46

IV.3 Études d'association pangénomique (GWAS) 47

IV.4 Séquençage nouvelle génération 49

IV.5 Score de risque génétique 51

IV.6 Intérêt de l'analyse génomique dans la prise en charge thérapeutique 52

CHAPITRE II : Polymorphismes génétiques de prédisposition au syndrome coronarien aigu 55

I. Introduction 55

II. Matériels et méthodes 56

II.1 Définition de la population étudiée 56

II.1.1 Critères d'inclusion 56

II.1.2 Critères d'exclusion 56

II.1.3 Collecte des données et méthodes d'échantillonnage 56

II.1.4 Population témoin 56

II.2 Étude des polymorphismes génétiques 56

II.2.1 Polymorphismes étudiés et design du Panel Hotspot 56

II.3 Séquençage par panel SNP ciblé sur la plateforme Ion Torrent S5 - ion Chef 58

II.3.1 Principe séquençage Ion Torrent 58

II.3.2 Protocole expérimental du séquençage par le système Ion Torrent S5 – Ion Chef.. 60

II.3.2.1 Préparation de la librairie Ion AmpliSeq™ sur le système Ion Chef™ 60

II.3.2.2 Préparation des Templates sur l'Ion Chef 65

II.3.2.3 Exécution du séquençage sur Ion GeneStudio™ S5 System 67

II.3.2.4 Analyse des données 67

II.4 Génotypage de la population témoin 68

II.4.1 Principe de la méthode TaqMan Genotyping 68

II.4.2 Protocole expérimental 69

II.4.3 Interprétation des signaux de fluorescence du génotypage TaqMan 70

II.5 Analyse statistique 71

III. Résultats 72

III.1 Caractéristiques démographiques, cliniques et paracliniques des patients : ... 72

III.2 Analyse de divers SNPs étudiés : 74

III.3 Analyse comparative des SNP entre les patients atteints du Syndrome Coronarien Aigu et les sujets témoins 83

III.3.1 Analyse du SNP rs1800470 du gène TGFB1 83

III.3.1.1 Fréquence allélique : 83

III.3.1.2 Fréquence génotypique : 83

III.3.1.3 Analyse d'association du polymorphisme rs1800470 entre les cas et les témoins 84

III.3.2 Analyse du polymorphisme rs699947 du gène VEGFA : 85

III.3.2.1 Fréquence allélique : 85

III.3.2.2 Fréquence génotypique : 85

III.3.2.3 Analyse d'association du polymorphisme rs699947 entre les cas et les témoins 86

III.3.3 Analyse du polymorphisme rs35767 du gène IGF1 87
III.3.3.1 Fréquence allélique : 87
III.3.3.2 Fréquence génotypique : 87
III.3.3.3 Analyse d'association du polymorphisme rs35767 (A>G) entre les cas et les témoins 88
III.3.4 Analyse du variant rs2285094 du gène PDGFB 89
III.3.4.1 Fréquence allélique : 89
III.3.4.2 Fréquence génotypique : 89
III.3.4.3 Analyse d'association du polymorphisme rs2285094 (T>C) entre les cas et les témoins 90
III.3.5 Analyse du variant rs308395 du gène FGF2 90
III.3.5.1 Fréquence allélique 90
III.3.5.2 Fréquence génotypique 91
III.3.5.3 Analyse d'association du polymorphisme rs308395 (C>G) entre les cas et les témoins : 91
IV. Discussion : 92
IV.1 Caractéristiques cliniques des patients : 92
IV.2 Analyse des divers SNPs étudiés : 93
IV.3 Analyse Comparative entre Patients Atteints du Syndrome Coronarien Aigu et Sujets Témoins 95
IV.3.1 Polymorphisme rs1800470 du gène TGFB1: Implications et Corrélations dans le Contexte du SCA 95
IV.3.2 Variant rs699947 du gène VEGFA : Implications et Corrélations dans le Contexte du SCA 96
IV.3.3 SNP rs35767 du gène IGF1 : Implications et Corrélations dans le Contexte du SCA 97
IV.3.4 Polymorphisme rs2285094 du gène PDGFB : Implications et Corrélations dans le Contexte du SCA 98
IV.3.5 SNP rs308395 du gène FGF2 : Implications et Corrélations dans le Contexte du SCA 99
V. Conclusions 100

CHAPITRE III : Polymorphismes génétiques impliqués dans la variabilité interindividuelle de réponse au clopidogrel 102

I. Introduction 102

II. Matériels et méthodes 103

II.1 Population étudiée 103

II.1.1 Critères d'inclusion 103

II.1.2 Critères d'exclusion 103

II.1.3 Collecte des données et méthode d'échantillonnage 103

II.2 Tests de fonction plaquettaire VerifyNow P2Y12 assay 103

II.2.1 Principe du test VerifyNow P2Y12 103

II.2.2 Protocol expérimental 104

II.3 Étude des polymorphismes génétiques 104

II.3.1 Choix des gènes et des polymorphismes étudiés 104

II.3.1.1 Phénotypage : applications dans l'étude des polymorphismes impliqués dans la pharmacogénétique du clopidogrel 105

II.3.2 Purification de l'ADN 106

II.3.3 Génotypage par le test GenoChip CYP+ 106

II.3.3.1 Principe du test GenoChip 106

II.3.3.2 Protocole expérimental 109

II.3.4 Séquençage Sanger 111

II.3.4.1 Séquences des amorces 112

II.3.4.2 Réaction de polymérisation en chaine (PCR) 112

II.3.4.3 Séquençage par la méthode de Sanger 113

II.3.4.4 Analyse bio-informatique 115

II.4 Analyse statistique 115

III. Résultats 116

III.1 Données démographiques des patients 116

III.1.1 Répartition selon l'âge 116

III.1.2 Répartition selon le sexe 116

III.1.3 Facteurs de risques cardiovasculaires 116

III.1.4 Diagnostic selon l'électrocardiogramme 117

III.1.5 Interactions médicamenteuses 117

III.2 Réponse au clopidogrel 118

III.3 Distribution des caractéristiques clinico-pathologiques selon la réponse au clopidogrel 118

III.4 Distribution des SNP des gènes CYP450 et ABCB1 dans la population étudiée 120

III.5 Influence des variants des gènes CYP450 et ABCB1 sur la réponse au clopidogrel 121

III.6 Résultats de Validation de la technique GenoChip CYP+ 124

IV. Discussions 125

V. Conclusions 128

VI. Conclusions générales et perspectives 129

Références bibliographiques 131

Annexes 155

Liste des abréviations

- ABCB1 : ATP Binding Cassette Subfamily B Member 1
- ADN : Acide Désoxyribonucléique
- ADP : Adenosine Diphosphate
- AEC: Angioplastie avec Électrocardiographie
- AI: Angine Instable
- AP: Anti-Plaquettaires
- APOB : Apolipoprotein B
- ATCD : Antécédents
- AVC: Accident Vasculaire Cérébral
- bFGF : Basic Fibroblast Growth Factor
- BLAST: Basic Local Alignment Search Tool
- CABG : Coronary Artery Bypass Grafting
- CDKN2B-AS1 : CDKN2B Antisense RNA 1
- CI: Cardiopathie Ischémique
- CNNM2: Cyclin And CBS Domain Divalent Metal Cation Transport Mediator 2
- COL4A1 : Collagen Type IV Alpha 1 Chain
- COX-1: Cyclooxygenase-1
- CRP: C-Reactive Protein
- CYP : Cytochrome P450
- ddNTP : Dideoxynucleotide Triphosphate
- dNTP: Désoxyribonucléotide Triphosphate
- ECG : Electrocardiogram
- FGF: Facteur de Croissance des Fibroblastes
- FGF2 : Fibroblast Growth Factor 2
- GPIIb/IIIa: Glycoprotéine Activée IIb/IIIa
- GUCY1A1 : Guanylate Cyclase 1 Soluble Subunit Alpha 1
- GWAS: Étude d'Association Pangénomique
- HDL: High-Density Lipoprotein
- HF : Hypercholestérolémie Familiale
- HTA: Hypertension Artérielle
- HWE: Équilibre de Hardy-Weinberg
- IC: Intervention Coronarienne
- ICP: Intervention Coronarienne Percutanée
- IEC: Inhibiteur de l'Enzyme de Conversion
- IFN-γ: Interferon Gamma
- IGF1: Insulin-like Growth Factor 1
- IL-6: Interleukine-6
- IL6R : Interleukin-6 Receptor
- IM: Infarctus du Myocarde
- IM: métabolisateurs intermédiaires
- IMA: Infarctus Aigu du Myocarde
- IPP: Inhibiteur de la Pompe à Protons
- LDL: Low-Density Lipoprotein
- LDLR: Low-Density Lipoprotein Receptor

- LDLRAP1: Low-Density Lipoprotein Receptor Adaptor Protein 1
- LOF: Loss Of Function
- LPA: LipoProtein(a)
- LPL: LipoProtein Lipase
- MAAT: MacroArray Analysing Tools
- MNT: Maladies Non Transmissibles
- MRAS: Muscle RAS Oncogene Homolog
- NADPH: Nicotinamide Adenine Dinucleotide Phosphate Hydrogen
- NCBI: National Center for Biotechnology Information
- NGS: Séquençage de Nouvelle Génération
- NM: métabolisateurs normaux
- NSTEMI: Infarctus du Myocarde sans Élévation du Segment ST
- OMS: Organisation Mondiale de la Santé
- OR: Odds Ratio
- P2Y12: Récepteur ADP P2Y12
- PCR: Polymerase Chain Reaction
- PCSK9: Proprotein Convertase Subtilisin/Kexin Type 9
- PDGF: Platelet-Derived Growth Factor
- PGE1: Prostaglandine E1
- PHACTR1: Phosphatase and Actin Regulator 1
- PM: métabolisateurs pauvres
- PMC: Pontage Coronarien
- PNPLA5: Patatin Like Phospholipase Domain Containing 5
- PRU: P2Y12 Reaction Units
- RM: Métabolisateurs Rapides
- RNA: Acide Ribonucléique
- SCA: Syndrome Coronarien Aigu
- SNP: Polymorphisme Nucléotidique Simple
- SRG: Score de Risque Génétique
- STEMI: Infarctus du Myocarde avec Élévation du Segment ST
- STEMI: ST-Elevation Myocardial Infarction
- TCF2: Transcription Factor 2
- TEX41: Testis Expressed 41
- TGFB1: Transforming Growth Factor Beta 1
- THBS2: Thrombospondin 2
- TNF-α: Facteur de Nécrose Tumorale Alpha
- TSS: Torrent Suite™ Software
- TXA2: Thromboxane A2
- UGT2B7: UDP Glucuronosyltransferase Family 2 Member B7
- UM: Métabolisateurs Ultrarapides
- VAMP5 : Vesicle-Associated Membrane Protein 5
- VEGF: Vascular Endothelial Growth Factor
- VKORC1: Vitamine K Epoxide Reductase Complex Subunit 1
- WES: Whole Exome Sequencing
- WGS: Séquençage du Génome Entier

INTRODUCTION GENERALE

Les maladies non transmissibles (MNT) représentent la principale cause de décès, contribuant à 80% de l'ensemble des décès dans le monde, comme indiqué dans les profils nationaux des maladies non transmissibles publiés par l'Organisation mondiale de la santé en 2018 [1].

Au Maroc, les maladies cardiovasculaires (MCV) sont responsables de 38% des décès liés aux MNT [2]. Les MCV englobent un ensemble de troubles caractérisés par une physiopathologie commune liée à l'athérosclérose [3]. Parmi les MCV les plus fréquentes figure la cardiopathie ischémique ou maladie coronarienne, qui inclut le syndrome coronarien aigu (SCA) et l'angine de poitrine stable. La physiopathologie sous-jacente du SCA implique une diminution du flux sanguin vers une partie du muscle cardiaque, souvent causée par la rupture d'une plaque d'athérosclérose et la formation d'un thrombus [4]. L'objectif de la prise en charge de cette situation d'urgence est de rétablir le flux sanguin coronarien, soit par thrombolyse, soit par angioplastie primaire [5]. La physiopathologie des maladies cardiovasculaires est extrêmement complexe et comprend plusieurs facteurs de risque bien établis, tels que l'âge, le sexe, l'hypertension artérielle, l'hyperlipidémie, les antécédents familiaux et le diabète [6]. Ces éléments ne rendent compte que partiellement de l'incidence des MCV, d'autres facteurs impliquent des composantes génétiques très complexes, interagissant dans des relations gène-gène et gène-environnement [7].

Les MCV comportent une composante significative d'héritabilité, et il existe un consensus bien établi sur l'existence d'une prédisposition génétique à la maladie coronarienne. Il a été démontré à plusieurs reprises que les antécédents familiaux constituent un facteur de risque robuste et indépendant de la maladie coronarienne [8]. Cependant, malgré l'identification d'un grand nombre de gènes prédisposants, les progrès dans la compréhension des mécanismes par lesquels ces gènes contribuent aux maladies cardiovasculaires sont plus lents. Mais bien que les approches génomiques pour le dépistage de la maladie coronarienne ou la quantification du risque futur de syndrome coronarien aigu (SCA) ne soient pas encore prêtes pour une application clinique, il s'agit d'un domaine de recherche actif dont les premiers résultats sont prometteurs pour le développement de biomarqueurs afin d'évaluer l'état de la maladie et son risque, et d'améliorer la compréhension de ses fondements moléculaires [9].

Les données de génotypage peuvent être employés pour estimer le risque génomique du SCA en calculant un score de risque génétique (SRG) [9]. La conception d'un SRG pour évaluer le risque cardiovasculaire représente une tâche cruciale pour la cardiologie moderne,

étant donné que ce risque évalué peut être évité ou au moins partiellement réduit (traitement hypolipidémiant) [10] [11]. Un diagnostic précoce pourrait ainsi améliorer la qualité et la durée de vie des patients tout en contribuant à la réduction des coûts de prise en charge.

D'un autre côté, le traitement antiplaquettaire est un élément essentiel du traitement médical dans la phase aiguë des syndromes coronariens aigus, et le clopidogrel est l'antiagrégant plaquettaire le plus couramment prescrit à cet effet [12]. L'intérêt pour l'utilisation potentielle des tests génétiques ou de la fonction plaquettaire afin de guider le choix de l'inhibiteur P2Y12 a également été soulevé. Les variantes de perte de fonction dans le système hépatique du cytochrome P450 sont des médiateurs génétiques prédominants de la réponse antiplaquettaire au clopidogrel, les porteurs de ces variantes présentant un risque de thrombose sous traitement [13] [14].

Les patients présentant des polymorphismes du membre 1 de la sous-famille B de la cassette de liaison à l'ATP (ABCB1) peuvent également présenter une mauvaise absorption du clopidogrel. Une réponse rapide et significative au clopidogrel dans les premières heures de son administration est un élément important dans la phase aigu du SCA et chez les patients qui bénéficient d'une intervention coronarienne percutanée (ICP) d'urgence [15].

Donc à mesure que les connaissances évoluent pour employer des outils explorant la génomique, la protéomique et la métabolomique des maladies cardiovasculaires, nous entrevoyons un avenir où une thérapie plus précise, adaptée aux besoins, aux exigences et aux limites de chaque patient, ne serait plus un rêve mais une responsabilité. L'avenir de la cardiologie est là ; nous devons l'assimiler, l'adapter et le rendre plus accessible en éduquant les professionnels sur ce domaine en évolution et en rendant les infrastructures plus équitables pour le réaliser. Actuellement, la majorité des données publiées sur ces sujets proviennent des pays d'Amérique et d'Europe, soulignant ainsi l'importance de s'engager dans des études qui prennent en considération notre ethnicité marocaine.

Au début de notre étude, nous avons exploré la littérature portant sur la génétique et la médecine de précision en cardiologie, cherchant à exposer et résumer les sections les plus pertinentes cliniquement de ce domaine en constante évolution.

En effet, l'objectif principal de notre thèse était, dans un premier temps, d'analyser les biomarqueurs du risque génétique du syndrome coronarien aigu (SCA) au sein de la population du Nord-Est du Maroc. Dans un second temps, nous nous sommes intéressés à l'évaluation de l'impact des polymorphismes dans les gènes du cytochrome P450 et ABCB1 sur la réponse antiplaquettaire au clopidogrel.

Objectifs Principaux de la Thèse :

- Étudier les biomarqueurs génétiques et leur impact sur la réponse thérapeutique dans le syndrome coronarien aigu (SCA) au sein de la population du Nord-Est du Maroc afin de contribuer au développement de la médecine de précision en cardiologie.

Objectifs Secondaires :

- Analyser les Biomarqueurs du Risque Génétique du Syndrome Coronarien Aigu (SCA) dans la Population du Nord-Est du Maroc :
  - Déterminer la prévalence des biomarqueurs génétiques associés au SCA.
  - Étudier les variations génétiques spécifiques à la population du Nord-Est du Maroc.
  - Explorer les liens entre ces biomarqueurs et les facteurs de risque traditionnels des MCV.
- Évaluer l'Impact des Polymorphismes Génétiques sur la Réponse Antiplaquettaire au Clopidogrel :
  - Identifier et caractériser les polymorphismes dans les gènes du cytochrome P450 et ABCB1 chez les patients traités avec clopidogrel.
  - Examiner l'influence de ces polymorphismes sur l'efficacité du clopidogrel et sur les risques de thrombose sous traitement.
  - Évaluer l'association entre ces polymorphismes et l'absorption ou le métabolisme du clopidogrel.
- Contribuer à la Médecine de Précision en Cardiologie pour la Population Marocaine :
  - Fournir des données spécifiques à la population marocaine pour une meilleure personnalisation des traitements en cardiologie.
  - Élaborer des recommandations pour l'utilisation des tests génétiques et plaquettaires dans le traitement des syndromes coronariens aigus.
  - Étendre la compréhension de la complexité génétique des MCV, en particulier dans le contexte ethnique spécifique du Maroc.
  - Développer une base de connaissances qui pourrait être utilisée pour des études futures sur les particularités génétiques des populations nord-africaines.
  - Sensibiliser les professionnels de santé à l'importance de la génomique et de la médecine personnalisée en cardiologie.

CHAPITRE I : REVUE BIBLIOGRAPHIQUE

Chapitre I : Étude bibliographique

I. Introduction

Les maladies non transmissibles (MNT), communément appelées maladies chroniques, constituent selon l'organisation mondiale de la santé (OMS) l'un des défis majeurs du 21ème siècle. Les MNT ne sont pas liées à des agents infectieux, ils peuvent être le résultat de la combinaison des facteurs génétiques, physiologiques, environnementaux et comportementaux et sont marquées par une lente progression et une longue durée. Selon l'OMS, les maladies non transmissibles sont à l'origine de 41 millions de décès chaque année, soit 74% de l'ensemble des décès dans le monde. Le fardeau des MNT augmente rapidement affectant de manière disproportionnée les pays à revenu faible ou intermédiaire, où 77% des décès dus aux maladies chroniques dans le monde (41 millions) surviennent (Global Burden of Disease Study 2019). Au Maroc, d'après les données de l'investigation réalisée par l'OMS, les maladies non transmissibles seraient responsables de plus de 80% de tous les cas de décès (Figure 1) [16].

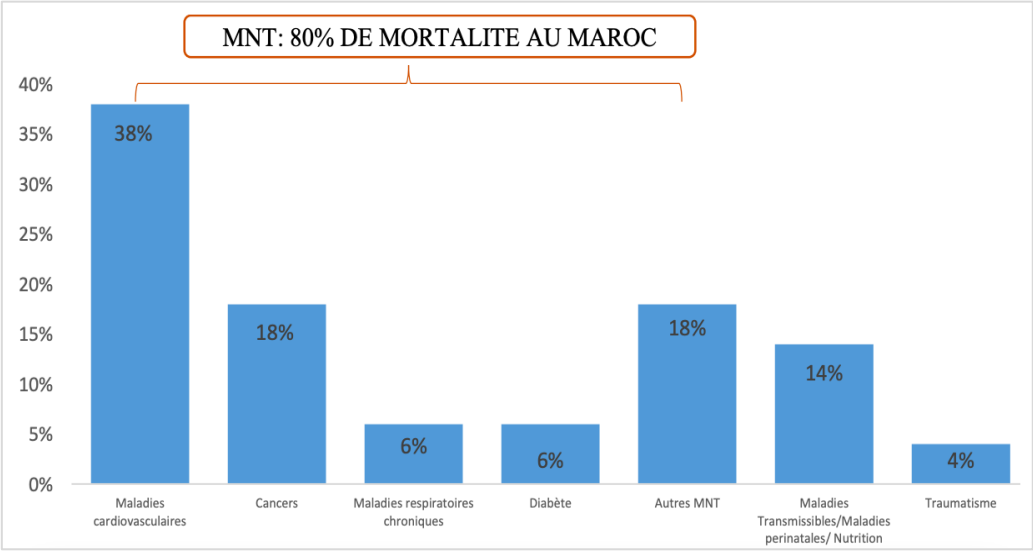


Figure 1: Causes de mortalité au Maroc (OMS : Non Communicable Diseases, Country Profil 2018)

Quatre facteurs de risque (Tabagisme, consommation d'alcool, mauvais régime alimentaire et activité physique)ont été associés à quatre types de MNT (maladies cardiovasculaires, cancers, maladies respiratoires chroniques et diabète) [17]. Les maladies cardiovasculaires sont à l'origine de la plupart des décès dus aux MNT, soit 17,9 millions de personnes par an, suivies des cancers (9,3 millions), des maladies respiratoires chroniques

(4,1 millions) et du diabète (2,0 millions, y compris les décès dus à une maladie rénale causée par le diabète) (GBD 2019).

Les personnes de tous les groupes d'âge, régions et pays sont touchées par les MNT. Ces affections sont souvent associées à des personnes plus âgées, mais les données indiquent que 17 millions de décès par MNT surviennent avant l'âge de 70 ans. En termes de décès attribuables, le principal facteur de risque métabolique à l'échelle mondiale est l'hypertension artérielle (à laquelle 19 % des décès mondiaux sont attribués), suivie de l'hyperglycémie, du surpoids et de l'obésité.

II. Maladies cardiovasculaires

II.1 Définition des maladies cardiovasculaires

Le système cardiovasculaire est constitué du cœur et de ses vaisseaux sanguins. Un large éventail de problèmes peut survenir dans le système cardiovasculaire, dont quelques-uns comprennent l'endocardite, les maladies cardiaques rhumatismales, et les anomalies du système de conduction. La maladie cardiovasculaire, aussi appelée maladie cardiaque, désigne les quatre entités suivantes : la maladie coronarienne, aussi appelée coronaropathie, maladie vasculaire cérébrale, artériopathie périphérique et athérosclérose aortique. La maladie coronarienne résulte d'une diminution de la perfusion myocardique qui provoque une angine de poitrine due à une ischémie et peut entraîner un infarctus du myocarde, et/ou une insuffisance cardiaque. Elle représente un tiers à la moitié de tous les cas de maladies cardiovasculaires. La maladie vasculaire cérébrale est l'entité associée aux accidents vasculaires cérébraux, également appelés accidents vasculaires cérébrales, et les attaques ischémiques transitoires. La maladie artérielle périphérique est une maladie artérielle qui touche principalement les membres et qui peut entraîner la claudication. L'athérosclérose aortique est l'entité associée aux anévrismes thoraciques et abdominaux [18].

II.2 Facteurs de risques classiques des maladies cardiovasculaires

L'OMS définit le facteur de risque comme une caractéristique, une condition ou un comportement qui augmente la probabilité de contracter une maladie ou une blessure. Il existe de nombreux facteurs de risque associés aux maladies cardiovasculaires (MCV). Les facteurs de risques modifiables sont les risques qui peuvent être modifiés pour réduire la prévalence des MCV, tandis que les risques non modifiables sont les facteurs qui ne peuvent pas être modifiés. L'association de plusieurs facteurs de risque augmente les chances de développer des MCV [1].

II.2.1 Facteurs de risques modifiables

Les facteurs de risque modifiables sont responsables d'environ 80 % des MCV et des Accidents Vasculaire Cérébral (AVC) (Maladies cardiovasculaires, 2009). Ces facteurs comprennent le tabagisme, la sédentarité l'alcool, le poids, l'hypertension, le diabète et une mauvaise alimentation.

II.2.1.1 Tabagisme

Le tabagisme est reconnu depuis plus de 40 ans comme étant associé un risque accru de MCV [19]. Le risque cardiovasculaire imposé par le tabagisme et le tabac est amplifié par la coexistence de plusieurs autres facteurs de risque (HTA, cholestérol élevé) [20]. L'utilisation du tabac contribue aussi à l'athérosclérose, à la thrombose, à l'instabilité des plaques artérielles et aux arythmies cardiaques [19]. Le tabagisme est également associé à une augmentation des niveaux de marqueurs inflammatoires. Il a été démontré que les marqueurs inflammatoires, comme la protéine C-réactive, sont à la fois pronostiques et prédictifs d'événements cardiovasculaires futurs dans plusieurs populations [21]. De plus, le tabagisme augmente le risque de diverses pathologies liées à l'athérosclérose, telles que les maladies coronariennes (MC), l'accident vasculaire cérébral et l'artériopathie des membres inférieurs (AMI).

II.2.1.2 Activité physique

L'activité physique signifie une protection contre de nombreux facteurs de risque. De plus, l'activité physique est essentielle à l'équilibre énergétique et au contrôle du poids (OMS 2010). Morris et al., ont constaté que les hommes fonctionnaires de poste qui marchaient ou circulaient pendant la livraison du courrier présentaient des taux de maladie cardiaque plus faibles que ceux qui avaient un emploi sédentaire [22]. La sédentarité constitue un facteur prédominant dans les pays industrialisés [23]. L'activité physique régulière possède un effet protecteur sur le risque cardiovasculaire par la décélération de la progression de l'athérosclérose, l'amélioration du dysfonctionnement endothélial, la diminution de l'inflammation systémique et le contrôle des principales facteurs de risque des MCV comme l'hypertention, le diabète et l'obésité [24]. Une vaste analyse des données portant sur 57 000 personnes âgées de 25 à 64 ans de 22 pays africains, y compris le Maroc, a été effectuée entre 2003 et 2009 et a indiqué que les populations africaines ne sont pas plus actives que les populations asiatiques, européennes et nord-américaines [25]. Une enquête menée en 2008 auprès de 2 613 sujets au Maroc a révélé que la prévalence de la faible activité physique était de 16,5 % (24 % de femmes Vs 9 % d'hommes) [26]. Les résultats de l'étude STEPS (2017) ont indiqué que le pourcentage de la population qui ne répondait pas aux recommandations de

l'OMS pour l'activité physique (150 minutes d'activité physique modérée par semaine) était de 21,1 % [27]. L'inactivité physique a augmenté avec l'âge, passant de 31,5 % (60-69 ans) à 49,3 % (70 ans), et était plus élevée chez les résidents urbains que ruraux ; seulement 14,2 % des résidents ruraux ne répondaient pas aux exigences de l'OMS (toutes formes d'activité physique). La majeure partie de l'activité physique totale était liée aux emplois quotidiens, et 84,7 % de la population générale n'était pas physiquement active pendant son temps libre [26].

II.2.1.3 Nutrition et consommation d'alcool

Une alimentation déséquilibrée contient trop de gras, de sucre, de glucides, de viandes riches en gras, peu de fruits et légumes et de grains entiers, sans vitamines et minéraux adéquats. La nutrition peut contribuer considérablement au développement des MCV en agissant sur le diabète, l'hypertension, la dyslipidémie et leurs conséquences. Selon l'OMS, la région de l'est de la méditerranée (REM) adopte l'un des régimes les plus sains au monde, avec un faible taux de consommation d'alcool (0,1 % pour les sujets de 15 ans) et une consommation moyenne de fruits de 130 g/jour et de légumes de 200 g/jour, bien que la consommation de sodium soit élevée (3,95 g/jour). Une étude marocaine portant sur 2114 sujets a montré que seulement 29,9 % d'entre eux adhéraient partiellement à ce régime ; il s'agissait surtout de personnes célibataires ou divorcées, de résidents ruraux (RO : 1,46, IC à 95 % : 1,02-2,08) [28]. Les changements nutritionnels au Maroc sont également documentés par l'augmentation de l'apport calorique quotidien par habitant, de 2.410 kcal en 1968/70 à 3.031 kcal en 1997/98 [29]. L'analyse nationale STEPS de 2017 a montré que la viande rouge et blanche était consommée 4,2 jours/semaine, les œufs 2,8 jours/semaine, le poisson 1,6 jours/semaine et les produits laitiers 4 jours/semaine en moyenne [27]. La prévalence du fast-food était de 7,1 %, consommé plus fréquemment par les hommes que par les femmes (8 % c. 6,1 %) et par les résidents urbains que ruraux (8,8 % c. 3,9 %). De manière surprenante, les résidents urbains ont déclaré qu'ils consommaient plus de légumes et des fruits que les résidents ruraux. L'analyse de la concentration urinaire de sel (24 heures) a révélé que les participants ont consommé 10,6 g/jour (hommes 11,9 g/jour contre femmes 9,3 g/jour) en moyenne [27]. Selon l'OMS, la consommation nocive d'alcool est définie par 6,2 litres d'alcool pur par année, ce qui équivaut à 13,5 grammes d'alcool pur par jour pour les personnes de 15 ans. Le Maroc possède un faible taux (officiel) de consommation d'alcool et de dépendance en raison des considérations religieuses. Parmi la population générale, 93 % ont déclaré n'avoir jamais consommé d'alcool au cours de leur vie. Ce facteur est plus répandu chez les hommes que chez les femmes, 99,6 % des femmes ayant déclaré n'avoir

jamais goûté à de l'alcool auparavant, et chez les citadins comparativement aux résidents en milieu rural (2,2 % c. 0,8 %). Enfin, la dépendance à l'alcool était plus fréquente en milieu rural qu'en milieu urbain (24,3 % c. 13,3 %) [16].

II.2.1.4 Obésité

L'obésité constitue un prédicteur à long terme important de l'incidence des maladies cardiovasculaires. Selon l'OMS (2016), la prévalence mondiale du surpoids et de l'obésité était de 39% et 13%, respectivement [30]. La REM se classe au troisième rang mondial en termes de prévalence de l'obésité (23,6 % de femmes contre 14,6 % d'hommes). En Afrique, l'obésité était plus fréquente chez les femmes que chez les hommes (10 à 15 % de femmes contre 4 à 5 % d'hommes). Au Maroc, l'obésité et le surpoids sont estimés à 21,7 % (15,6 % d'hommes contre 27,6 % de femmes) et 55,1 % (50,5 % d'hommes contre 59,6 % de femmes), respectivement [31]. Les sujet dont la répartition des graisses est de type Android, où le poids est centré autour de l'abdomen, ont plus de chance de développer les MCV que ceux qui ont du poids autour des hanches [19]. L'excès du tissu adipeux a été associé à l'hypertension, à la dyslipidémie, à l'intolérance au glucose et au dysfonctionnement endothélial, qui ont tous des effets sur la fonction cardiaque [32]. Il a été démontré que l'obésité n'augmente pas le risque de maladies cardiovasculaires à moins qu'elle ne s'accompagne d'une élévation de caractéristiques comme la tension artérielle ou les lipides sanguins [33]. Cependant, la perte de poids peut affecter les MCV. Dans une étude menée par Pascual et. al., les participants avec un syndrome métabolique qui ont perdu du poids pendant l'essai ont montré une diminution de leur tension artérielle systolique et diastolique ainsi que leur cholestérol LDL. D'autres observations ont conclu que l'impact de la perte de poids modifie le taux des facteurs de risque cardiovasculaires [34].

II.2.1.5 Hypertension artérielle

L'hypertension artérielle est définie comme une pression artérielle systolique (PAS) 140 mmHg et/ou une pression artérielle diastolique 90 mmHg (OMS hypertension 2013). L'HTA prédispose à toutes les maladies cardiovasculaires, y compris l'insuffisance cardiaque, la maladie coronarienne et la maladie artérielle périphérique, en raison d'un stress accru sur le cœur et les artères [35]. Le stress sur les artères provoque des déchirures microscopiques qui, une fois guéri, créent un tissu cicatriciel qui attire la plaque. La formation de plaque dans les artères conduit ensuite à l'athérosclérose. En réponse à l'hypertension artérielle et à l'augmentation de la charge de travail secondaire à l'obésité, le ventricule gauche du cœur grossit [19]. La croissance ventriculaire gauche est considérée comme une hypertrophie

ventriculaire gauche et constitue un important facteur de risque de MCV, d'insuffisance cardiaque et de mort subite [19].

II.2.1.6 Diabète

Les données indiquent que les maladies cardiovasculaires sont la principale cause de morbidité et de mortalité chez les personnes atteintes de diabète. L'étude de Framingham a démontré que le diabète sucré est associé à une augmentation de deux à cinq fois de risque des maladies cardiovasculaires [36]. Les personnes atteintes de diabète n'ont pas la capacité de produire de l'insuline ou ne peuvent pas faciliter leur propre production d'insuline, et le glucose devient abondant dans le sang. Avec l'accumulation de glucose, les artères deviennent endommagées favorisant la survenue de MCV. Une partie du risque accru de MCV observé chez les diabétiques est attribuable à la présence concomitante d'autres facteurs de risque comme la dyslipidémie et l'obésité. Il a été démontré que la gestion de ces facteurs de risque réduit efficacement l'incidence des événements coronariens majeurs chez les personnes atteintes de diabète [37].

II.2.1.7 Dyslipidémie

La dyslipidémie est définie par l'élévation ou la diminution des lipides sériques. Le cholestérol et les triglycérides sont les principales lipoprotéines. Selon l'OMS, la prévalence mondiale de l'hypercholestérolémie, définie comme la présence de plus de 190 mg/dl de cholestérol chez les sujets de 25 ans, était de 38,9 %. La prévalence dans la région euro-méditerranéenne était estimée à 38,9 %, et plus de femmes que d'hommes étaient concernés (40,4 % contre 36,2 %). Chaque année, le cholestérol élevé est responsable de 2,5 millions de décès et 29,7 millions d'invalidités et contribue au tiers de la mortalité par cardiopathie ischémique. Une réduction de 10 % du cholestérol sanguin est considérée comme étant corrélée à une réduction de 50 % des maladies cardiaques d'ici 5 ans (OMS, Raised Cholesterol 2015) [38].

Au Maroc, les résultats de l'analyse STEPS ont révélé que la prévalence nationale de l'hypercholestérolémie (190 mg/dl) était de 10,5 %, mais seulement 2 % des sujets étaient sous traitement pharmacologique. Des fréquences élevées ont été enregistrées chez les femmes et dans les zones urbaines. La même étude a indiqué que 7,1 % des patients avaient changé leur traitement de médicaments pharmacologiques prescrits à des traitements à base de plantes ou traditionnels. La prévalence du cholestérol à lipoprotéine de faible densité (HDL), définie comme <40 mg/dl chez les hommes et <50 mg/dl chez les femmes, était de 59,3 % chez les femmes et de 54,3 % chez les hommes. La prévalence des triglycérides élevés dans le sang, soit 150 mg/dl chez les femmes et 180 mg/dl chez les hommes, était de 15,4 % chez les

hommes et de 9,3 % chez les femmes, et elle était plus répandue dans les régions urbaines que rurales (16,8 % contre 12,9 %) [39].

II.2.1.8 Stress

Chacun ressent le stress de différentes façons et y réagit de différentes manières. Le stress que vous vivez et la façon dont vous y réagissez peuvent entraîner une grande variété de problèmes de santé (“Stress and Heart Health”). Le concept de stress psychologique produit un changement physiologique par l’activation du système nerveux hypothalamo-pituitaire-adrénocortical et sympathique, qui déclenche des mécanismes physiopathologiques qui comprennent l’inflammation, et le dysfonctionnement du contrôle métabolique et cardiaque autonome [41] [42]. Dans la population générale, le risque d’accident vasculaire cérébral est de 1,1 à 1,6 fois plus élevé chez les adultes qui ont un stress lié au travail ou à la vie privée [43] [44]. Le stress chronique joue un rôle comme déclencheur de la maladie athérosclérotique en entraînant des événements cardiovasculaires comme l’hypertension, la résistance à l’insuline, l’arythmie, l’ischémie myocardique, l’insuffisance cardiaque et l’accident vasculaire cérébral (Figure 2). Le stress émotionnel est impliqué dans 3,9 % des événements cardiaques aigus [45]. L’association avec l’AVC était incertaine [46]. L’influence dure longtemps chez 20 à 25 % des patients après le premier événement [47].

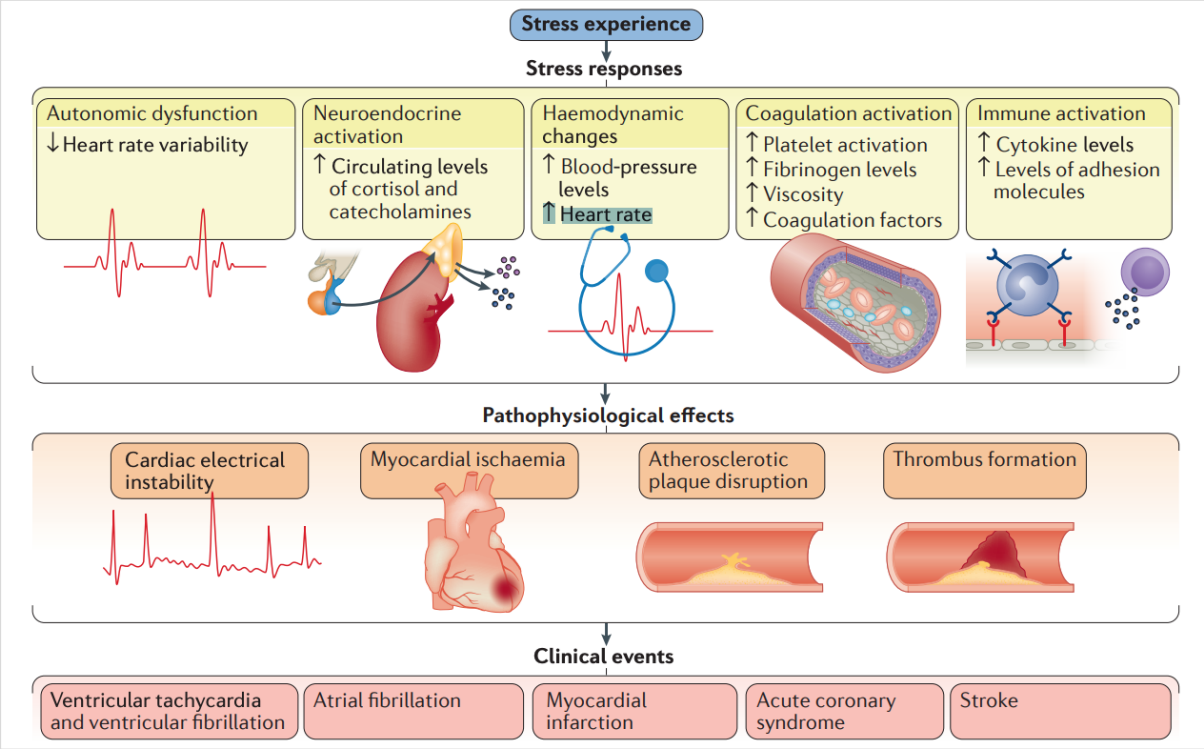


Figure 2: Effets du stress sur le développement des MCV [44].

II.2.2 Facteurs de risque non modifiables

II.2.2.1 Âge et sexe

D'ici 2030, 20 % de la population sera âgée de plus de 65 ans. Dans ce groupe d'âge, les maladies cardiovasculaires entraîneront 40 % de tous les décès et seront la principale cause [48]. Le système cardiovasculaire est fortement affecté par le processus de vieillissement conduisant à une détérioration progressive de la structure et de la fonction du cœur et du système vasculaire qui contribuent au développement des MCV [49]. Des études épidémiologiques ont révélé qu'à tout âge, le risque d'événements cardiovasculaires varie considérablement (4 à 5 fois) selon les facteurs de risque associés. Les études indiquent que les chances de survie jusqu'à l'âge de 85 ans ont diminué considérablement avec les facteurs de risque cumulatifs, passant de 37 % pour les hommes sans facteurs de risque à 2 % avec cinq facteurs de risque et de 65 % pour les femmes sans facteurs de risque à 14 % avec cinq facteurs de risque [50].

Durant de nombreuses années, les maladies cardiovasculaires ont été considérées comme une maladie masculine. La différence entre les hommes et les femmes a déjà été décrite dans l'épidémiologie, la physiopathologie, la manifestation clinique et la prise en charge des MCV. Les hormones sexuelles entraînent des différences dans l'expression des gènes et la fonction du système cardiovasculaire [51]. Dans le sexe masculin, le risque cardiovasculaire augmente avec le temps, ainsi que le processus d'athérosclérose continue. En revanche, les femmes sont protégées contre l'athérosclérose pendant l'âge fertile par les œstrogènes qui exercent un effet favorable sur le système cardiovasculaire. L'effet disparaît après la ménopause. Les femmes et les hommes présentent un profil cardiovasculaire similaire avec une différence de 10 ans [52]. En 2004, l'OMS a signalé une mortalité cardiovasculaire totale de 55 % chez les femmes et de 43 % chez les hommes. L'AVC et les autres MCV représentent respectivement 23 %, 18 % et 15 % chez les femmes et 21 %, 11 % et 11 % chez les hommes [53].

II.2.2.2 Histoire familiale et ethnicité

Les antécédents familiaux de MCV constituent un facteur de risque non modifiable. Les antécédents familiaux sont considérés comme positifs lorsqu'un infarctus du myocarde ou une mort subite survient avant l'âge de 55 ans chez un parent de sexe masculin au premier degré ou avant l'âge de 65 ans chez un parent de sexe féminin au premier degré [19]. Le risque de maladies cardiovasculaires peut augmenter considérablement lorsque l'hérédité est associée à des choix de vie malsains comme le tabagisme, l'inactivité physique et la mauvaise alimentation.

L’ethnicité peut jouer un rôle comme facteur de risque non modifiable. Dans une étude menée par Thomas et al., en mettant l’accent sur l’ethnicité, le revenu et les maladies cardiovasculaires, les hommes noirs avaient une hypertension artérielle et des niveaux de cholestérol plus bas que les hommes blancs. Moins d’hommes noirs ont également été classés comme étant à risque faible ou intermédiaire de MCV comparativement aux hommes blancs, mais plus d’hommes noirs ont été classés comme à risque élevé ou très élevé de MCV. En résumé, l’étude a déterminé que les hommes noirs ont une plus grande tendance à développer des facteurs de risque de maladies cardiovasculaires que les hommes blancs au fil du temps [54].

II.3 Facteurs de risque émergents des maladies cardiovasculaires

II.3.1 Hyperhomocystéinémie

L’homocystéine (HCy) est un métabolite d’acide aminé contenant du thiol qui est produit dans toutes les cellules par le cycle de méthionine. La synthèse du HCy se fait par transméthylation de la méthionine par S-adenosylmethionine synthetase (SAMS) pour former un SAM à partir de la méthionine et de l’ATP. La méthyltransférase (MT) convertit le SAM en S-adénosylhomocystéine (SAH), et l’hydrolase du SAH métabolise le SAH en adénosine et en HCy [55] [56] [57] (figure 3). Le HCy est remis en méthionine et transsulfuré en cystéine. La remethylation du HCy implique des mécanismes dépendants du folate/vitamine B12 et de la vitamine B12. La première étape est catalysée par l’enzyme B12-dépendante de la méthionine synthase (MS) et utilise le N-5-méthyltétrahydrofolate (THF) comme donneur du groupe méthyle, et la dernière étape est catalysée par la bêtaïne-homocystéine S-méthyl transférase (BHMT) et utilise le groupe méthyle de la bétaïne [58].

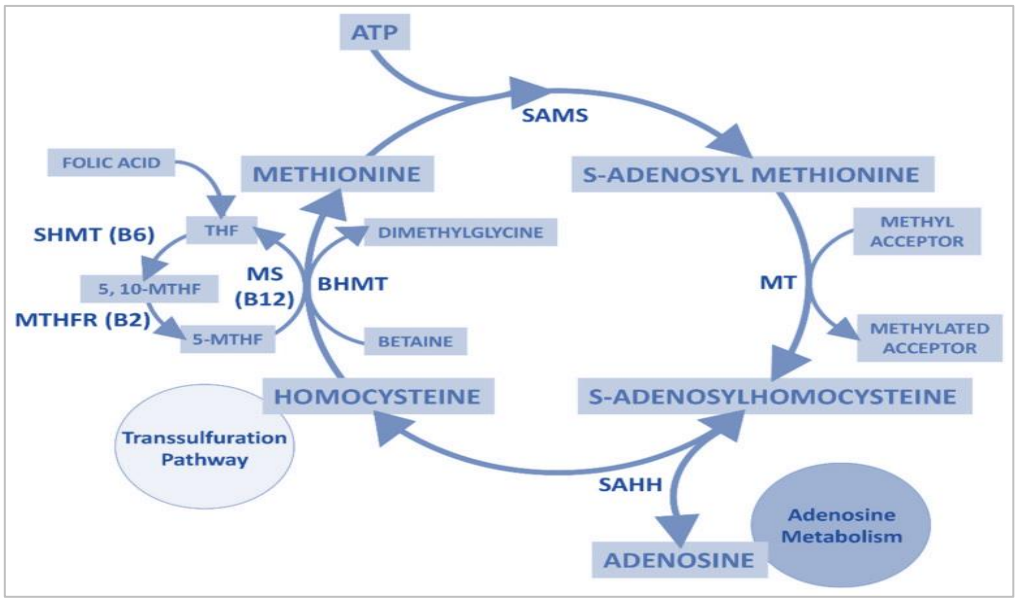


Figure 3: Cycle de la méthionine [59].

L'hyperhomocystéinémie (HHCy) est une condition dans laquelle la concentration plasmatique de HCy est élevée, qui se produit à la suite d'un déséquilibre entre sa biosynthèse et le catabolisme [60]. La définition de HHCy est controversée, mais elle est généralement définie comme une concentration plasmatique de HCy de 10 μmol/L [61]. Cependant, une légère augmentation (de 10 à 15 μmol/L) du taux de HCy plasmatique est associée à la morbi-mortalité [62], et un seuil plus élevé (15 μmol/L) a également été considéré pour désigner la HHCy [63]. En conclusion, le HHCy est classé en trois catégories : le HHCy léger, modéré et le HHCy sévère, les concentrations plasmatiques variant de 15 à 30 μmol/L, 31 à 100 μmol/L et > 100 μmol/L, respectivement [64].

La HCy contribue au développement des MCV au moyen de plusieurs mécanismes, comme ses effets néfastes sur l'endothélium vasculaire et les cellules musculaires lisses, qui entraînent des altérations de la structure et de la fonction artérielle. Par conséquent, le HHCy est un facteur de risque indépendant d'athérosclérose menant aux MCV [65], [66]. Plusieurs études ont montré une corrélation claire entre les taux plasmatiques de HCy et la gravité de l'athérosclérose et appuient une association entre des taux élevés de HCy et une mortalité cardiovasculaire accrue [67], [68]. La HHCy est associée à l'étiologie de l'infarctus du myocarde et de l'AVC, mais les mécanismes de promotion de la HCy ne sont pas clairs [69], [70]. Le HCy peut favoriser les MCV par des mécanismes impliquant la prolifération des cellules musculaires vasculaires, une diminution du HDL circulant, une conversion en HCy-thiolactone et l'induction d'une réponse auto-immune et d'une thrombogenèse [71], [72], [73], [74].

II.3.2 Facteurs thrombopéniques

II.3.2.1 Fibrinogène

Le fibrinogène, facteur de coagulation I, est une glycoprotéine de 340 kDa qui joue un rôle important dans de nombreux processus physiologiques et biochimiques. La concentration plasmatique de fibrinogène dépend en grande partie des facteurs régulant sa synthèse et sa prédisposition génétique [75], [76]. Le fibrinogène est exprimé principalement dans les hépatocytes et est régulé transcriptionnellement et post-transcriptionnellement. La biosynthèse du fibrinogène dans le foie est principalement constitutive. La synthèse fibrinogène est régulée par les protéines de phase aigu, principalement par l'IL-6 (dérivé par les monocytes, les macrophages et les cellules endothéliales vasculaires), qui induit sa synthèse dans le foie, tandis que l'IL-1β et le facteur de nécrose tumorale alpha (TNF-α) suppriment sa synthèse [75], [77]. Ainsi, le fibrinogène est une protéine de phase aigu parce que sa biosynthèse est augmentée pendant l'inflammation (dans la phase aiguë de

l'inflammation, les concentrations plasmatiques de fibrinogène peuvent dépasser 7 g/L). La production de fibrinogène est également augmentée par les glucocorticostéroïdes (GC) (Figure 4) [75].

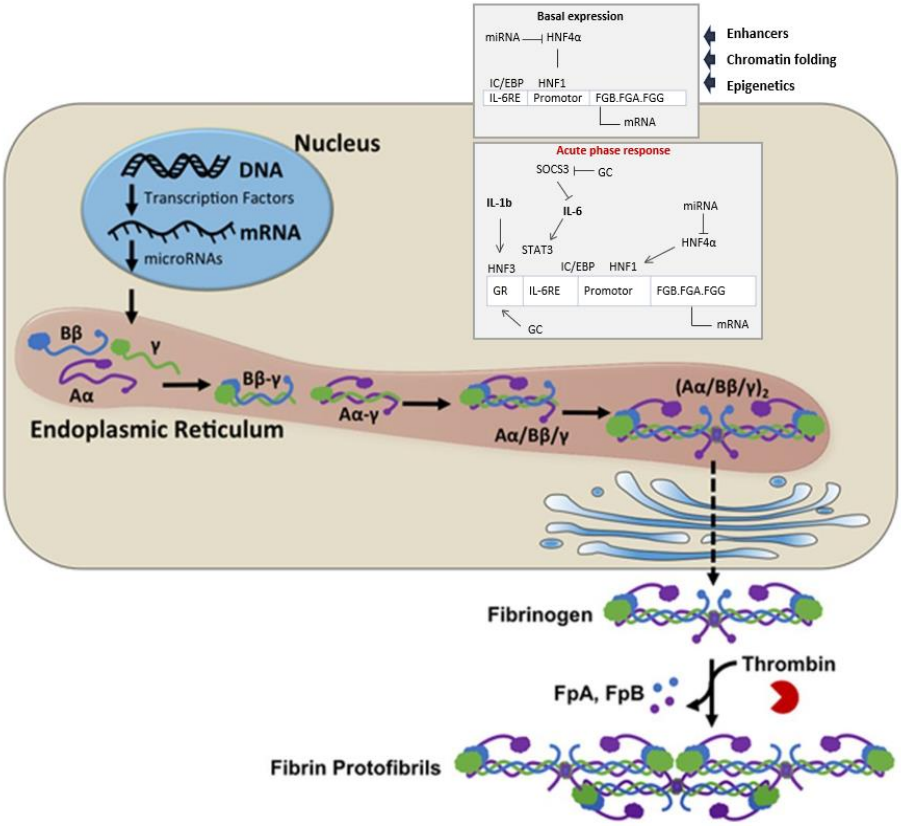


Figure 4: Biosynthèse fibrinogène dans les hépatocytes [78] [79].

La fonction physiologique de base du fibrinogène est la participation à l'étape finale du processus de coagulation et la transformation en une protéine fibrillaire — la fibrine, qui forme un caillot sanguin (figure 5) [76]. De plus, le fibrinogène est impliqué dans la physiologie de la matrice (par interaction avec le plasminogène, le FXIII, la vitronéctine et la fibronectine), la régulation du processus inflammatoire, l'infection, la cicatrisation, l'interaction intercellulaire, la migration cellulaire, la croissance tumorale, l'angiogenèse et la métastase [76]. L'augmentation de la concentration plasmatique de fibrinogène active directement de nombreux mécanismes qui, par conséquent, peuvent intensifier la progression de l'athérosclérose [80].

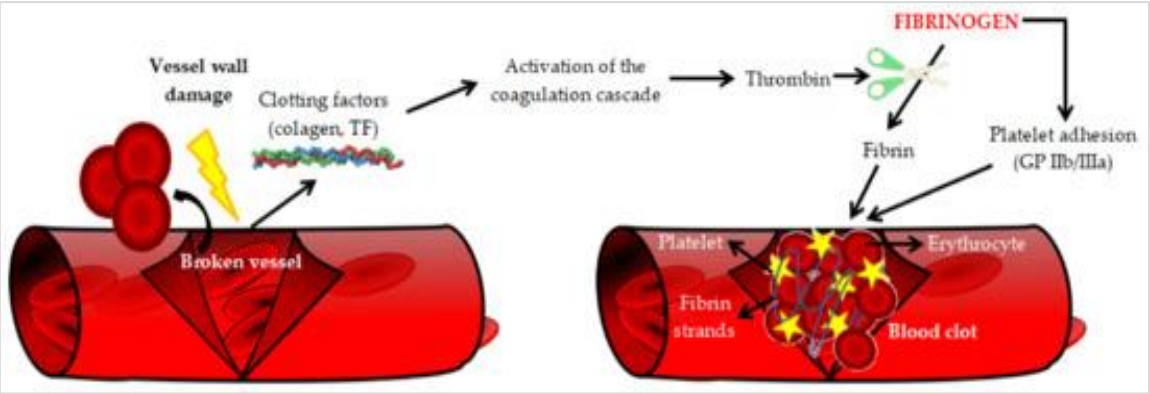


Figure 5: Rôle du fibrinogène dans la coagulation sanguine [78].

Les résultats de nombreuses études épidémiologiques indiquent que l'augmentation des concentrations plasmatiques de fibrinogène constitue un facteur de risque des Maladies cardiovasculaires athérosclérotiques. L'étude Prospective Cardiovascular Munster (PROCAM) a révélé que les sujets ayant à la fois un taux élevé de LDL-C et de fibrinogène avaient une augmentation de 6,1 fois des maladies coronariennes artérielles par rapport à ceux ayant des taux inférieurs ou normaux [81] [82]. Les études de Göteborg et de Framingham ont indiqué que les concentrations plasmatiques de fibrinogène représentent un facteur de risque indépendant de l'IM et de l'AVC et un facteur de risque élevé de mort subite cardiaque chez les patients atteints de MCA [82]. On a également observé une hyperactivité plaquettaire due à une concentration élevée de fibrinogène chez les patients diabétiques [83].

II.3.2.2 Facteur VII

Le facteur de coagulation sanguine VII est un facteur dépendant de la vitamine K synthétisé dans le foie. Étant donné que le facteur VII est un élément clé dans l'initiation de la coagulation (Figure 6), une augmentation de ses concentrations plasmatiques ou de son activité peut être un déterminant décisif dans l'induction de l'hypercoagulation. Cette dernière a été démontrée par l'apparition de concentrations anormales de marqueurs pour l'activation de la coagulation en présence de niveaux accrus du facteur VII [84]. L'étude Northwick Park Heart a montré qu'il existe une corrélation positive entre l'augmentation de l'activité du facteur VII et la mortalité cardiovasculaire [67][68]. Une relation similaire mais plus faible entre l'activité accrue du facteur VII et la mortalité cardiovasculaire a également été démontrée dans l'étude PROCAM [81]. Les concentrations plasmatiques du facteur VII sont étroitement liées à plusieurs facteurs environnementaux. Plusieurs études transversales ont démontré une corrélation positive entre l'activité du facteur VII et les taux sériques de cholestérol total ou de triglycérides [86], [87], [88]. Ces associations dépendent fortement de

l'apport alimentaire en matières grasses [89]. Il a été suggéré que les lipoprotéines riches en phospholipides chargés négativement activent le facteur XII et que ce dernier agit comme un catalyseur pour activer le facteur VII. Ainsi, les facteurs nutritionnels, traditionnellement impliqués dans le développement de l'athérome, pourraient également contribuer à la thrombose par l'activation de la coagulation. Les niveaux de facteur VII peuvent être facilement modulés par une alimentation faible en gras ou par une intervention pharmacologique, avec l'administration de faibles doses d'anticoagulants oraux (avec un rapport normalisé index de 1,5).

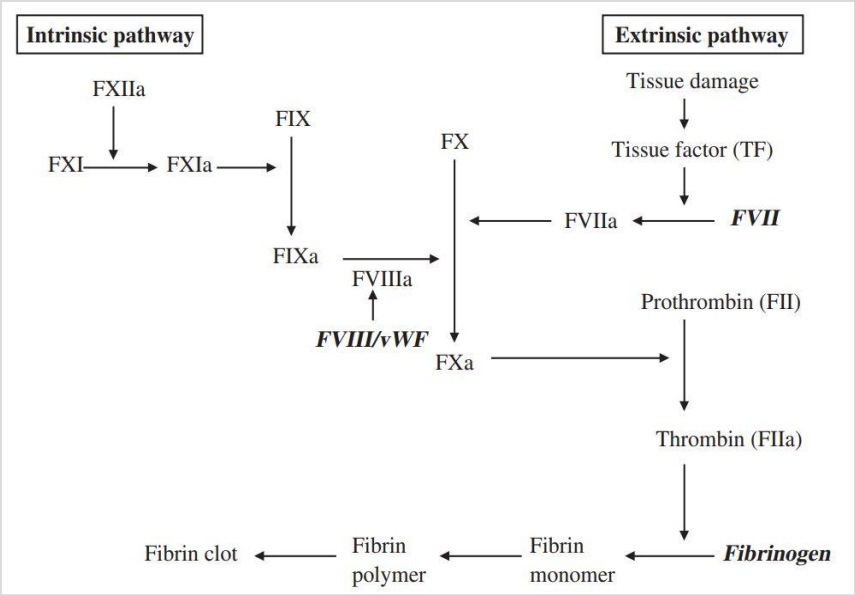


Figure 6: Système de coagulation simplifié [90].

Une forte association entre la présence d'un allèle polymorphe (substitution d'une arginine par une glutamine), situé dans l'exon 8 du gène du facteur VII, et l'activité coagulante de cette protéine a été démontrée [91]. Les sujets qui ont l'allèle glutaminique ont, en moyenne, 20 % de taux de facteur VII inférieurs à ceux qui n'ont que l'allèle arginine. De plus, aucune corrélation significative n'est observée entre les niveaux de facteur VII et de triglycérides chez ces sujets. Bien que cela démontre les liens intéressants qui peuvent exister entre le génotype d'un individu et l'environnement [91], [92], [93], aucune association significative entre ce marqueur génétique et le risque d'IM n'a encore été décrite.

II.3.2.3 Système fibrinolytique

Le système fibrinolytique (Figure 7) agit par la transformation du plasminogène inactif en plasmine active, en réponse à l'activateur plasminogène tissulaire (t- PA) et à l'urokinase. La plasmine, une fois formée, dégrade la fibrine. L'hypofibrinolyse systémique qui favorise la persistance de la fibrine pourrait jouer un rôle dans le développement de l'athérothrombose.

Elle est fréquemment observée chez les patients atteints de MCV et a été principalement liée à l'augmentation de la concentration plasmatique de l'inhibiteur activateur de plasminogène 1 (PAl- 1), qui est un inhibiteur spécifique de t- PA et l'urokinase [94], [95].

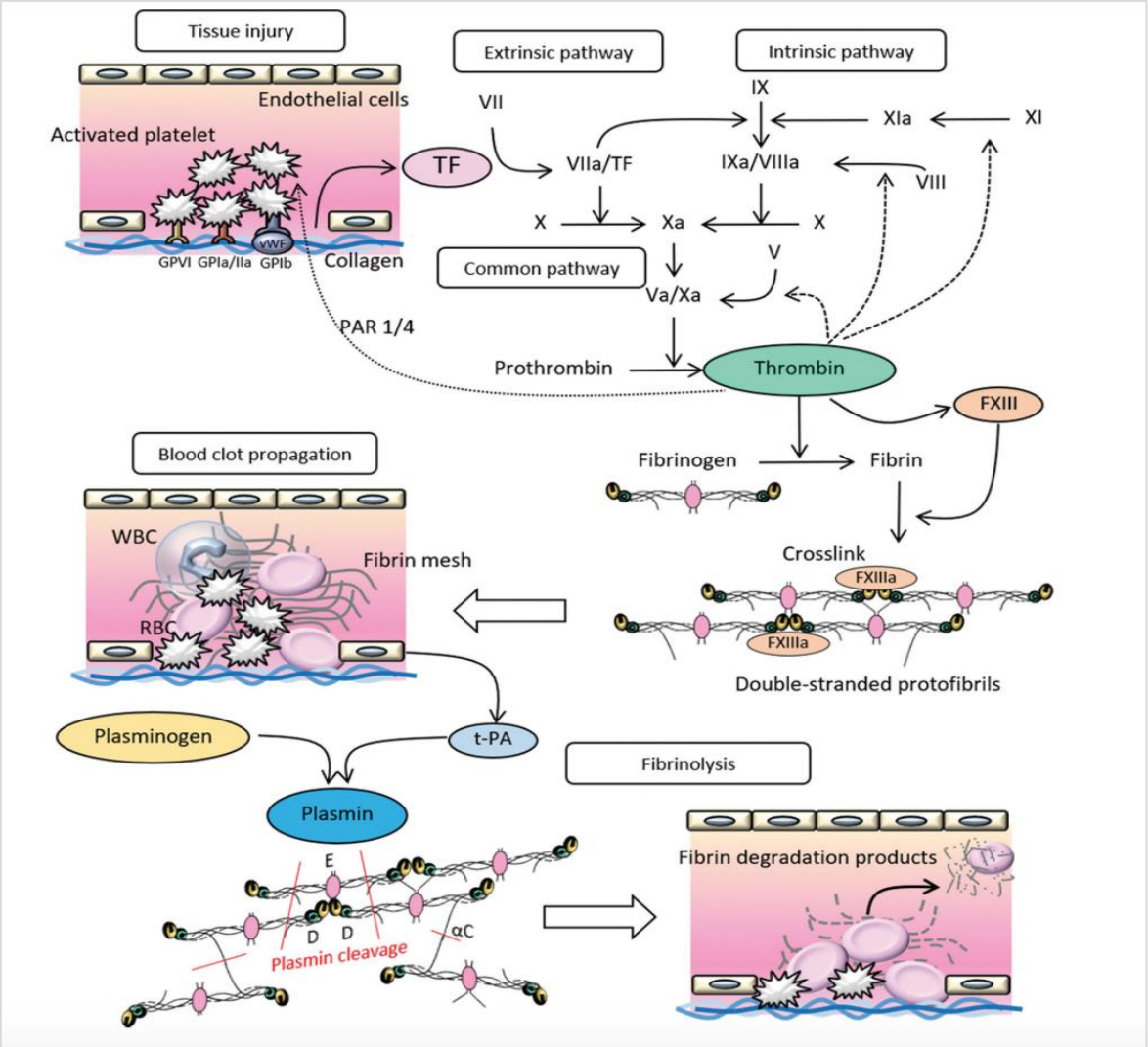


Figure 7: Vue d'ensemble de la coagulation et de l'activation de la fibrinolyse [96].

De nombreuses études épidémiologiques ont récemment montré que certains paramètres de la fibrinolyse sont des facteurs prédictifs d'événements ischémiques. L'hypofibrinolyse, détectée par le temps de lyse des caillots sanguins dilués, représente un risque d'événements vasculaires chez des sujets sains âgés de 40 à 54 ans, comme le montre l'étude Northwick Park Heart [85]. Des niveaux élevés de PAl-l, évalués par la méthode fonctionnelle (activité PA-l) prédisent une récidive de l'IM chez les sujets ayant eu une IM antérieure avant l'âge de 45 ans [97]. Elles sont également associées à la récidive d'attaques ischémiques chez les patients atteints de polyartérite [98], alors qu'elles ne sont pas liées à l'apparition d'IM chez les patients atteints d'angine [82], [99], [100] En outre, il a été démontré qu'un niveau élevé d'antigène tPA avait une valeur prédictive élevée d'événements ischémiques et de mortalité

coronarienne chez les patients atteints d'angine de poitrine ainsi que dans une cohorte de volontaires en bonne santé [101], [102].

II.3.3 Marqueurs de l'inflammation et d'adhésion

II.3.3.1 Protéine C-réactive

La protéine C-réactive (CRP), nommée pour sa capacité à lier et à précipiter le polysaccharide C pneumococcique, est la protéine classique de phase aiguë. Bien qu'elle circule à de faibles concentrations chez les personnes sains, ses niveaux augmentent considérablement en réponse aux infections, aux lésions tissulaires et à l'inflammation [103]. On estime que le rôle du CRP dans la défense de l'hôte est en grande partie attribuable à sa capacité de lier la phosphocholine, d'activer la cascade de complément classique et d'améliorer la phagocytose [104], [105], [106]. Les caractéristiques de liaison des ligands du CRP semblent également importantes pour comprendre son rôle dans l'inflammation. En plus de la reconnaissance des antigènes microbiens, la CRP réagit avec les cellules aux sites de lésions tissulaires. À l'instar de la composante P amyloïde sérique (PAS), la protéine C-réactive se lie aux antigènes nucléaires, aux membranes endommagées et aux cellules apoptotiques, et participe à la clairance des cellules blessées ou apoptotiques, ainsi qu'au matériel libéré par ces cellules endommagées [106]. Au cours des dernières décennies, la perception de la CRP est passée d'un simple marqueur d'inflammation à un prédicteur précieux et très important et indépendant du risque d'athérothrombose, y compris des événements cardiovasculaires futurs. De nombreuses études ont également rapporté que les niveaux élevés de CRP corrélent de manière significative avec l'incidence des complications cardiovasculaires chez les patients sans aucun symptôme de maladie cardiovasculaire manifesté, ainsi que chez les patients atteints d'angine instable, infarctus du myocarde, accident vasculaire cérébral ischémique ou artériopathie périphérique. En outre, l'augmentation des concentrations sériques sanguines de CRP est considérée comme un facteur de risque de mort subite et de resténose chez les patients après une intervention coronarienne percutanée [107]. Bien qu'il existe des preuves solides que la CRP est un prédicteur des événements thrombotiques artériels, il existe des données cliniques contradictoires sur la relation entre l'augmentation de la concentration plasmatique de CRP et la thromboembolie [108]. La grande diversité des résultats concernant le rôle du CRP dans l'athérothrombose a incité la recherche sur les structures de divers isoformes du CRP et leur signification possible dans la physiopathologie. L'existence d'isoformes CRP modifiés et leur éventuelle pertinence pour diverses conditions physiopathologiques ont été suggérées pour la première fois au début des années 80 [109]. En outre, l'accumulation de données probantes

indique la nécessité d'une discrimination claire entre les isoformes CRP modifiés (structure pentamérique plus grande) et indigènes (structure monomérique plus petite) et leurs impacts opposés dans des conditions physiologiques et physiopathologiques [110].

II.3.3.2 Facteur de nécrose tumorale alpha

L'inflammation joue un rôle important dans la progression de nombreux types de maladies cardiovasculaires. D'une part, l'affection inflammatoire systémique favorise l'athérogenèse, conduisant à la maladie coronarienne, mais il peut également favoriser le développement de l'insuffisance cardiaque diastolique. D'autre part, l'inflammation cardiaque se produit dans les événements myocardiques post-ischémiques, et dans des cas plus rares, elle se développe comme une réponse à une lésion cardiaque non ischémique qui provoque souvent des changements pathogènes dans le tissu cardiaque entraînant un dysfonctionnement systolique [111]. Le facteur de nécrose tumorale α (TNF-α) représente l'une des cytokines pro-inflammatoires les plus puissantes et, par conséquent, il a été choisi comme première cible dans l'approche cytokine-visée [112]. Le TNF-α peut être produit par de nombreux types de cellules cardiaques, mais les cellules immunitaires semblent représenter une source particulièrement importante de cette cytokine en pathologie cardiaque. La voie de signalisation TNF-α contrôle de nombreux processus biologiques allant de pro-inflammatoires et proapoptotiques à régénératifs et cardioprotecteurs [113].

L'activation des cellules endothéliales représente l'un des mécanismes pro-inflammatoires les mieux décrits. Les cellules endothéliales répondent au TNF-α par une expression accrue des molécules d'adhésion, qui contrôlent le roulement et l'adhésion des cellules immunitaires inflammatoires dans les tissus. Dans le cadre de ce mécanisme, les deux NTFR (deux récepteurs du ligand TNF-α) sont également engagés de façon critique dans le processus de diapédèse [114]. On sait aussi que le TNF-α augmente les niveaux de ROS et diminue la production d'oxyde nitrique dans les vaisseaux sanguins, ce qui peut entraîner un dysfonctionnement endothélial : une première étape dans l'athérogenèse [115].

Les fibroblastes cardiaques représentent un autre type de cellules du cœur qui peuvent être activé par le TNF-α. Le TNF-α contribue à la fibrose cardiaque également en stimulant la prolifération des fibroblastes cardiaques et le dépôt de fibronectine [116]. De plus, le TNF-α induit la production de MMP9 (métalloprotéinase matricielle 9) et favorise la transition des fibroblastes cardiaques en myofibroblastes pathogènes [117]. Le dépôt excessif de collagène et l'expression de gènes pro-fibrotiques dans ces cellules conduisant à un remodelage cardiaque pathologique sont contrôlés par TNFR1 [117] [118] (Figure 8). Le TNFR1 est également important pour induire la maturation de fibroblastes à partir de cellules myéloïdes

[119]. Toutes ces données démontrent un large spectre d'effets pathogènes du TNF-α dans tous les types de cellules cardiaques.

II.3.3.3 Interleukine-6

L'IL-6 est une cytokine pléiotropique qui agit en aval dans la cascade de signalisation IL-1, elle est impliquée dans le système immunitaire inné et adaptatif, et module la réponse en phase aiguë et l'inflammation chronique. Elle est principalement produite suite au déclenchement des monocytes activés et les macrophages par l'IL-1 ou le TNF-α, ainsi que d'autres types de cellules, tels que les cellules endothéliales, adipocytes, fibroblastes, et les cellules T helper 2 [120]. L'IL-6 augmente la formation de réactifs de phase aiguë tels que le fibrinogène, l'inhibiteur de l'activateur du plasminogène, qui prévient la fibrinolyse, et la protéine C réactive en se liant aux récepteurs membranaires de l'IL-6 (IL-6R) sur les hépatocytes dans la voie de signalisation classique [121]. IL-6 peut potentialiser l'initiation et le développement de l'athérosclérose en induisant l'activation en cascade des plaquettes et de la coagulation, la régulation ascendante de l'expression des molécules d'adhésion et la perte d'intégrité de la couche endothéliale [122], [123]. Il peut augmenter davantage la réponse inflammatoire en stimulant la production de TNF-α, de CXCL8 et de CCL2 (Figure 8) [124].

Dans les études cliniques, l'IL-6 est constamment associé à un risque accru d'infarctus du myocarde et de coronaropathie non mortelle futurs, de façon plus intense que les facteurs de risque cardiovasculaires connus, comme la tension artérielle et le LDL [125].

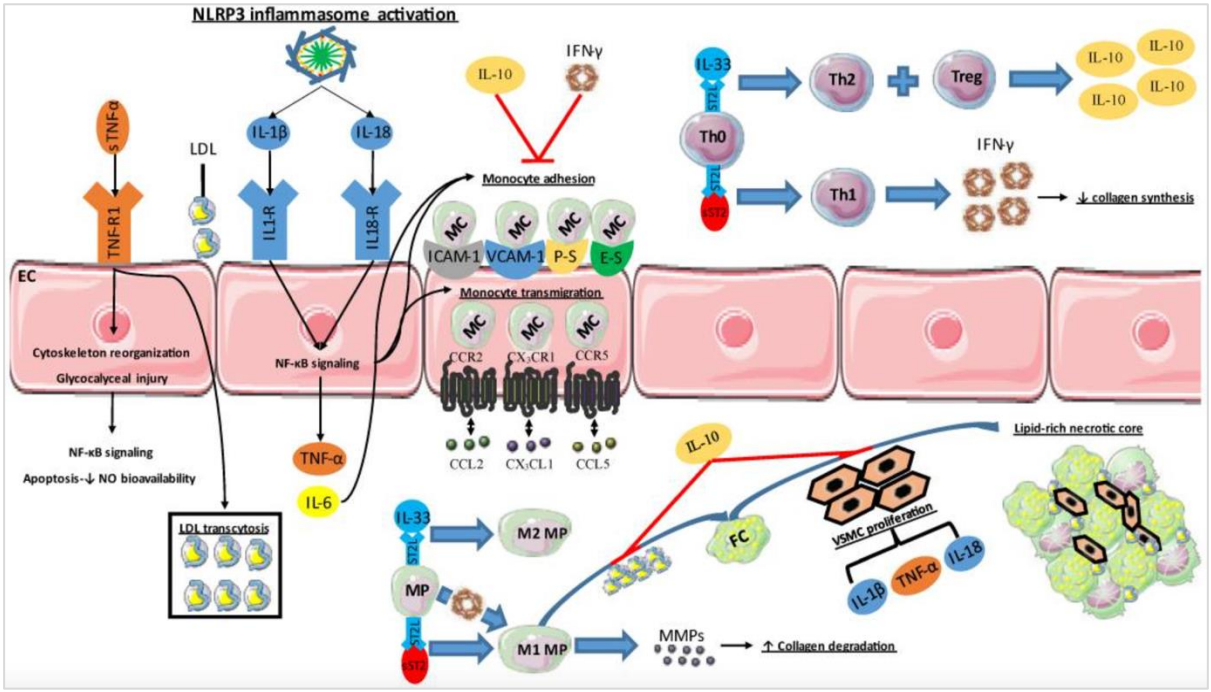


Figure 8: Rôle des principales cytokines et chimiokines dans l'initiation et la progression de l'athérosclérose [126].

Outre les données cliniques appuyant l'association de l'IL-6 avec les maladies athérosclérotiques, il y a une origine génétique dans cette interaction. En effet, le locus IL6R a été détecté dans des études d'association pangénomiques de la maladie coronarienne [127]. Les altérations génétiques dans la voie de signalisation de l'IL-6 augmentent le clivage de l'IL-6R lié à la membrane, ce qui est positivement corrélé avec le taux plasmatique de l'IL-6R, le CRP et le risque cardiovasculaire, selon les études de randomisation mendélienne [8], [128]. Enfin, la variation génétique de l'IL6R a été associée à des manifestations athérosclérotiques, comme la coronaropathie, la maladie artérielle périphérique et les anévrismes aortiques [129].

II.3.3.4 Autres cytokines Interferon- γ

L'IFN-γ joue un rôle crucial dans le déclenchement de l'athérogenèse, car il favorise l'activation des cellules endothéliales et la mobilisation des leucocytes [130]. Parmi les autres actions athérogènes de l'IFN-γ figurent la potentiation de l'inflammation (régulation ascendante de l'IL-1β, de l'IL-6 et du CCL5, régulation descendante de l'IL-1Ra) des macrophages vers le phénotype athérorone M1, polarisation des cellules T vers un phénotype Th1, et l'inhibition de la synthèse du collagène, qui finit par déstabiliser la plaque [130], [131]. L'INF-γ peut également être mis en synergie avec le TNF-α pour produire un effet pro-inflammatoire plus puissant (Figure 8) [132]. Des études expérimentales sur des souris déficientes en récepteurs IFN-γ ont systématiquement détecté une réduction de la taille des lésions athérosclérotiques et de la zone lipidique des lésions, associée à une teneur accrue en collagène, des propriétés déstabilisantes de la plaque d'INF-γ [133], [134].

II.3.3.5 Chimiokines

Plusieurs chimiokines ont été décrites dans le développement de l'athérosclérose coronarienne en raison de leur potentiel à réguler la migration des cellules sanguines et la transmigration endothéliale. Pour commencer, le CCL5, aussi connu sous le nom de RANTES, favorise le recrutement des monocytes en se liant à ses récepteurs membranaires CCR5 et CCR1, ou à d'autres chimiokines solubles (CXCL4, CCL17, CXCL12) (Figure 8). Les niveaux de protéines et d'ARNm de RANTES ont été positivement associés à la morphologie vulnérable de la plaque dans un modèle expérimental de lapin [135]. De plus, la gravité de la coronaropathie était corrélée avec le RANTES, puisque des taux plus élevés ont été observés chez les patients atteints d'infarctus aigu du myocarde et d'angine de poitrine instable comparativement à l'angine de poitrine stable [134]. Concernant le CCL2/CCR2, il agit pour attirer les monocytes en circulation et contribue à l'évacuation des monocytes de la moelle osseuse, ainsi qu'à stimuler la production d'IL-6 [136]. Les niveaux génétiquement

prédits de CCL2, également connus sous le nom de MCP-1, sont liés à une maladie coronarienne et à un risque d'accident vasculaire cérébral plus élevés, comme le montre une récente étude de randomisation mendélienne [137]. En plus de cette constatation, une méta-analyse de 7 études de cohorte portant sur 21401 participants exempts de maladie cardiovasculaire a documenté une association de taux plus élevés de MCP-1 en circulation avec la mortalité cardiovasculaire à long terme [138].

II.3.4 Facteurs de croissance

Les facteurs de croissance sont des protéines de signalisation qui assurent diverses fonctions liées à la différenciation et à la prolifération cellulaires. Bien qu'importants pour l'homéostasie, leur production ou leur régulation anormale peut favoriser la maladie cardiovasculaire. Les facteurs de croissance tels que le FGF-2, l'IGF-1, le PDGFB, le TGF-β1 et le VEGF-A jouent un rôle important dans la migration et la prolifération des cellules musculaires lisses et des cellules endothéliales, et donc dans la pathogenèse de l'athérosclérose [139].

II.3.4.1 VEGF-A

Le VEGF-A est un facteur de croissance pour les cellules épithéliales et un facteur influençant la migration des cellules musculaires lisses (CML). La migration des CML de la membrane basale vers l'intima est stimulée par des facteurs de croissance qui influencent le changement du phénotype des CML de contractile à prolifératif [139]. Les CML qui migrent vers l'intima prolifèrent et sécrètent des protéines de la matrice extracellulaire qui forment une chape fibreuse sur la lésion athéroscléreuse. L'élargissement des lésions athéroscléreuses entraîne une hypoxie locale, qui provoque une augmentation de la synthèse du VEGF-A et une néovascularisation de la lésion athéroscléreuse. Des études sur des modèles animaux ont montré que l'injection de VEGF-A entraînait une augmentation de la surface des lésions athérosclérotiques et influençait le profil lipidique et la concentration de lipoprotéine lipase [140].

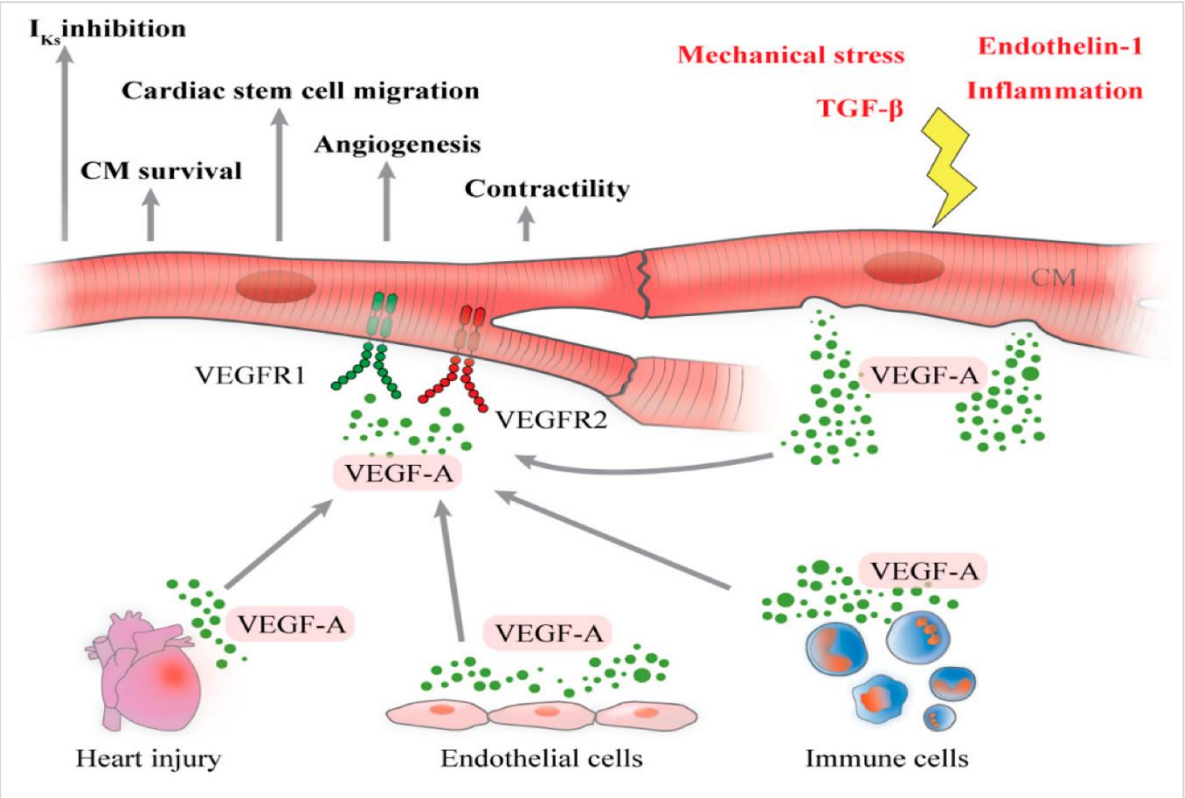


Figure 9 : Représentation schématique des cardiomyocytes comme source et cible du facteur de croissance endothélial vasculaire-A (VEGF-A) [141].

Les gènes humains du *VEGF* se caractérisent par une structure très conservée à sept exons, à l'exception du gène *VEGF-A*, qui en compte huit. L'épissage alternatif du gène VEGF-A humain donne lieu à au moins six transcrits différents, codant pour des isoformes des longueurs suivantes (en acides aminés, à l'exclusion du peptide signal) : 121 (120 chez la souris), 145, 165, 183, 189 et 206 [142] (Figure 10). Tous les transcrits contiennent les exons 1 à 5 et 8, la diversité étant générée par l'épissage alternatif des exons 6 et 7. Une séquence signal hydrophobe essentielle à la sécrétion du VEGF-A est codée dans l'exon 1 et une petite région de l'exon 2, et la VHD est codée par les exons 3 et 4. Les VEGF-A121 et VEGF-A165 humains et leurs équivalents dans d'autres espèces sont les deux principales isoformes chez les mammifères ; les exons 6 et 7 manquent au VEGF-A121 et l'exon 6 au VEGF-A165. L'exon 6 code pour un domaine de liaison à l'héparine, tandis que les exons 7 et 8 codent pour un domaine de liaison NRP1/héparine ; à l'exception du VEGF-A121, on pense que toutes les isoformes lient l'héparine, un polysaccharide. Le VEGF-A165 se lie à NRP1 et NRP2, tandis que le VEGF-A145 ne se lie qu'à NRP2 [143], [144].

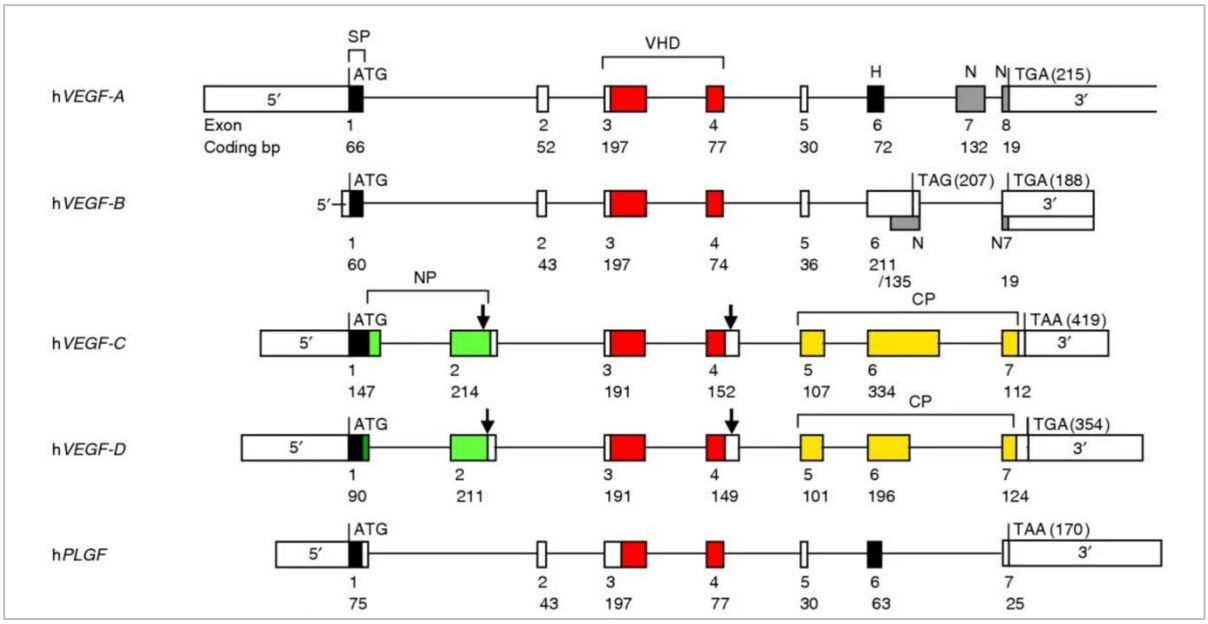


Figure 10: Organisation des gènes et domaines fonctionnels codés des gènes VEGF humains et des gènes apparentés [145].

Les niveaux de VEGF-A sont également déterminés génétiquement ; rs699947 est l'un des polymorphismes qui influencent de manière significative sa concentration sérique [146] [147]. Ce polymorphisme a été associé à un risque accru de divers néoplasmes [148], y compris le cancer du poumon [149]. Dans ses travaux, Osadnik et ses collègues ont montré une tendance à l'association entre le polymorphisme rs699947 et la sévérité de la maladie coronarienne chez les patients sans antécédent d'infarctus du myocarde [150]. Des résultats similaires ont été obtenus par Howell et al., qui ont montré une corrélation significative entre le gène rs699947 et la sévérité de la maladie coronarienne, mais uniquement chez les patients présentant une maladie coronarienne stable et sans antécédent d'infarctus du myocarde. Howell et al., ont expliqué ce résultat par le fait que l'influence du polymorphisme rs699947 sur l'athérosclérose est modeste et peut être masquée par des facteurs environnementaux ou génétiques plus importants conduisant à l'infarctus [151].

II.3.4.2 FGF-2

Le gène FGF2 humain est localisé sur le chromosome 4 dans la région 4q25-4q27 du brin avant de l'ADN, à l'opposé du locus du gène NUDT6. Les gènes FGF2 et NUDT6 se chevauchent à leurs trois extrémités. Le gène humain FGF2 a une longueur de 70990 paires de bases et se compose d'une région 5' non traduite (5UTR), de 3 exons, de 2 introns et d'une région 3' non traduite (3UTR) extrêmement longue (figure 11). Les régions 5' et 3' non traduites contiennent divers éléments régulateurs qui contrôlent l'expression de FGF2 en

réponse à des facteurs tels que la croissance cellulaire, la densité cellulaire, les neurotransmetteurs, les hormones et les voies des seconds messagers. Le promoteur central de FGF2 s'étend de -1800 à +314 (par rapport au site de début de transcription +1, en amont), soit sur une distance de 44 kb en amont du promoteur de NUDT6. [152].

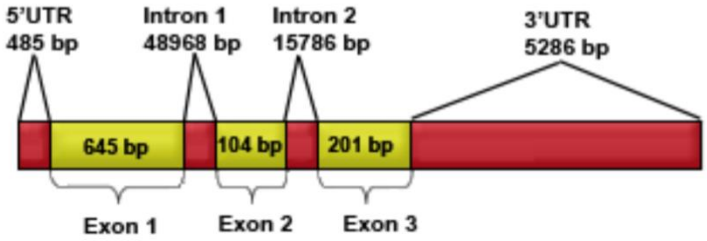


Figure 11: Représentation schématique du gène humain FGF2

Les facteurs de croissance des fibroblastes (FGF) constituent une vaste famille de polypeptides ayant des effets biologiques importants. Chez l'homme, la famille des FGF comprend 22 membres (FGF1 à FGF14 et FGF16 à FGF23 ; FGF15 est l'orthologue murin de FGF19) localisés dans différents tissus et présentant des fonctions spécifiques. Le facteur de croissance FGF-2 est connu pour son implication dans la prolifération, la survie et la différenciation des cellules [153], [154]. Il fait partie de la famille des facteurs de croissance liés à l'héparine qui se lient aux récepteurs de la tyrosine kinase. Au niveau du cœur, il a été démontré que l'expression du FGF-2 était surexprimé après une lésion cardiaque, telle qu'une ischémie/reperfusion, ou dans le processus de remodelage cardiaque [155].

Le rôle du FGF2 dans l'athérosclérose est associé à son activité mitogène et à son rôle dans l'angiogenèse [156]. En outre, le facteur FGF2 entraîne une diminution du collagène et une augmentation de la synthèse des métalloprotéinases (MMP), ce qui pourrait être l'un des éléments jouant un rôle dans la formation de la plaque vulnérable [157], [158], [159]. Certains polymorphismes génétiques peuvent influencer l'expression du facteur FGF2. Par exemple, le polymorphisme rs308395, localisé dans la région du promoteur du gène FGF2, peut affecter la liaison des facteurs de transcription et ainsi influencer l'expression de FGF2 (Wróbel et al., 2013). Ce polymorphisme a été associé au pronostic des patients atteints de lymphome non hodgkinien, les porteurs du génotype C/C étant plus souvent diagnostiqués avec une forme agressive de la maladie que ceux portant l'allèle G (Wróbel et al., 2013). Des études expérimentales indiquent que les niveaux de FGF2 augmentent après des interventions telles que l'angioplastie par ballonnet ou l'implantation d'un stent, pouvant être liés à une réponse

inflammatoire accrue. Dans des conditions expérimentales, l'inhibition de FGF2 a montré une diminution de la prolifération des cellules musculaires lisses après une lésion artérielle, tandis que chez des chiens soumis à une angioplastie de l'artère iliaque, la perfusion de FGF2 a rétabli la relaxation de la paroi artérielle. En raison de son potentiel à stimuler la prolifération des cellules endothéliales, le FGF2 a été proposé comme une substance potentielle pour le revêtement des stents [160] [161]

II.3.4.3 IGF1

Le facteur de croissance analogue à l'insuline 1 (IGF-1) est un facteur de croissance endocrine et autocrine/paracrine qui circule à des niveaux élevés dans le plasma et est exprimé dans la plupart des types de cellules. L'IGF-1 a des effets importants sur le développement, la croissance et la différenciation des cellules et la réparation des tissus [162]. L'IGF-1 est un gène unique composé de six exons s'étendant sur près de 90 kb d'ADN génomique. Les exons sont épissés alternativement pour générer plusieurs transcrits codant chacun pour une protéine pré-pro-IGF-I différente possédant des séquences de tête de peptide de signalisation variables. Cependant, après traitement, tous les transcrits isoformes donnent naissance au même peptide IGF-I mature de 70 acides aminés qui utilise le même récepteu [163]. Le peptide mature de l'IGF-I, conservé chez toutes les espèces [164], contient quatre domaines nommés en raison de leur similitude avec ceux de l'insuline : les domaines B-C-A-D (Figure 12). Le domaine B est impliqué dans la liaison du récepteur de l'IGF-I et de la protéine de liaison de l'IGF [149] [150].

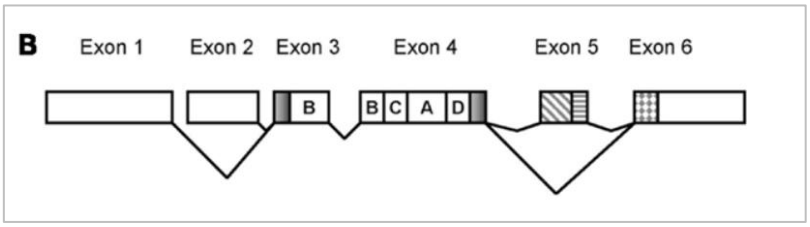


Figure 12: Structure du gène IGF-1

L'IGF-1 joue également un rôle de régulateur dans la croissance des cellules endothéliales (CE) et des cellules musculaires lisses (SMC). Une corrélation inverse a été observée entre le taux d'IGF-1 et le développement de l'athérosclérose [162]. Des données récentes suggèrent que l'IGF-1 peut réduire la progression de l'athérosclérose et améliorer la stabilité des plaques d'athérome dans des modèles animaux. Les mécanismes potentiels de cet effet protecteur contre l'athérosclérose incluent la capacité de l'IGF-1 à diminuer le stress oxydatif, l'apoptose cellulaire, la signalisation pro-inflammatoire, et le dysfonctionnement endothélial [162].

Plusieurs recherches ont indiqué une association entre le polymorphisme rs35767 près du gène IGF1 et les taux sériques d'IGF-1[167] [168]. Sesti et al., ont démontré que les individus porteurs de l'allèle T du polymorphisme rs35767 présentaient des taux d'IGF-1 circulants significativement plus élevés, une épaisseur de l'intima-média réduite, et une vasodilatation dépendante de l'endothélium plus prononcée par rapport aux porteurs de l'allèle CC. Ces résultats renforcent l'hypothèse selon laquelle l'IGF-1 joue un rôle dans la pathogenèse de l'athérosclérose [169].

II.3.4.4 TGF-β1

La protéine TGF-β1, également connue sous le nom de transforming growth factor beta 1, est une cytokine qui appartient à la famille des facteurs de croissance transformants bêta. Cette protéine est codée par le gène TGFB1. Elle joue un rôle essentiel dans la régulation de la croissance cellulaire, la différenciation cellulaire, la migration cellulaire, et l'apoptose. De plus, le TGF-β1 est impliqué dans les interactions entre les épithéliums et le mésenchyme environnant, favorisant la transition épithélio-mésenchymateuse (EMT) [170]. Le TGF-β1 actif est libéré sous forme de dimère en raison de la clivage protéolytique de LAP à un pH bas ou par des interactions avec d'autres protéines telles que les thrombospondines et l'intégrine αVβ6 [171], [172].

Le gène *TGF-β1* situé sur le chromosome 19, est constitué de 7 exons. Le transcrit de *TGF-β1* de 2,5 kb a été documenté par Derynck et ses collègues [157]. Des recherches ultérieures ont révélé que le transcrit humain de *TGF-β1* est raccourci de 381 bases par rapport à l'original, en raison de la localisation du signal de polyadénylation ATTAAA à la position 2136 au lieu de 2517 [173].

Le rôle du TGF-β1 dans l'athérosclérose a été confirmé et est bien étudié. En général, le TGF-β1 stimule la production de la matrice extracellulaire et inhibe la prolifération des cellules musculaires lisses et des cellules endothéliales [174], [175]. Cependant, à des niveaux dépassant 1 à 2 fg/cellule, le TGF-β1 peut stimuler la prolifération des cellules musculaires lisses, des fibroblastes et des chondrocytes [176]. Le TGF-β1 est également présent dans le sérum sanguin, bien que des études visant à comparer les niveaux de TGF-β1 et la gravité de la maladie coronarienne aient produit des résultats contradictoires [175]. De plus, les niveaux de TGF-β1 dépendent de facteurs génétiques [177]. Néanmoins, le rôle du TGF-β1 dans la resténose ne dépend pas simplement de ses niveaux sériques. Aucune corrélation n'a été mise en évidence par des études visant à établir le lien entre les taux sériques de TGF-β1 et l'historique de resténose, la resténose récurrente ou la première resténose [178], [179]. Dans une première étude sur le polymorphisme rs1800470, Fragoso et al., ont montré que dans la

population métisse, l'allèle T du rs1800470 est associé à un risque accru de resténose [180]. Les résultats obtenus avec la population polonaise suggèrent que la présence de l'allèle A (correspondant à l'allèle T sur le brin complémentaire) est associée à un risque réduit de resténose. Ces divergences, bien que complexes, sont fréquentes dans l'analyse des relations entre les polymorphismes de *TGFB1* et les niveaux sériques de TGF-β1, et entre le polymorphisme rs1800470 et d'autres maladies cardiovasculaires. Formuler une hypothèse sur le mécanisme de l'intensification de la resténose liée à rs1800470 serait complexe en raison de la multitude de voies de signalisation et de processus régulés par le TGF-β1.

II.3.4.5 PDGFB

PDGFB agit en tant que facteur de croissance pour les cellules d'origine mésenchymateuse, notamment les cellules musculaires lisses (SMC), en soutenant leur migration vers la lumière d'un vaisseau lésé. Il est libéré à la fois par les plaquettes formant un thrombus pariétal et par les macrophages activés qui migrent vers une blessure dans la paroi artérielle [181].

Le gène *PDGFB* code pour le précurseur de la chaîne B du facteur de croissance dérivé des plaquettes (PDGF) humain et représente l'homologue cellulaire de l'oncogène v-sis. D'une taille de 22 kb, le gène PDGFB est constitué de 7 exons, dont l'exon 7 et la majeure partie de l'exon 1 sont des séquences non codantes (représentées par des boîtes blanches) (Figure 13).

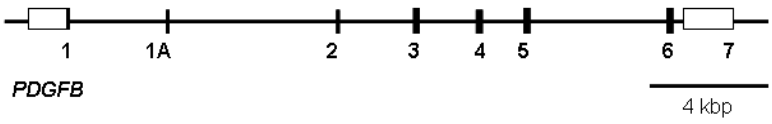


Figure 13: Structure du gène *PDGFB*

Le précurseur de la chaîne B du PDGF est généralement traduit à partir d'un transcrit de 3,5 kb. Le premier exon contient la séquence du peptide signal précédé d'une séquence non traduite d'un kilobase dotée d'une activité inhibitrice de la traduction. Un ARNm de 2,6 kb, qui commence à un exon alternatif, exon 1A, a été décrit dans la lignée cellulaire de choriocarcinome humain JEG-3. Il initie un cadre de lecture ouvert qui est continu avec le code pour le précurseur de la chaîne B du PDGF mais qui ne contient pas le code pour le peptide signal [182], [183].

Les inhibiteurs de la kinase du récepteur PDGFB ont démontré leur capacité à inhiber la formation de la néointima dans un modèle expérimental [184]. Le polymorphisme intronique rs2285094, localisé près d'un site d'épissage, a été lié à un risque de développement de la sclérodermie. Aucune corrélation n'a été observée entre le risque de diabète de type 1, le

développement de la néphropathie à IgA, et le génotype rs2285094 [184], [185]. Dans l'étude menée par Osadnik et ses collaborateurs, le groupe d'individus homozygotes C/C a manifesté une perte de lumière tardive plus élevée, même après avoir pris en compte les variables angiographiques, indiquant que ce résultat n'est pas attribuable à un artefact [160].

III. Syndrome coronarien aigu

III.1 Introduction

La maladie cardiovasculaire (MCV) comprend un certain nombre de troubles touchant les vaisseaux sanguins et le cœur qui sont responsables d'un tiers de tous les décès dans le monde [186]. La cardiopathie ischémique (CI) est la principale composante de la MCV, caractérisée par un processus de maladie dynamique de l'accumulation de plaque athérosclérotique dans les artères coronaires péricardiques. Les progrès et la stabilité de la cardiopathie ischémique peuvent être modifiés par des interventions de style de vie, un traitement pharmacologique et des procédures de revascularisation coronarienne [187]. Selon l'état stable ou non du patient, la CI est classée en un syndrome coronarien chronique ou un syndrome coronarien aigu. Le passage du syndrome coronarien chronique au SCA augmente sensiblement le risque de morbidité et de mortalité [4]. L'incidence et les retombés après le syndrome coronarien aigu se sont améliorés au cours des dernières décennies [188], [189], [190], [191]. L'introduction de nouvelles méthodes de reperfusion en conjonction avec des inhibiteurs plaquettaires et des anticoagulants plus puissants, ainsi que des médicaments de prévention secondaire efficaces, a partiellement expliqué ce progrès [190]. De plus, la réduction des taux de cholestérol sérique, la baisse des taux de tabagisme et la diminution de la sédentarité dans la population générale ont été associées à une diminution de la mortalité liée à la CI [192].

III.2 Épidémiologie

Bien que des progrès substantiels ont été réalisés dans le diagnostic et le traitement des syndromes coronariens aigus, les maladies cardiovasculaires demeurent la principale cause de décès dans le monde, près de la moitié de ces décès étant attribuables à des cardiopathies ischémiques [187], [193]. À l'échelle mondiale, 12 % des années de vie ajustées à l'incapacité perdues annuellement sont attribuables aux cardiopathies ischémiques [194], [195]. Il existe une variation mondiale marquée des taux de revascularisation et de mortalité à long terme due aux syndromes coronariens aigus [196], [197].

La proportion de syndromes coronariens aigus qui sont des infarctus du myocarde à élévation du segment ST (STEMI) diminue dans les pays à revenu élevé [198], probablement en raison des tendances à long terme des facteurs de risque des patients, y compris la baisse

des taux de tabagisme en Europe de l'Ouest et en Amérique du Nord, et en partie liée à l'utilisation de plus en plus répandue des dosages de troponine à haute sensibilité (hsTn) pour diagnostiquer les cas non liés à l'ITSMI. Néanmoins, les taux de mortalité à l'hôpital chez les patients atteints de STEMI compliquée par un choc demeurent élevés, particulièrement dans le contexte d'un arrêt cardiaque [199].

III.3 Physiopathologie

L'athérosclérose est une maladie fibroproliférative complexe, chronique, multifocale, immuno-inflammatoire, caractérisée par une accumulation du métabolisme lipidique, une interaction cellulaire active, une inflammation et un remodelage de la matrice des grandes artères [3]. L'athérosclérose provoque des lésions complexes sur les artères coronariennes, cérébrovasculaires et vasculaires périphériques [200]. La figure 14 représente l'anatomie de l'artère normale. La lésion précoce de l'athérosclérose se compose de stries graisseuses composé de cholestérol et macrophage.

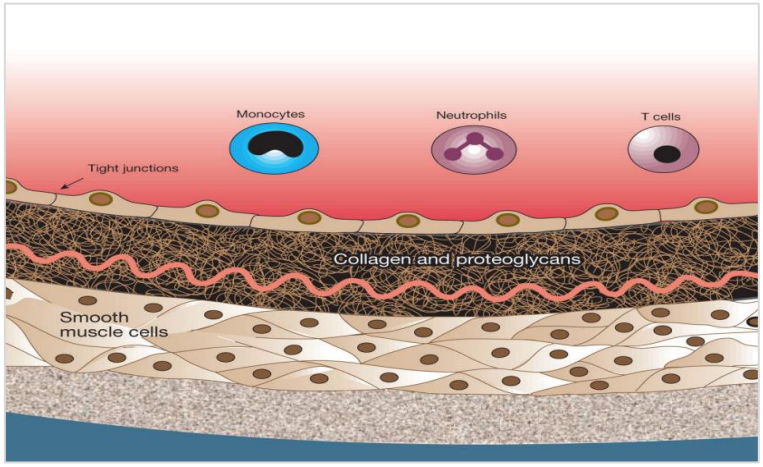


Figure 14 : Structure de l'artère normale large [201].

La lésion conduit à une occlusion aiguë de l'artère par un thrombus souvent lié à une rupture ou une érosion de l'intima, cliniquement présent sous forme d'angine instable, d'infarctus du myocarde (IM) ou de mort cardiaque subite [201], [202]. Dans le cas de la coronaropathie stable, l'athérosclérose progresse lentement, ce qui permet le développement de la circulation collatérale [202] (figure 15). Le processus d'athérosclérose peut être accéléré par les facteurs de risque cardiovasculaires traditionnels tels que le diabète, l'hypertension, l'obésité, la dyslipidémie, le tabagisme et les facteurs génétiques.

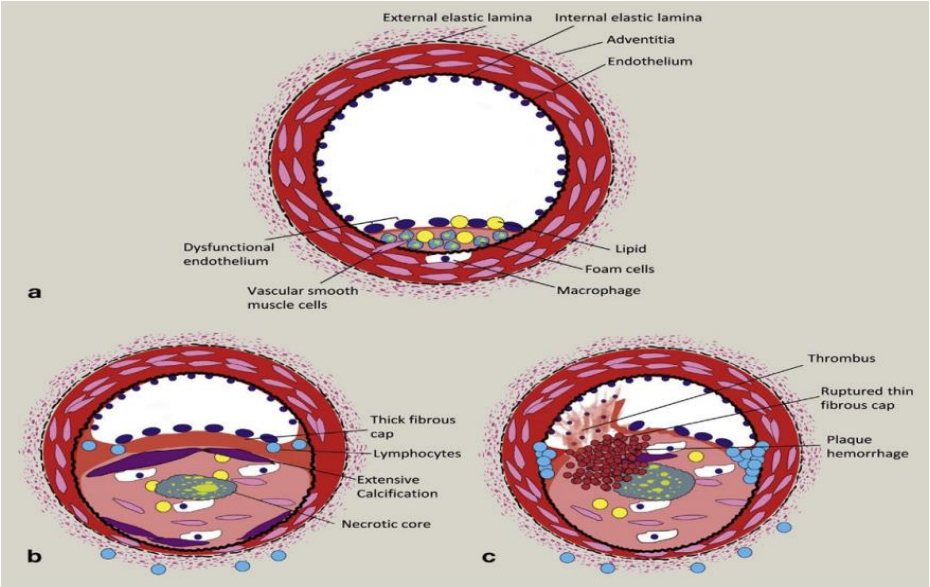


Figure 15 : Étapes de développement de la plaque d'athérosclérose

(a) strie graisseuse avec cellules endothéliales dysfonctionnelles, insudation lipidique et transformation des macrophages en cellules spumeuses. (b) Plaque stable avec calcification importante et capuchon fibreux épais recouvrant les cellules spumeuses et le noyau nécrotique. (c) Plaque instable ayant subi une rupture aigu, avec une collection de fibrine et de plaquettes formant un thrombus sur la mince capsule fibreuse perturbée [202].

III.4 Diagnostic et classification du SCA

Le SCA décrit un état d'ischémie myocardique aiguë, généralement causée par la rupture, l'érosion ou l'ulcération d'une plaque artérielle athérosclérotique coronaire, provoquant un degré variable d'obstruction thrombotique de la lumière coronaire, empêchant la circulation sanguine et l'apport d'oxygène au myocarde distal de la lésion.

En général, cette condition se manifeste par une variété de symptômes cliniques ainsi que des résultats anormaux d'électrocardiogramme (ECG) et biochimiques élevés (biomarqueur cardiaque), dont l'ampleur dépend largement de la taille du territoire ischémique. Les patients présentent généralement des douleurs thoraciques/inconfort avec ou sans essoufflement, qui peuvent tous les deux être accompagnés de signes d'activation du système nerveux autonome.

En effet, certains patients présentent des symptômes dramatiques, tels que des douleurs thoraciques graves et un choc cardiogénique ou même une mort cardiaque soudaine (MCS), tandis que d'autres présentent des symptômes limités qui ne les incitent pas à consulter un médecin [203]. Les altérations ECG les plus couramment rapportées dans une ischémie myocardique comprennent l'élévation du segment ST, l'inversion de l'onde T, et l'arythmie. L'élévation des biomarqueurs cardiaques est un signe de nécrose myocardique. Le syndrome coronarien aigu est subdivisé en infarctus aigu du myocarde (IMA) et angine instable (AI). Le

diagnostic de l'IMA nécessite la présence des preuves de nécrose myocardique (élévation dynamique des biomarqueurs cardiaques) en combinaison avec un contexte clinique compatible avec une ischémie myocardique aiguë [204]. Cependant, le diagnostic de l'AI est plutôt symptomatique reposant essentiellement sur des symptômes angineux induits par une activité physique minimale ou au repos, où la preuve biochimique de nécrose myocardique doit être écartée. L'ECG dans le cas de l'AI est souvent normal, mais l'élévation du segment ST ou l'inversion d'onde T n'est pas rare [198]. L'IMA est également sous-catégorisé en infractus du myocarde avec élévation du segment ST (STEMI) et non STEMI (NSTEMI). L'élévation du segment ST sur l'ECG associée à des symptômes suggérant une ischémie myocardique indique l'occlusion d'une artère épicardique, tandis que l'absence d'élévation du segment ST n'est généralement pas associée à une occlusion artérielle épicardique. Cette dernière est une simplification pour faciliter la prise de décision clinique [205].

L'occlusion d'une artère épicardique, compatible avec le STEMI, entraîne une nécrose myocardique en aval de la lésion et induit généralement un infarctus qui devient transmural si le flux sanguin n'est pas rétabli en temps opportun. En NSTEMI, l'artère n'est généralement pas complètement occluse, entraînant une lésion subendocardique limitée. Le syndrome coronarien aigu non ST (NSTE-SCA) est un terme général fréquemment utilisé qui comprend le NSTEMI et l'AI.

III.5 Traitement du SCA

Deux grands objectifs du traitement SCA peuvent être décrits. Premièrement, dans la phase aiguë, l'objectif principal est de limiter les lésions myocardiques, c.-à-d. la nécrose induite par l'hypoxie, résultant d'une obstruction coronarienne causée par la formation d'un thrombus. La réalisation de cet objectif prévient les complications aiguës de l'IMA comme l'ischémie, l'arythmie liée à la MCS, l'insuffisance cardiaque aiguë et les complications mécaniques de l'IAM. Dans la pratique contemporaine, cet objectif est atteint principalement par une combinaison de surveillance de l'arythmie, de traitement médical comprenant notamment des antiplaquettaires et des antithrombotiques pour limiter la formation de thrombus, et de procédures chirurgicales de revascularisation avec intervention coronarienne percutanée (PCI) ou pontage coronarien (CABG), visant à rétablir un débit sanguin suffisant dans le myocarde [198], [206], [207].

Deuxièmement, dans une perspective plus large, la prévention secondaire vise à prévenir les récidives cardiovasculaires par le traitement de tous les facteurs de risque éventuellement modifiables. Il se compose à la fois de thérapie médicale et de conseils de modification de style de vie, de préférence dans le cadre d'un programme de réadaptation cardiaque. Un

traitement médical complet ciblant l'activation plaquettaire, l'hyperlipidémie, l'hypertension et le diabète est considéré comme crucial pour la réduction du risque d'événements futurs du SCA, et il a été démontré qu'il réduit considérablement le risque d'événements récurrents [208], [209]. Les modifications du mode de vie portant sur les habitudes de tabagisme, la sédentarité, le surpoids et les habitudes alimentaires dans le cadre d'un programme de réadaptation cardiaque jouent également un rôle important dans la réduction du risque d'événements récurrents.

III.5.1 Revascularisation coronaire

La restauration de l'apport sanguin coronaire au myocarde au moyen de la revascularisation coronarienne est fondamentale dans le cadre du SCA. Les cardiomyocytes sont très sensibles à l'ischémie et la nécrose s'établit si la revascularisation n'est pas effectuée rapidement. Plus l'obstruction de la lumière coronaire est complète, plus l'artère doit être ouverte rapidement. La revascularisation peut être obtenue pharmacologiquement par thrombolyse ou mécaniquement par PCI ou CABG. La revascularisation thrombolytique est strictement une thérapie de reperfusion. En bref, la PCI est une méthode endovasculaire percutanée basée sur un cathéter de revascularisation, dans laquelle la sténose est dilatée à l'aide d'un cathéter à ballonnet de l'intérieur de la lumière vasculaire, la plupart du temps suivie par l'implantation d'une endoprothèse. L'accès vasculaire est principalement obtenu par la ponction des artères radiales ou fémorales. En étant peu invasive, le patient est généralement éveillé pendant l'intervention. La chirurgie CABG nécessite l'accès à la cavité thoracique et donc l'anasthesie générale. La circulation et la respiration des patients sont prises en charge par une pompe de dérivation cardiopulmonaire. Les nouveaux vaisseaux, qui peuvent être artériels ou veineux, sont anastomosés aux sténoses, rétablissant un débit sanguin suffisant vers le myocarde ischémique [5].

III.5.2 Traitement antihypertensif

L'avantage du traitement antihypertenseur est bien documenté avec une association log-linéaire entre la PA et les événements vasculaires jusqu'à une PA de 115/75 mm Hg [210]. Dans une méta-analyse portant sur plus de 600000 patients, une réduction de la PA systolique de 10 mm Hg a réduit le risque de maladie coronarienne de 17 %, d'accident vasculaire cérébral de 27 %, d'insuffisance cardiaque de 28 % et de la mortalité générale de 13 % [211]. Les recommandations européennes actuelles du SCA préconisent un traitement pharmacologique antihypertenseur si PA>140/90 mm Hg ou >130/90 mm Hg chez les patients atteints de diabète ou d'insuffisance rénale. La plupart des patients devraient, si elle peut être tolérée, être traités à <130/80 mm Hg. Chez les patients de moins de 65 ans, la plage

cible de pression artérielle systolique est de 120 à 129 mm Hg et chez les patients de plus de 65 ans, de 130 à 139 mm Hg [198].

III.5.3 Traitement hypolipémiant

Plusieurs options de traitements pharmacologiques visent la réduction des lipides, et de nouveaux agents sont en cours de développement. Toutefois, dans la pratique clinique contemporaine, les statines, l'ezetimibe et les inhibiteurs des récepteurs PCSK9 représentent les groupes de médicaments les plus utilisés. Les statines sont le médicament le plus utilisé pour réduire le taux des lipides sanguins. Ils agissent en inhibant la HMG-CoA réductase, qui limite la biosynthèse du cholestérol et diminue la concentration du cholestérol hépatique. Cette dernière régule les récepteurs hépatiques du LDL, améliorant la clairance des LDL dans le sang. Outre l'effet hypolipidémiant, on considère que les statines neutralisent le processus inflammatoire chronique dans la paroi artérielle en améliorant la fonction endothéliale et en réduisant la vulnérabilité aux plaques [11]. L'ézétimibe est un inhibiteur de l'absorption du cholestérol qui agit en réduisant l'absorption du cholestérol dans l'intestin grêle. Il a été démontré qu'elle ajoute une réduction modérée du risque de CV après l'SCA lorsqu'elle est combinée à la thérapie aux statines [212]. Il est actuellement recommandé si la cible de traitement du LDL n'est pas atteinte malgré la thérapie aux statines à haute intensité [198].

Les inhibiteurs du récepteur PCSK-9 ciblent le récepteur hépatique PCSK-9, ce qui augmente la clairance plasmatique des LDL. Ces agents sont très efficaces pour réduire le LDL et ajoutent une réduction modérée du risque d'événements de CV lorsqu'ils sont ajoutés à la thérapie aux statines à haute intensité [213], [214]. Un traitement inhibiteur du récepteur PCSK-9 est recommandé si la combinaison de statine à haute intensité et d'ézétimibe est insuffisante pour atteindre les niveaux cibles de LDL [198].

III.5.4 Traitement antiplaquettaire

L'agrégation plaquettaire joue un rôle clé dans la formation du thrombus dans le SCA. Dans les lésions vasculaires, elle représente la première ligne de défense du corps, fonctionnant pour construire rapidement un bouchon pour arrêter le saignement. Ce processus est appelé hémostase primaire et est suivi par une hémostase secondaire, qui implique l'activation des facteurs de coagulation dans une cascade qui conduit finalement à la formation d'un thrombus, composé principalement de fibrine et de plaquettes. Dans le SCA, la raison de l'agrégation plaquettaire est la lésion vasculaire qui se compose généralement de la plaque coronaire rompue. L'activation plaquettaire est un processus complexe, dans lequel deux voies induites par les récepteurs jouent des rôles importants et qui sont actuellement ciblés dans la thérapie antiplaquettaire. Le premier est le récepteur thromboxane A2 (TXA2),

qui active l'agrégation plaquettaire lors de la liaison TXA2. La production de TXA2, qui dépend de l'activation enzymatique par la cyclooxygénase 1 (COX-1), est irréversiblement inhibée par l'acide acétylsalicylique, qui a longtemps été la base de la thérapie antiplaquettaire dans toutes les maladies ischémiques du cœur. La deuxième voie implique le récepteur P2Y12, qui est médiateur de l'activation plaquettaire lors de la liaison à l'adénosine diphosphate (ADP). Plusieurs inhibiteurs du récepteur P2Y12 sont utilisés en clinique, chacun ayant des caractéristiques pharmacodynamiques et une efficacité différente. Les plus communs sont le clopidogrel, le ticagrélor et le prasugrel [215], tableau 1.

Tableau 1 : Vue d'ensemble sur les inhibiteurs P2Y12.

	Thienopyridines			**Non-thienopyridines**		
	Clopidogrel	**Prasugrel**	**Ticlopidine**	**Ticagrelor**	**Cangrelor**	**Selatogrel**
Route of administration	Oral	Oral	Oral	Oral	Intravenous	Subcutaneous
Bioactivation	Yes	Yes	Yes	No	No	No
Mechanism of action	Competitive inhibition of P2Y12 receptor	Competitive inhibition of P2Y12 receptor	Competitive inhibition of P2Y12 receptor	Non-competitive inhibition of P2Y12 receptor	Competitive inhibition of P2Y12 receptor	Competitive inhibition of P2Y12 receptor
Reversibility	Irreversible	Irreversible	Irreversible	Reversible	Reversible	Reversible
Half life	6 h	7 h	13 h	6–12 h	3–6 min	4–7 h
Onset of action	2–8 h	0.5–4 h	6 h	0.5–4 h	2 min	15–30 min

III.6 Pharmacologie et génétique des inhibiteurs P2Y12

Le récepteur P2Y12 est une protéine membranaire plaquettaire couplée à la protéine G [216]. Les dommages des cellules et des plaquettes entraînent la libération d'adénosine diphosphate (ADP). L'ADP se lie aux récepteurs P2Y12, ce qui entraîne l'activation des plaquettes, expose la glycoprotéine activée IIb/IIIa (GPIIb/IIIa), ce qui favorise l'agrégation et le recrutement des plaquettes et entraîne la stabilisation de la formation du thrombus [216]. Alors que les antagonistes GPIIb/IIIa ont été développés pour la première fois comme inhibiteurs puissants de ce processus, les travaux subséquents ont démontré que l'inhibition de P2Y12 est une étape cruciale dans la prévention de la propagation du thrombus. Le développement d'inhibiteurs spécifiques de P2Y12 a fourni des options pharmacologiques robustes. À ce jour, six inhibiteurs de P2Y12 ont été mis au point pour une utilisation clinique (tableau 1). Les thienopyridines, y compris la ticlopidine, le clopidogrel et le prasugrel, sont

des pro-drogue qui nécessitent une bio-activation de leurs métabolites actifs. Une fois activés, ils se lient irréversiblement aux récepteurs P2Y12 empêchant la fixation de l'ADP et inhibant l'activation des plaquettes [12]. Les non-thienopyridines comprennent le ticagrelor, le cangrelor et le selatogrel. Le ticagrélor est un inhibiteur réversible non compétitif, tandis que le cangrelor et le selatogrel sont des inhibiteurs directement réversibles du récepteur P2Y12 (figure 16) .

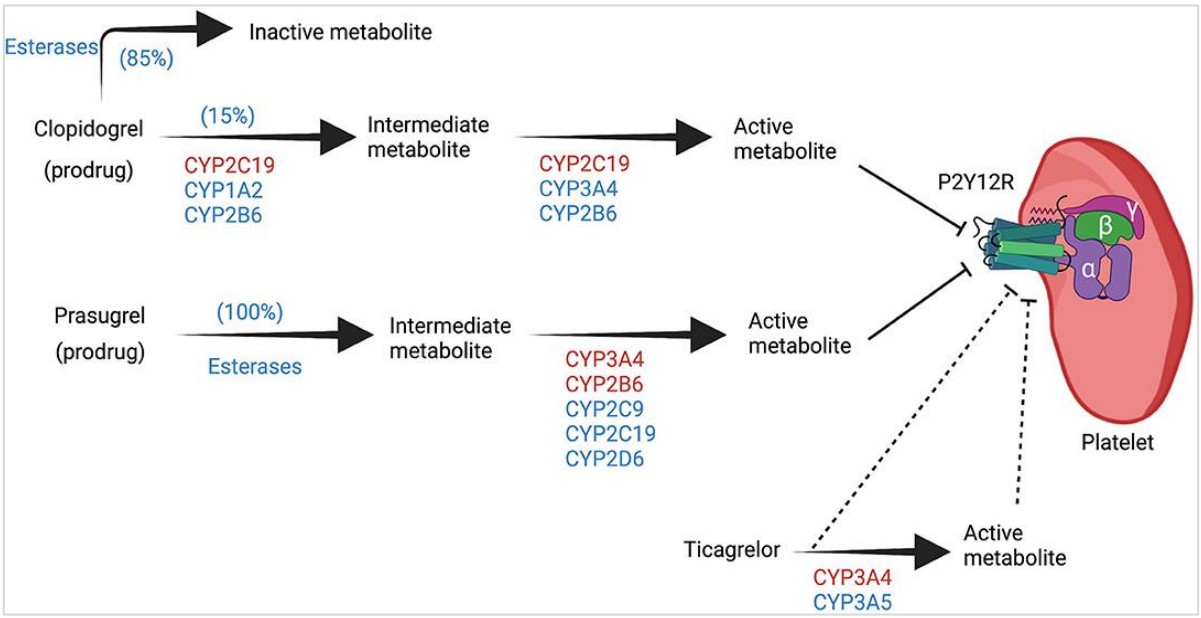


Figure 16 :Vue d'ensemble de la biotransformation des inhibiteurs P2Y12 [13].

III.6.1 Les thiénopyridines

Ticlopidine était le premier agent oral disponible dans la classe des thienopyridines. Il a nécessité une bioactivation hépatique dépendante du CYP en deux étapes. Le CYP2B6, le CYP2C19 et le CYP3A sont les principaux isoformes du CYP impliqués dans sa bioactivation. Avant que la ticlopidine ne soit retirée du marché, un effet secondaire limitant son utilisation était la neutropénie. Le clopidogrel nécessite également une bioactivation hépatique dépendante du CYP en deux étapes. Comme la ticlopidine, 15 % de la dose orale de clopidogrel est activée par le CYP hépatique, tandis que 85 % sont inactivés par les estérases et ensuite excrétés. CYP2C19 est l'isoforme le plus influent dans les processus de bioactivation, et le gène responsable de son expression est situé sur le chromosome 10. Le CYP2C19*1 est l'allèle de type sauvage avec une fonction enzymatique normale. Le polymorphisme génétique produit différents allèles avec différents degrés de fonction enzymatique allant d'une perte de fonction complète à une augmentation de l'activité et du gain de fonction [14]. Un énoncé du consensus du Consortium de mise en œuvre de la

pharmacogénétique clinique catégorisait les individus en cinq phénotypes différents selon leurs allèles : métabolisateurs pauvres (PM), métabolisateurs intermédiaires (IM), métabolisateurs normaux (NM), métabolisateurs rapides (RM), et les métabolisateurs ultrarapides (UM) [217] (figure 17).

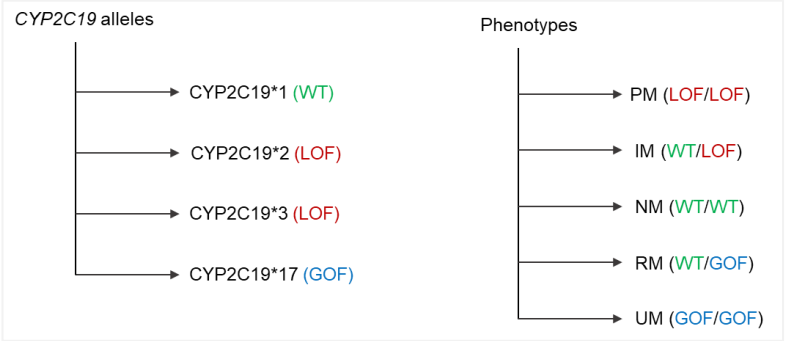


Figure 17 : Génotypes et phénotypes du cytochrome P450

Le *Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium* a classé le niveau de fonction du CYP2C19 en cinq phénotypes différents : *poor metabolizers (PM), intermediate metabolizers (IM), normal metabolizers (NM), rapid metabolizers (RM), and ultrarapid metabolizers, Wild Type (WT), Loss Of Function (LOF), Gain Of Function (GOF)* [13].

Le prasugrel nécessite également une bioactivation CYP. Il est activé par des isoformes du CYP semblables au clopidogrel, mais le CYP2B6 et le CYP3A4 sont les isoformes les plus influents avec un rôle plus petit de CYP2C19 [218]. Contrairement au clopidogrel, il n'y a pas de voie d'inactivation, et l'estérase joue un rôle dans le processus d'activation du prasugrel.

III.6.2 Les Non-thiénopyridines

Le ticagrélor est une cyclopentyl-triazolopyrimidine orale qui lie de façon réversible le récepteur P2Y12 d'une manière non concurrentielle, ce qui entraîne un changement conformationnel qui limite la capacité de liaison de l'ADP du récepteur [219], [220]. Le ticagrélor ne nécessite pas de bioactivation et il est métabolisé par CYP3A4 en métabolite actif ayant une activité antiplaquettaire comparable à celle du ticagrélor [221]. Le cangrelor est un analogue ATP direct, non halonopyridine, qui se lie de façon réversible au récepteur P2Y12. C'est le seul inhibiteur du récepteur P2Y12 intraveineux qui a une action rapide et subit une hydrolyse rapide qui se traduit par une demi-vie de 3 à 6 minutes (Tableau 1) [222]. Le cangrelor possède un créneau clinique unique spécialement conçu pour les patients atteints du SCA qui subissent une intervention ICP et qui n'ont pas reçu d'inhibiteur P2Y12 par voie orale ou lorsque l'utilisation d'un agent oral n'est pas indiquée, y compris les patients en état de choc cardiogénique ou ceux qui n'ont pas d'accès entéral [222].

Le selatogrel est une nouvelle molécule non-thienopyridine qui est administrée par voie sous-cutanée. Les études de phase 1 et 2 ont montré que le médicament a un début d'action rapide, inhibe de façon réversible les récepteurs P2Y12 et présente un profil d'innocuité acceptable [223]. Des essais de phase 3 sont en cours d'élaboration pour évaluer leur incidence sur les résultats cliniques [224].

III.6.3 Implications du polymorphisme génétique (cas du clopidogrel)

Les cytochromes P450 jouent un rôle important dans la pharmacocinétique et Par conséquent l'efficacité clinique du clopidogrel. Des études *in vitro* ont démontré que plusieurs enzymes, dont CYP3A4, CYP2C9, CYP2C19, et CYP2B6, contribuent à la formation du métabolite actif [225] [226]. Le clopidogrel, administré par voie orale, est rapidement absorbé. Il s'agit d'un promédicament absorbé dans l'intestin [227] et activé dans le foie La conversion du clopidogrel en son métabolite actif nécessite deux étapes oxydatives séquentielles impliquant les enzymes du cytochrome P450, notamment CYP1A2, CYP2B6, CYP2C9, CYP2C19 et CYP3A4/5 [228] (figure 18). Le CYP2C19 semble jouer un rôle majeur dans les deux étapes oxydatives, tandis que CYP3A4 contribue à la deuxième étape. Environ 85 % du médicament subit une hydrolyse par des estérases, conduisant à un dérivé acide carboxylique inactif. Le métabolite actif du clopidogrel bloque irréversiblement la liaison de l'ADP au récepteur P2RY12 sur les plaquettes. La réponse au clopidogrel est variable, avec un pourcentage significatif, plusieurs investigations ont mis en évidence qu'entre 20 et 40 % des patients ne présentent pas de réponse au clopidogrel. [225] [226].

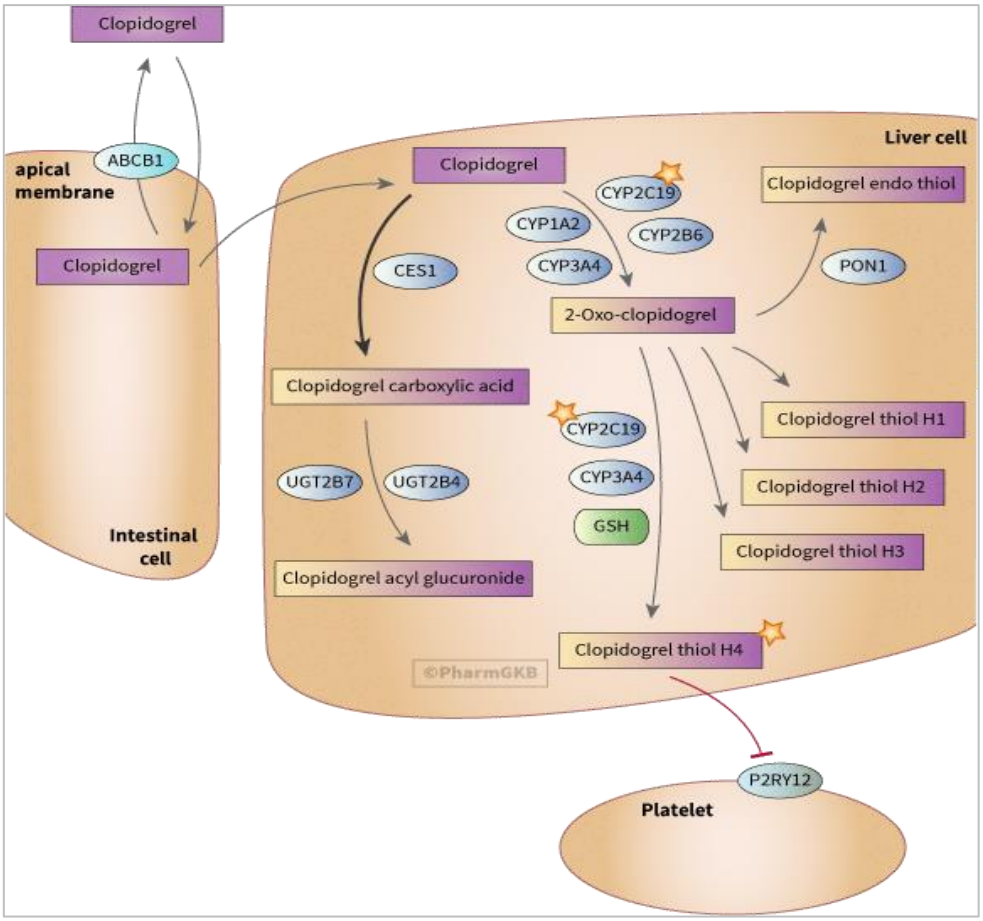


Figure 18: Représentation schématique des protéines impliqués dans le pharmacocinétique du clopidogrel [229].

Le gène ABCB1, également appelé MDR1 (Multi-Drug Resistance 1), code pour la glycoprotéine P (P-gp), une protéine intra-membranaire qui joue un rôle clé dans l'efflux des xénobiotiques et des médicaments, y compris le clopidogrel, dans les cellules intestinales. La variante C3435T (rs1045642), un polymorphisme synonyme situé dans l'exon 26, a été largement étudiée pour son impact sur la fonction et l'expression de la P-gp. [230] [231].

Bien que ce SNP ne change pas la séquence des acides aminés, il est associé à une altération du repliement de l'ARNm, ce qui peut influencer la stabilité de l'ARNm ou son niveau de traduction. Les individus homozygotes pour l'allèle 3435TT présentent des niveaux réduits d'expression de la P-gp dans certaines populations cellulaires, ce qui peut affecter la biodisponibilité et l'absorption intestinale du clopidogrel [232]. Des études ont démontré que la variante 3435T est associée à une absorption variable du clopidogrel chez les patients atteints de maladies cardiovasculaires. Les porteurs de l'allèle 3435T (hétérozygotes CT ou homozygotes TT) pourraient présenter une absorption plus élevée du clopidogrel par rapport aux homozygotes CC, en raison d'une expression réduite de la glycoprotéine P dans l'intestin. Cependant, les résultats restent parfois contradictoires, en raison de l'influence de facteurs

génétiques supplémentaires ou de variations interindividuelles dans l'activité métabolique des cytochromes P450 [231]. La variante C3435T ne fonctionne pas de manière isolée, mais fait partie d'un haplotype plus large comprenant d'autres polymorphismes tels que 1236C>T et 2677G>T/A. Ces polymorphismes, lorsqu'ils sont combinés, influencent de manière synergique l'efficacité de la P-gp et, par conséquent, la pharmacocinétique du clopidogrel. Une étude a montré que les haplotypes contenant l'allèle 3435T étaient associés à une réponse clinique altérée au traitement antiplaquettaire, augmentant ainsi le risque d'événements cardiovasculaires indésirables chez certains patients [233].

Ces données suggèrent que le génotypage de ABCB1 pourrait être intégré dans les stratégies de médecine personnalisée pour optimiser l'utilisation du clopidogrel. Toutefois, des études complémentaires sont nécessaires pour mieux comprendre les mécanismes sous-jacents et valider ces résultats dans des cohortes plus larges et diversifiées [232].

Une étude d'association pangénomique a identifié 13 SNP sur le chromosome 10q24 dans le cluster *CYP2C18-CYP2C19-CYP2C9-CYP2C8*, montrant de fortes preuves d'association avec la réponse au clopidogrel dans une population amish [234].

Des variants génétiques, tels que CYP2C19*2, *3, sont associés à un risque accru d'événements cardiovasculaires chez les porteurs de deux allèles de perte de fonction. La fréquence des allèles *CYP2C19* varie selon la race/les groupes ethniques [235]. L'allèle *CYP2C19**1 est l'allèle le plus commun dans différentes ethnies (58 % chez les Afro-Américains, 62 % chez les Caucasiens et 58 % chez les Asiatiques de l'Est.

La *CYP2C19**2 est plus répandue dans la population de l'Asie de l'Est que chez les Afro-Américains et les Caucasiens (Asiatiques de l'Est 29 %, Afro-Américains 18 %, et Caucasiens 14,6 %), tandis que la *CYP2C19**17 est plus courante dans les populations caucasiennes (Caucasiens 22 %, Afro-Américains 19 %, et Asiatiques de l'Est 1,6 %) [235]. Chez 162 volontaires sains à qui on a administré une dose de clopidogrel, on a déterminé que les patients étaient des MP ou des IM en transportant un ou deux allèles de *LOF CYP2C19*. Comparativement aux patients non atteints de MP ou de MI, l'exposition plasmatique au métabolite actif a diminué de plus de 30 % ($p < 0,001$) et l'agrégation plaquettaire maximale de plus de 20 % ($p < 0,001$) [218].

Dans une analyse de 1 477 patients ayant reçu du clopidogrel dans l'essai TRITON-TIMI 38, les patients *CYP2C19* PM ou IM présentaient un taux d'événements cardiovasculaires indésirables majeurs plus élevé que les autres patients (11,7 contre 8,3 %, $p = 0,04$) [218]. Aucune signification clinique n'a été atteinte chez les patients ayant une perte de fonction des *CYP2C9*, *CYP2B6*, *CYP3A5* ou *CYP1A2*. Sibbing et al., Ont effectué une analyse génétique

sur 2 485 patients prétraités avec du clopidogrel et ont par la suite subi une intervention PCI. Chez les patients ayant au moins une perte de fonction d'un allèle *CYP2C19*, le taux de thrombose d'endoprothèse était significativement plus élevé à 30 jours que chez les autres patients (1,5 c. 0,4 %, p = 0,007) [236]. Le rôle clinique du gain de fonction de allèle CYP2C19*17 est moins défini. Tiroch et al., ont signalé un rôle protecteur de l'allèle du gain de fonction CYP2C19*17, les porteurs de l'allèle présentant un risque moindre d'événements cardiovasculaires majeurs par rapport à d'autres groupes. [237]. Cependant, Lee et al., ont signalé un risque similaire d'événements cardiovasculaires indésirables majeurs entre les porteurs de CYP2C19*17 et les non porteurs [115]. En ce qui concerne le risque de saignement, Sibbing et al., ont signalé une augmentation du risque de saignement chez les porteurs de CYP2C19*17 , tandis que Lee et al., ont signalé un risque de saignement similaire entre les porteurs et les non porteurs [115], [238]. Comparé au clopidogrel, le polymorphisme génétique joue un rôle mineur dans le métabolisme du prasugrel ou du ticagrélor et n'affecte pas leur efficacité clinique. Mega et al., ont comparé la pharmacocinétique et la pharmacodynamique du prasugrel chez 238 volontaires sains chez des porteurs d'allèles *CYP LOF* (*CYP2B6*, *CYP3A4* ou *CYP2C19*) par rapport à d'autres. Il n'y avait pas de différence dans les taux de métabolites actifs ni d'inhibition de l'agrégation plaquettaire entre les deux groupes [218].

Dans une analyse de 1466 patients qui ont reçu du prasugrel dans l'essai TRITON-TIMI 38, il n'y avait aucune différence de risque de d'événements cardiovasculaires indésirables majeurs entre les porteurs des allèles *CYP LOF* par rapport aux autres [218]. Varenhorst et al., Ont effectué des analyses génétiques sur des patients ayant reçu du ticagrélor dans l'essai PLATO. Trois allèles génétiques (*CYP3A4*, *UGT2B7* et *SLCO1B1*) ont été identifiés et ont affecté la pharmacocinétique du ticagrélor, mais ce changement n'avait aucune importance clinique, car les d'événements cardiovasculaires indésirables majeurs étaient semblables entre les porteurs et les non porteurs de ces allèles [239]. Les données sur le rôle du polymorphisme du *CYP* dans le métabolisme de la ticlopidine sont limitées, car le médicament a été retiré du marché en raison de son profil d'effets secondaires importants, y compris la neutropénie, comparativement aux nouveaux agents disponibles [240].

IV. Approches génétiques du syndrome coronarien aigu

Le syndrome coronarien aigu représente l'exemple idéal de la maladie complexe ou multifactorielle. Contrairement aux maladies monogéniques (par exemple, l'hémophilie ou la

mucoviscidose), les maladies complexes ne sont pas causées par un défaut d'un gène unique, mais par des combinaisons variables d'interactions gène-gène et gène-environnement [241].

Alors que les maladies monogéniques sont considérées comme rares et déterministes, un caractère complexe tel que la maladie coronarienne est commun et probabiliste dans sa détermination phénotypique. En effet, les maladies complexes ne suivent pas un schéma clair d'hérédité mendélienne, mais se caractérisent par l'absence de Co-ségrégation parfaite entre l'allèle à risque et la manifestation phénotypique et par une prévalence élevée dans la population [241]. Ainsi, dans un trait complexe, la présence d'un allèle à risque n'est ni nécessaire ni suffisante pour causer le phénotype et, par conséquent, l'établissement de la causalité est particulièrement exigeant [242]. En conséquence, les études génétiques sur les maladies multifactorielles ont été difficiles à réaliser.

IV.1 Analyse des liaisons génétiques

L'histoire de la recherche génétique sur la coronaropathie a commencé par l'analyse de familles ayant souffert d'un infarctus précoce. Dans l'analyse familiale, on a principalement utilisé la méthode appelée analyse de liaison, qui suppose que la maladie est causée par une mutation génétique unique à haute pénétrance et qu'elle est transmise de génération en génération selon les lois mendéliennes. Les maladies présentant cette caractéristique sont également appelées maladies monogéniques, mais cette forme d'hérédité n'a pas été observée chez de nombreux patients atteints de coronaropathie artérielle et n'explique qu'une partie des facteurs génétiques. Cependant, l'analyse familiale de la maladie a été un outil très efficace non seulement pour élucider la pathogenèse de la maladie, mais aussi pour la découverte de médicaments, car elle nous a permis d'observer un phénotype clair conduisant au développement de la maladie et d'identifier les gènes responsables. L'un des premiers rapports de ce type d'analyse familiale concernait un patient atteint d'hypercholestérolémie familiale (HF) qui présentait un infarctus du myocarde à apparition précoce ainsi que des taux de cholestérol anormalement élevés et un xanthome. La découverte de telles familles présentant une mutation du gène *LDLR* a conduit à l'identification ultérieure de gènes associés à l'HF [243], notamment *APOB*, *PCSK9*, *LDLRAP1*, *ABCG5* et *ABCG8* (Figure 19).

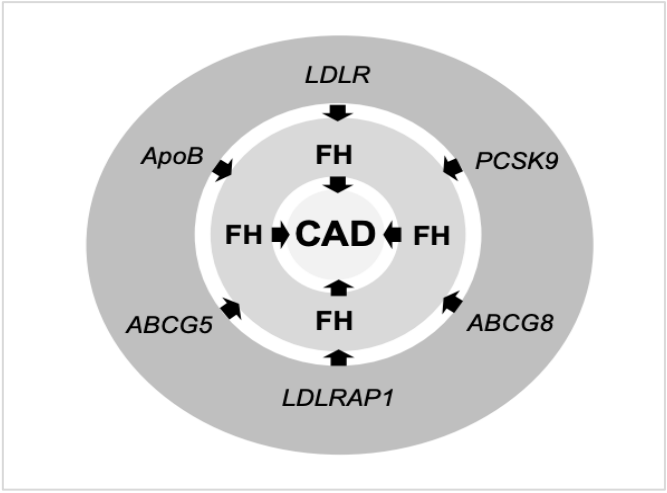


Figure 19 : Marqueurs génétiques de l'HF et par conséquent des maladies coronariennes artérielles.

ABCG5-ATP binding cassette sub-family G member 5 (ou ABCG8) ; ApoB-Apolipoprotéine B ; CAD-coronary artery disease; FH - hypercholestérolémie familiale ; LDLR - récepteur des lipoprotéines de basse densité ; LDLRAP1 - protéine adaptatrice 1 du LDLR. adaptor protein 1 ; PCSK9-Proprotein convertase subtilisin/kexin type 9.

Tableau 2 : Aperçu des causes génétiques du phénotype HF [243].

Gène	Protéine	Fonction protéique	Mode de transmission	Effet résultant
LDLR	Low-density lipoprotein receptor	Récepteur de surface cellulaire qui joue un rôle important dans l'homéostasie du cholestérol, en transportant le cholestérol à travers la surface cellulaire.	Autosomique dominante	Diminution de la liaison d'affinité de la protéine LDLR
APOB	Apoliporotein B	Protéine majeure de la particule LDL, ligand du récepteur LDL.	Autosomique dominante	Diminution de la liaison d'affinité de l'APOB au récepteur LDL
PCSK9	Proprotein-convertase subtilisin kexin 9	Protéase qui joue un rôle dans la dégradation des récepteurs LDL.	Autosomique dominante	Dégradation élevée de la protéine du LDLR
STAP1	Signal transducing adaptor protein-1	Inconnue	Autosomique dominante	Inconnue/Association incomplète avec l'hypercholestérolémie
LDLRAP1	Low density lipoprotein receptor adaptor protein 1	Protéine adaptatrice qui interagit avec la queue cytoplasmique du récepteur des LDL, favorisant l'internalisation des particules de LDL.	Autosomique récessive	Dysfonctionnement des récepteurs LDL
LIPA	Lysosomal acid lipase alias cholesterol esters lipase	Hydrolyse des esters de cholestérol ou des triglycérides	Autosomique récessive	Surproduction d'APOB, régulation positive de l'HMGCoA réductase.
ABCG5/ABCG8	Sterolin 1 and 2	Transporteurs nécessaires à la sécrétion du cholestérol dans la bile	Autosomique récessive	Absorption élevée des stérols végétaux
PNPLA5	Patatin-like phospholipase domain containing protein 5	Influence la différenciation des adipocytes, l'hydrolyse des triglycérides.	Autosomique récessive	Possibilité d'une altération de la lipolyse

Des études portées sur des familles ont permis de découvrir de nouveaux variants rares associés à l'HF. Ce fut le cas pour l'identification des gènes *CYP27A1* (cytochrome P450,

sous-famille XXVIIA, polypeptide 1), *LIPA* (lipase A lysosomale), *LIPC* (lipase hépatique), *LIPG* (lipase endothéliale), *CYP7A1* (cytochrome P450 famille 7 sous-famille A membre 1), *PNPLA5* (patatin-like phospholipase domain containing 5) et quelques autres variantes génétiques responsables du phénotype HF dans certaines familles [244] [245] [179] [181] (Tableau 2).

IV.2 Approche gène candidats

Comme la majorité des patients atteints de coronaropathie ne présentent pas une hérédité mendélienne claire, il était nécessaire de procéder à une analyse génétique de ces patients en utilisant une autre méthode. Les études d'association cas-témoins sur les gènes candidats représentent la méthode la plus utilisée et la plus simple pour identifier les gènes de susceptibilité aux maladies coronariennes. Grâce à cette approche, des polymorphismes mononucléotidiques (SNP), dont la fréquence est supérieure à 1 % dans la population générale, sont identifiés dans le gène candidat et génotypés dans un groupe de patients et de témoins. Les fréquences des allèles ou des génotypes des SNP sont ensuite analysées, et une association entre l'allèle/génotype et la maladie est établie si son occurrence chez les cas est statistiquement différente de celle des témoins [7] [249]. De nombreuses études d'association cas-témoins ont été menées au cours de la dernière décennie, et des variantes de nombreux gènes ont été impliquées dans l'augmentation ou la diminution de la susceptibilité aux maladies coronariennes. Cependant, les résultats des différentes études étaient assez contradictoires, comme l'ont montré un certain nombre d'analyses et de méta-analyses récentes [7]. Parmi les résultats les plus convaincants, on trouve celui de l'allèle ε4 de l'apolipoprotéine E, qui pourrait être associé à un risque de maladie coronarienne 1,4 fois plus élevé selon une méta-analyse de Song et ses collègues [250]. Parmi les variants du gène de l'hémostase, seules les mutations G1691A du facteur V à gain de fonction et G20210A de la prothrombine ont été associées à une augmentation modeste du risque [odds ratio (OR) de 1,2-1,3] dans le cadre d'une vaste méta-analyse publiée par Ye et ses collègues [251].

Des progrès importants ont été réalisés dans l'identification des locus chromosomiques liés aux variations génétiques qui confèrent une susceptibilité à la maladie coronarienne, en utilisant des méthodes basées sur les puces à ADN ou le séquençage de l'ARN à haut débit [252], [253]. L'étude GENEQUEST a été la première à appliquer ces nouvelles techniques pour l'étude génétique de la maladie coronarienne [254]. L'étude a analysé la relation entre 72 SNP provenant de 62 gènes candidats et la maladie coronarienne chez 362 sujets (patients ayant au moins un frère ou une sœur affectée (e) par une maladie coronarienne prématurée) et 402 sujets témoins. Parmi tous les SNP étudiés, l'association la plus significative avec

l'infarctus du myocarde prématuré a été trouvée avec trois variants du gène de la thrombospondine (THBS1, THBS2 et THBS4), qui code pour une famille de glycoprotéines considérées comme jouant un rôle de modulateurs des interactions cellule-matrice et de l'angiogenèse. Plusieurs autres études SNP à grande échelle ont décrit d'autres polymorphismes associés aux maladies coronariennes. Yamada et ses collègues ont utilisé une approche en deux étapes pour sélectionner les polymorphismes associés à l'infarctus du myocarde [255]. Ils ont d'abord examiné 112 polymorphismes provenant de 71 gènes candidats chez 909 patients non apparentés, et ont trouvé 19 polymorphismes chez les hommes et 18 chez les femmes associées à l'infarctus du myocarde. Ils ont ensuite confirmé la signification de ces SNP candidats par une étude cas-témoins portant sur 2 819 patients japonais ayant subi un infarctus du myocarde et 2 242 sujets témoins. Grâce à cette approche, ils ont décrit un risque accru d'infarctus du myocarde associé au polymorphisme C1019T dans le gène *Connexin 37* (OR, 1,4) chez les hommes et un polymorphisme 4G-668/5G dans le gène de l'inhibiteur de l'activateur du plasminogène de type 1 (PAI-1) (OR, 1,6) et un polymorphisme 5A-1171/6A dans le gène de la stromelysine-1 (OR, 4,7) chez les femmes. McCarthy et ses collègues ont étendu les résultats initiaux de GENEQUEST en criblant 210 polymorphismes dans 111 gènes candidats chez 418 patients atteints de coronaropathie prématurée [256]. Ils ont trouvé de fortes associations avec les variantes précédemment décrites de *THBS2* (OR, 0,38) et *THBS4* (OR, 2,22) et l'inhibiteur de l'activateur du plasminogène-2 (*PAI2*) (OR, 2,35). Plusieurs autres nouveaux gènes liés à diverses fonctions biochimiques et cellulaires impliquées dans la pathogenèse de la maladie coronarienne ont été identifiés par une étude plus récente, vaste et systématique, sur les gènes candidats [257].

IV.3 Études d'association pangénomique (GWAS)

Tanaka, Ozaki et leurs collègues ont été les premiers au monde à mener une étude d'association pangénomique (GWAS) en utilisant les informations sur environ 90 000 polymorphismes nucléotidiques simples (SNP), puis à identifier un locus de susceptibilité à la maladie [258]. Le SNP identifié dans cette étude se trouvait sur le gène de la lymphotoxine-alpha (LTA) situé dans la région HLA du chromosome 6q21, qui code pour une cytokine pro-inflammatoire. Par la suite, plusieurs SNP liés à l'inflammation ont été identifiés, suggérant fortement que la cascade inflammatoire était très importante dans la pathogenèse de la maladie coronarienne.

Au début, les études d'association pangénomique étaient réalisées à l'échelle de quelques centaines d'individus ou moins, mais avec l'émergence de consortiums de maladies et d'énormes biobanques, la taille des échantillons a rapidement augmenté. Si l'on considère les

articles marquants de la dernière décennie, comme le montre la figure 20, l'étude menée par le consortium CARDIoGRAM en 2011 portait sur environ 90 000 individus [259], l'étude menée par le consortium CARDIoGRAMplusC4D en 2013 portait sur environ 190 000 individus [167], et Nikpay et al., ont réalisé une GWAS en 2015 en utilisant les données de séquençage du génome entier (WGS) du projet 1 000 génomes comme panel de référence pour l'imputation afin de tester environ 10 millions de variants [260]. En 2017, Howson et al., ont englobé environ 250 000 échantillons, tandis que l'étude de Nelson et al., comprenait environ 320 000 échantillons (à l'exclusion des échantillons d'analyse par exome-chip), et l'étude de van et al., en 2018 a augmenté la taille de l'échantillon à environ 400 000 [261], [262], [263].

Cependant, la plupart des échantillons de ces études ont jusqu'à présent été collectés auprès de populations européennes. La spécificité ethnique de l'architecture génétique a déjà été discutée et compte tenu de l'application clinique des résultats des analyses génétiques, chaque groupe ethnique doit avoir ses propres preuves de recherche génétique sur lesquelles s'appuyer. En 2017, Lu et al., ont analysé 47 532 Asiatiques de l'Est pour les niveaux de lipides, qui sont des facteurs de risque héréditaires de la maladie coronarienne, en utilisant des puces à ADN à l’echelle d'exome et ont identifié trois locus de susceptibilité à la maladie [264].

Ils ont ensuite comparé ces résultats avec une étude d'association pangénomique portant sur 28 899 sujets chinois atteints de coronaropathie et à une étude d'association pangénomique portant sur environ 190 000 sujets du consortium CARDIoGRAMplusC4D, et ont découvert que le SNP rs7901016, un variant non codant du gène MCU, abaisse le taux de cholestérol LDL et réduit le risque de coronaropathie. En 2020, un groupe japonais a mené une étude d'association pangénomique en utilisant environ 180 000 Japonais et a identifié huit locus de susceptibilité à la maladie qui n'avaient pas été identifiés dans des études européennes plus importantes, ce qui a démontré l'importance de l'analyse génétique dans les populations non européennes. En outre, ils ont réalisé une méta-analyse avec des données GWAS européennes portant sur un total de 650 000 sujets [265], ce qui constitue la plus grande analyse à l'échelle mondiale à ce jour et ont identifié 35 nouveaux locus de susceptibilité aux maladies. Ainsi, à l'instar des études d'association pangénomique portant sur d'autres maladies, les études génétiques sur la maladie coronarienne ont connu une augmentation rapide de la taille des échantillons et une augmentation rapide concomitante du nombre de locus de susceptibilité à la maladie.

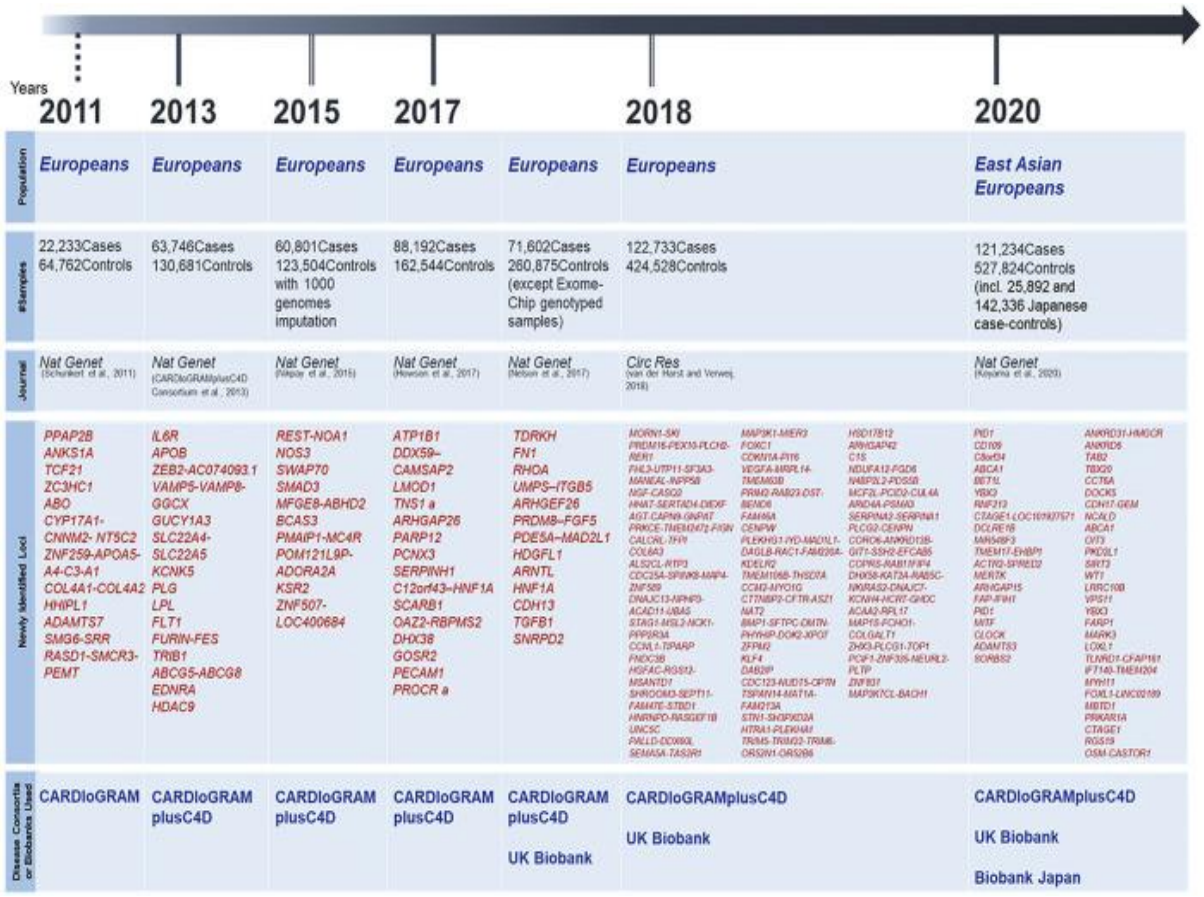


Figure 20 : Résultats des études GWAS et des locus de susceptibilité menés depuis 2010 [266].

IV.4 Séquençage nouvelle génération

Le Séquençage nouvelle génération (NGS) représente une avancée majeure dans le domaine de la génétique et de la biologie moléculaire. Cette technologie permet une analyse simultanée de millions de fragments d'ADN, générant une quantité considérable de données à une vitesse sans précédent. En comparaison avec les méthodes de séquençage traditionnelles, le NGS offre une efficacité accrue, réduisant considérablement les coûts et le temps nécessaires pour obtenir des informations génomiques complètes. En utilisant des plates-formes telles que l'Ion Torrent S5, les chercheurs peuvent explorer les intrications complexes du génome humain, identifier des variants génétiques pertinentes, et comprendre les mécanismes sous-jacents aux maladies génétiques. Cette technologie révolutionnaire ouvre de nouvelles perspectives pour la recherche en génétique, facilitant la découverte de nouvelles associations génétiques et contribuant à une meilleure compréhension des fondements moléculaires des phénomènes biologiques. [267] [268].

Tableau 3: Les plateformes de séquençage NGS actuelles [269].

Platforme	**Préparation de la librairie**	**Principe de séquençage**	**Longueur du read (pb)**	**Efficacité (%)**
Illumina	Amplifications des clusters par PCR de pont sur une flow-cell	Séquençage par interruption réversible cyclique. Détection de la fluorescence	25-250	>99
Thermofisher Ion torrent	PCR en émulsion sur billes	Séquençage par semi-conducteur d'ions. Détection des ions hydrogène libérés durant la polymérisation d'ADN.	35-400	>99
454/Roche	PCR en émulsion sur billes	Pyroséquençage. Détection optique du phosphate libéré suite à l'incorporation d'un nucléotide par la polymérase.	700	>99
Pacific bio-science SMRT	La librairie est composée d'ADN double brin coiffé de boucles en épingles aux deux extrémités.	Séquençage en temps réel d'une seule molécule. Détection des marqueurs fluorescents qui sont clivés lorsqu'un nucléotide simple est incorporé par l'ADN polymérase.	3000	84-85
Oxford nanopore	La librairie est préparée sans amplification	Détection des changements dans le flux ionique lorsque les nucléotides traversent le nanopore	Centaines de kb	96

Le séquençage de nouvelle génération est une approche impartiale, car elle permet d'identifier à la fois des variants rares (avec une fréquence allélique mineure (FAM) de <5%) et des variants courants (avec FAM >5%), ce qui le rend approprié pour l'étude de maladies hétérogènes et complexes telles que la SCA. Cela s'explique par le fait que le NGS peut compléter les variants de susceptibilité couramment établis par les GWAS [270]. Par exemple, dans une étude publiée en 2011, utilisant la plateforme Illumina GA, des données de

séquençage d'une région d'environ 240 kb sur le chromosome 9p21 ont été analysées chez 47 individus non apparentés d'ascendance européenne issus de la population de l'étude HapMap CEU [271]. En comparant les résultats de cette étude de NGS avec les données pilotes du projet 1000 Génomes, les auteurs ont démontré pour la première fois que malgré plusieurs lacunes dans la couverture séquentielle qui existaient après l'alignement sur un génome de référence, le séquençage ciblé par NGS offre une sensibilité élevée pour les variants rares [271].

Dans une autre étude, les chercheurs ont utilisé le WES par NGS pour identifier des variants rares dans le gène codant pour l'adiponectine, qui est associée à des effets importants sur les familles de l'étude sur l'athérosclérose liée à la résistance à l'insuline. Ils ont suggéré que cette approche serait bénéfique pour détecter de nouveaux gènes influençant les caractéristiques complexes dans un large éventail d'études familiales.

IV.5 Score de risque génétique

Le risque génétique identifié par l'analyse génomique est un facteur de risque auquel nous sommes constamment exposés de la naissance à la mort, contrairement au risque lié au mode de vie qui devient apparent après l'âge adulte. Si ces informations peuvent être utilisées pour prédire l'apparition d'une maladie, évaluer sa gravité et intervenir dans le traitement, elles seront d'une grande aide pour parvenir à la médecine de précision. Diverses études/recherches sont actuellement menées activement dans le monde entier à cette fin. Contrairement aux maladies monogéniques, dans lesquelles un seul variant génétique peut être un marqueur définitif pour le diagnostic, la coronaropathie artérielle se développe principalement par l'accumulation de nombreux variants communs avec des effets faibles et une fréquence élevée. Pour prédire le risque génétique d'une telle maladie, il était nécessaire d'intégrer les informations provenant de plusieurs marqueurs génétiques et le score de risque génétique (SRG) a été conçu à cet effet. Le SRG est calculé comme la somme de nombre d'allèles alternatifs multiplié par la quantité d'effet d'un variant sur l'apparition de la maladie, en utilisant comme marqueurs les variantes principales qui répondent au niveau de signification à l'échelle du génome. Récemment, étant donné que l'inclusion d'un plus grand nombre de variants améliore les performances du SRG, un score de risque polygénique (PRS) a été développé, dans lequel des milliers à des dizaines de millions de variants sont inclus.

Un article de référence démontrant l'utilité du SRG dans la coronaropathie artérielle a été rapporté en 2016, qui a examiné le contraste avec le risque lié au mode de vie [272]. Cet article a montré que le risque de développer des événements coronaires chez les premiers 20% du groupe SRG était similaire à celui du groupe de patients ayant un mode de vie

défavorables. L'article a également montré que même avec un SRG élevé, un mode de vie sain était capable de compenser le risque génétique (réduction du risque relatif de 45 %), ce qui indique non seulement l'utilité du SRG, mais aussi qu'une intervention agressive était efficace pour réduire les événements coronaires chez les patients ayant un SRG élevé. Une autre étude plus importante démontrant l'utilité du SRG a été publié en 2018 [273]. Les auteurs ont proposé un nouveau cadre pour améliorer la performance de la SRG, où ils ont montré que le SRG dérivé était meilleur que les facteurs de risque cliniques existants pour prédire l'apparition de la maladie coronarienne et que l'intégration de la SRG et des scores de risque cliniques améliorait encore la performance. Enfin, l'utilité thérapeutique du SRG a été démontrée dans un article [10], où Les auteurs ont suivi les niveaux de cholestérol LDL chez 203 patients à risque intermédiaire de maladie coronarienne ne prenant pas de médicaments hypolipidémiants, répartis en deux groupes : l'un évalué uniquement selon le score de risque clinique et l'autre selon le score de risque clinique en plus du SRG. Après six mois, les taux de cholestérol LDL étaient significativement plus bas dans le groupe ayant reçu les deux évaluations, et une réduction particulièrement marquée des taux de cholestérol LDL a été observée dans le groupe avec un SRG élevé. Bien qu'il ne s'agisse pas d'une étude sur un protocole qui impose une intervention thérapeutique en fonction du SRG, elle illustre comment ces informations peuvent avoir une forte influence sur les décisions thérapeutiques ultérieures.

De nombreuses études réalisées depuis la première mention d'un Score de risque génétique incluent une grande variété de SNP, le nombre de SNP dans un Score de risque génétique varie de 3 à plus de 6 millions. On observe une tendance à l'augmentation du nombre de SNP inclus dans le score de risque génétique au fil du temps.

IV.6 Intérêt de l’analyse génomique dans la prise en charge thérapeutique

L'analyse génomique permet d'identifier les gènes liés à la maladie et les résultats devraient aboutir à des applications thérapeutiques. Les gènes responsables sont déduits des locus de susceptibilité aux maladies, et le repositionnement des médicaments est effectué à l'aide de bases de données d'interactions gènes-médicaments [274]. Cependant, les gènes dérivés de maladies monogéniques, qui fournissent des informations claires sur la pathogenèse de la maladie et les symptômes qui l'accompagnent, sont plus susceptibles d'atteindre le stade clinique, car leur efficacité et leurs effets indésirables sont plus faciles à prévoir lorsqu'ils sont ciblés pour une thérapie comparée aux gènes identifiés par GWAS. Une avancée thérapeutique récente a été réalisée grâce à l’anticorps monoclonal humain contre le gène *PCSK9* identifié dans l'analyse génomique du HF, qui présente un fort effet

hypolipidémiant. Une autre progression thérapeutique a également été réalisé concernant un anticorps ciblant le gène *ANGPTL4*, ce dernier a été identifié chez une famille présentant un faible taux de cholestérol LDL, un faible taux de cholestérol HDL et de triglycérides [275] [276] [277]. Dans le même sens les techniques CRISPR/Cas9 ont récemment fait leur apparition vu les avantages qu'elles offrent en termes de modification plus facile des gènes et amélioration de la sécurité.

CHAPITRE II : POLYMORPHISMES GÉNÉTIQUES DE PRÉDISPOSITION AU Syndrome Coronarien Aigu

CHAPITRE II : Polymorphismes génétiques de prédisposition au syndrome coronarien aigu

I. Introduction

Les affections cardiovasculaires occupent une position significative en ce qui concerne leurs impacts négatifs sur la durée de vie et le taux de mortalité à l'échelle mondiale. Le concept de facteurs de risque est généralement reconnu sur la base des résultats des études épidémiologiques ; selon ce concept, la prévalence élevée des maladies cardiovasculaires est due au mode de vie et aux facteurs de risque qui y sont associés. Parmi ces facteurs de risque on note les facteurs conventionnels (tabagisme, hypertension artérielle, dyslipidémie, diabète sucré et obésité) et non conventionnels, y compris des facteurs de risque psychosociaux (stress, anxiété et dépression, …)

Plusieurs gènes sont associés à des facteurs de risque tels que l'hypertension artérielle, le taux de cholestérol, la coagulation sanguine, et d'autres processus biologiques liés au système cardiovasculaire. Les variations génétiques dans ces gènes peuvent moduler la manière dont ces processus fonctionnent dans le corps. Il a été également démontré que les modifications structurelles de l'ADN influencent indépendamment la mortalité globale due aux événements cardiovasculaires et à l'infarctus du myocarde [278] [279].

Le calcul du score de risque génétique pour les maladies cardiovasculaires (MCV) peut donc apporter une dimension supplémentaire à l'évaluation du risque global d'une personne, en plus des facteurs de risque classiques. Ce score de risque prend en compte les variations génétiques qui peuvent contribuer au risque individuel.

Lorsqu'un SRG est créé, il est important de prendre en compte l'ethnicité des patients inclus dans l'étude [272] [273]. Le même SRG montre une association avec des événements cardiovasculaires dans une population et ne le fait pas dans une autre [272]. Le score de risque polygénique développé pour la maladie coronarienne est connu pour son efficacité dans la classification des patients atteints de maladie coronarienne et dans la prédiction des événements ultérieurs. Cependant, le SRG a été développé principalement sur la base de l'analyse des génomes caucasiens et n'a pas été validé pour les Africaines du nord.

Nous avons cherché à évaluer le SRG chez des patients marocains atteints du SCA, pour déterminer si un SRG basé sur les SNP pouvait prédire les événements cardiovasculaires, et pouvait donc améliorer la stratification du risque. Nous avons analysé dans ce sens les SNP les plus couramment associés aux maladies cardiaques, en particulier à la coronaropathie.

II. Matériels et méthodes

II.1 Définition de la population étudiée

Il s'agit d'une étude prospective s'étendant sur une période de 12 mois. La population sous investigation est composée de patients issus du service de cardiologie des CHU de Fès et de Tanger.

Le recrutement des participants a été réalisé sur une période de 10 mois dans les services de cardiologie des CHU Hassan II de Fès et de Tanger.

II.1.1 Critères d'inclusion

- Patients diagnostiqués pour la première fois d'un Syndrome coronarien aigu, présentant un NSTEMI ou STEMI.
- Patients âgés plus de 18 ans.

II.1.2 Critères d'exclusion

- Patients incapables de consentir ou ayant refusé de participer à l'étude.
- Patients dont le dossier clinique est incomplet.

II.1.3 Collecte des données et méthodes d'échantillonnage

Les données recueillies ont été extraites de la base des données informatisée des deux CHU et du dossier médical des services de cardiologie des deux centres. Ces données comportent les renseignements épidémiologiques, caractéristiques démographiques, cliniques, paracliniques thérapeutiques, et les données sur l'évolution hospitalière. Ces caractéristiques ont été définies dans l'Annexe 1.

II.1.4 Population témoin

Nous avons choisi une population témoin avec absence d'ATCD personnels ou familiaux de SCA, absence de facteurs de risque cardiovasculaires majeurs et appariés à notre population d'étude en termes de caractéristiques démographiques.

II.2 Étude des polymorphismes génétiques

II.2.1 Polymorphismes étudiés et design du Panel Hotspot

Pour concevoir un Score de risque génétique unifié, on s'est basé sur plusieurs études réalisées ces 20 dernières années et portant sur l'association des Score de risque génétique avec les MCV, c'est-à-dire les coronaropathies, les infarctus du myocarde et/ou les accidents vasculaires cérébraux, et nous avons identifié les SNP les plus fréquemment associés aux maladies cardiaques, en particulier aux coronaropathies.

Le tableau 4 Contient 47 SNP. Parmi eux, on trouve des gènes associés aux maladies cardiovasculaires (*CDKN2B-AS1*), aux maladies coronariennes et à l'infarctus (*PHACTR1*), ainsi que des gènes associés au métabolisme des lipides *(LPA, LPL et APOC1*), à la

myogenèse (*VAMP5*), à la réponse immunitaire (*IL6R*) et à l'angiogenèse (le récepteur du VEGF). Le tableau 4 présente à la fois des variants à faible prévalence (fréquence de l'allèle mineur (MAF) = 0,02 (G) pour rs10455872) et des variants répandus avec MAF > 0,3, qui représentent 30 % des SNP inclus dans le tableau. La majorité des variants répertoriés dans le tableau 4 sont situés dans des introns.

En outre, le tableau 4 contient 25 SNP qui sont le plus fortement associés aux maladies coronariennes selon les études d'association pangénomiques et qui, selon Beaney K. et al., devraient être inclus dans tous les Score de risque génétique [9] [280].

Le design du panel AmpliSeq personnalisé a été réalisée par Ion AmpliSeq™ Designer (https://www.ampliseq.com, ThermoFisher Scientific). La conception a permis l'analyse de 47 SNP sur 10 autosomes. Dans l'ensemble, la taille de l'amplicon variait de 125 bp à 275 pb (figure 21).

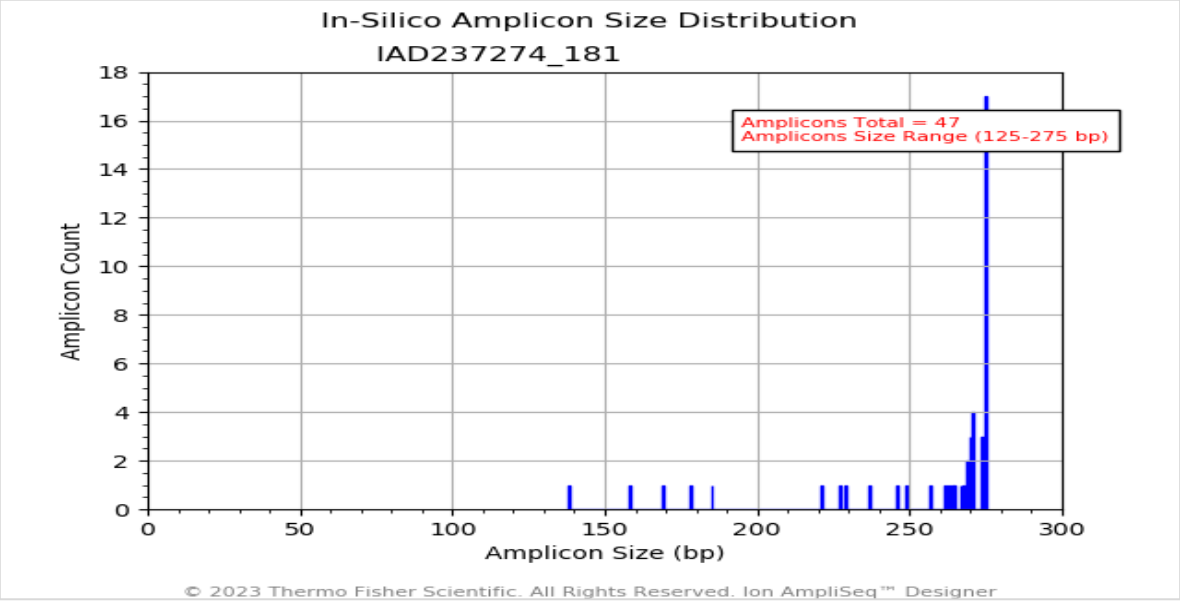


Figure 21 : Histogramme de taille des amplicons in-Silico du Panel Hotspot

Tableau 4: Polymorphismes mononucléotidiques (SNP) associés aux maladies cardiovasculaires (MCV) selon les données de recherche de 2005 à 2020 [280].

SNV	Chromosome (GRCh38)	Gene	Position dans le gène	Allèle a risque	MAF
rs646776	1:109275908	*CELSR2*	500 pb en aval du TSS	T	0.24 (C)
rs602633 [a]	1:109278889	-	-	G	0.35 (T)
rs4845625	1:154449591	*IL6R*	Intron	T	0.44 (T)
rs4846525 [a]	1:216547016	*ESRRG*	Intron	-	0.26 (T)
rs17464857 [a]	1:222589367	*TAF1A, TAF1A-AS1*	*TAF1A* : intron, *TAF1A-AS1* : 2 kbp amont	C/T	0.08 (G)
rs17465637	1:222650187	*MIA3*	Intron	C	0.50 (A)
rs11206510 [a]	1:55030366	-	-	A/C	0.10 (C)
rs17114036 [a]	1:56497149	*PLPP3*	Intron	A	0.09 (G)

SNV	Chromosome (GRCh38)	Gene	Position dans le gène	Allèle a risque	MAF
rs2252641	2:145043894	*TEX41*	Intron	C	0.31 (T)
rs6725887	2:202881162	*WDR12*	Intron	C/T	0.05 (C)
rs515135	2:21063185	-	-	C/T	0.25 (T)
rs1561198 [a]	2:85582866	*VAMP5*	2 kbp en amont	T	0.49 (T)
rs9818870	3:138403280	*MRAS*	3·UTR	T	0.09 (T)
rs7692387 [a]	4:155714157	*GUCY1A1*	Intron	G	0.16 (A)
rs273909	5:132331660	*SLC22A4, MIR3936HG*	*MIR3936HG* : intron, *SLC22A4* : intron	G	0.09 (G)
rs9369640 [a]	6:12901209	*PHACTR1*	Intron	A	0.36 (C)
rs12526453	6:12927312	*PHACTR1*	Intron	C/A	0.17 (G)
rs12190287	6:133893387	*TCF21*	3·UTR	C	0.34 (G)
rs2048327	6:160442500	*SLC22A3*	Intron	A/C	0.29 (C)
rs3798220	6:160540105	*LPA*	Mutation faux-sens	C	0.05 (C)
rs10455872	6:160589086	*LPA*	Intron	G	0.02 (G)
rs4252120 [a]	6:160722576	*PLG*	Intron	T	0.14 (C)
rs12205331 [a]	6:34930678	*ANKS1A*	Intron	C	0.08 (T)
rs10947789	6:39207146	*KCNK5*	Intron	T	0.17 (C)
rs11556924 [a]	7:130023656	*ZC3HC1*	Mutation faux-sens	C	0.16 (T)
rs2954029 [a]	8:125478730	-	-	A	0.41 (T)
rs264 [a]	8:19955669	*LPL*	Intron	G	0.16 (A)
rs3217992 [a]	9:22003224	*CDKN2B, CDKN2B-AS1*	*CDKN2B-AS1* : intron, *CDKN2B* : 3·UTR	T	0.35 (T)
rs1333049 [a]	9:22125504	*CDKN2B-AS1*	Intron	C	0.42 (C)
rs12413409 [a]	10:102959339	*CNNM2*	Intron	G	0.16 (A)
rs501120 [a]	10:44258419	-	-	T/C	0.33 (C)
rs1746048	10:44280376	-	-	C	0.34 (T)
rs964184	11:116778201	*ZPR1*	3·UTR	G	0.22 (G)
rs3184504 [a]	12:111446804	*SH2B3*	Mutation faux-sens	T/C	0.15 (T)
rs4773144 [a]	13:110308365	*COL4A1, COL4A2*	*COL4A2* : intron, *COL4A1* : 2 kbp amont	G	0.40 (G)
rs9515203 [a]	13:110397276	*COL4A2*	Intron	T	0.22 (C)
rs9319428 [a]	13:28399484	*FLT1*	Intron	A	0.33 (A)
rs2895811	14:99667605	*HHIPL1*	Intron	C	0.32 (C)
rs7173743 [a]	15:78849442	*MORF4L1*	Intron	T	0.47 (C)
rs12936587 [a]	17:17640408	-		G	0.27 (A)
rs1122608 [a]	19:11052925	*SMARCA4*	Intron	G	0.14 (T)
rs445925 [a]	19:44912383	*APOC1*	2 kbp en amont	G	0.15 (A)
rs9982601	21:34226827	-	-	T/C	0.11 (T)

SNV : variante mon nucléotidique. * Ces allèles de risque peuvent différer d'une étude à l'autre (ou être absents). a Ces SNP figurent parmi les 25 principaux loci de risque de coronaropathie selon les données de l'étude d'association pangénomique

II.3 Séquençage par panel SNP ciblé sur la plateforme Ion Torrent S5 - ion Chef

II.3.1 Principe séquençage Ion Torrent

Le séquençage à semi-conducteurs, initialement décrit en 2011 par Rothberg et al., et actuellement commercialisé par Thermo Fisher Scientific sous le nom Ion Torrent, cette

méthode repose sur une technologie innovante utilisant une puce semi-conductrice dotée de puits microscopiques à sa surface (figure 22, a). Le principe fondamental est base sur la détection des protons libérés lors de l'incorporation de nucléotides au cours de la synthèse de l'ADN. Lorsque les nucléotides sont incorporés par une ADN polymérase, les protons sont libérés, créant un signal détectable par un capteur de pH (figure 22, b). Les variations de pH générées sont directement proportionnelles à la séquence nucléotidique, permettant ainsi une lecture de la séquence en temps réel [281].

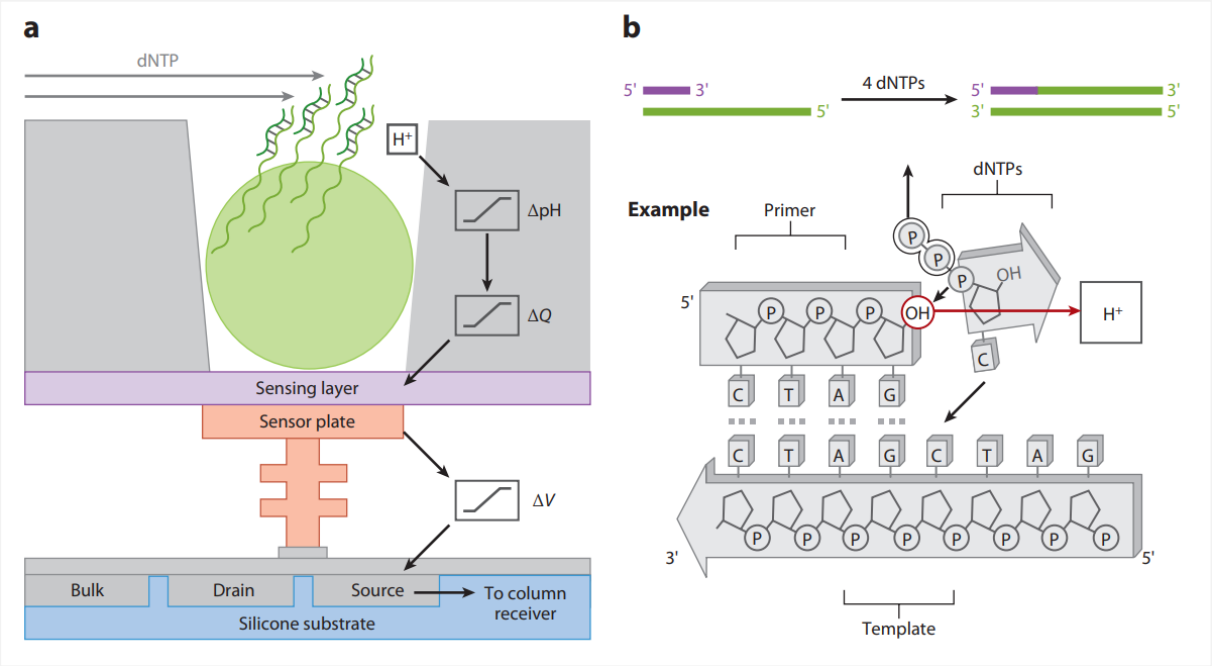


Figure 22: Principe de détection de l'incorporation nucléotidique via les variations de pH dans la puce à ions Ion Torren,
(a) Structure de la puce à ions Ion Torrent utilisée pour le séquençage basé sur le pH. (b) Détection de l'incorporation des nucléotides en fonction du pH *[282]*.

Le séquençage par Ion Torrent repose sur une série d'étapes bien définies, depuis la préparation de la librairie jusqu'à la détermination de la séquence d'ADN. Dans cette méthodologie, les étapes clés incluent [283] [282] [284] :

- Préparation de la librairie : Cette étape consiste à générer des fragments d'ADN à séquencer. Les méthodes de fabrication de fragments basées sur la PCR sont privilégiées pour leur aptitude à cibler sélectivement des loci spécifiques et à produire des quantités considérables d'ADN à partir de petites quantités de matériau.
- Ligation des séquences adaptatrices : Des séquences adaptatrices sont liées aux extrémités des fragments générés par PCR. Les adaptateurs, incluant des codes-barres pour la multiplexité, sont attachés par liaison enzymatique. Comme ces adaptateurs sont à

extrémité coupée, ils se lient à une extrémité quelconque d'un fragment d'ADN donné. Ainsi, la séquence en question est séquencée dans les deux sens.

- PCR en émulsion et Enrichissement : Les fragments de la librairie sont fixés aux particules de sphères ioniques (ISP) par une PCR en émulsion. L'émulsion crée une multitude de réacteurs individuels pour que, en moyenne, une seule séquence d'ADN soit attachée à un ISP. Après la PCR en émulsion, l'émulsion est brisée et les ISP templés sont isolés. Ces derniers sont ensuite chargés dans une puce semi-conductrice avec l'amorce de séquençage et la polymérase.
- Chargement de la puce et séquençage : Le séquençage se déroule sur une puce semi-conductrice avec des millions de puits de la taille d'un picolitre, chacun accueillant un ISP. Durant la réaction de séquençage, quatre nucléotides non modifiés sont proposés tour à tour sur la puce. Lorsque le bon nucléotide est incorporé dans un puits, les protons dégagés par la chimie de l'incorporation sont détectés par l'instrument et traduits en séquence d'ADN [283] [282] [284].

II.3.2 Protocole expérimental du séquençage par le système Ion Torrent S5 – Ion Chef

La préparation globale des librairies a été effectuée à l'aide d'un système Ion Chef (Thermo Fisher Scientific). Les librairies barcodées ont été générées à partir de 10 ng d'ADN par échantillon en utilisant un kit Ion AmpliSeq™ pour Ion Chef DL8 (DNA to Library, 8 échantillons/run). Ce kit est utilisé pour la préparation automatisée des librairies Ion AmpliSeq™ à l'aide du système Ion Chef™. Chaque kit fournit suffisamment de matériel pour préparer 32 librairies (soit 4 runs d'Ion Chef™).

En tout, 64 échantillons d'ADN ont été utilisés pour préparer les librairies.

La préparation du template-positive *Ion Sphere™ Particles* et le chargement des puces Ion 530 ont été accomplis sur le système Ion Chef™ à l'aide des réactifs fournis dans le kit Ion 510™ & Ion 520™ & Ion 530™ – Chef (Thermo Fisher Scientific). Les puces chargées ont ensuite été séquencées sur le séquenceur Ion S5™.

II.3.2.1 Préparation de la librairie Ion AmpliSeq™ sur le système Ion Chef™

Le Workflow suivant résume la préparation des librairies Ion AmpliSeq™ d'ADN à l'aide du kit Ion AmpliSeq™ pour Chef DL8 et du système Ion Chef™

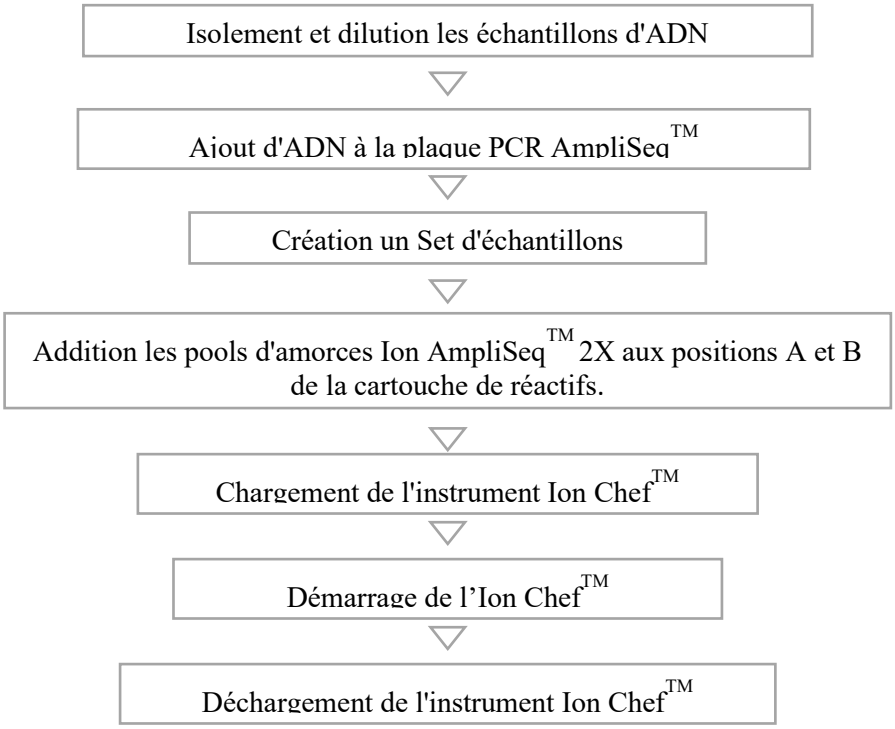


Figure 23: Workflow de préparation des librairies Ion AmpliSeq d'ADN sur système Ion Chef

A. Purification de l'ADN

L'extraction de l'ADN a été réalisée à partir de sang total en utilisant le *QIAamp DNA Mini Kit,* une méthode rapide et simple pour la purification de l'ADN génomique. Cette technique est effectuée en trois étapes permettant d'isoler l'ADN génomique à partir de 200 µL de sang total :

- **Étape de lyse**
  - Un volume de 20 µL de protéase QIAGEN est pipeté dans un tube de 1,5 mL.
  - Un volume de 200 µL d'échantillon sanguin est ajouté au tube.
  - Un volume de 200 µL de tampon AL est ajouté, et le mélange est homogénéisé par vortex pendant 15 secondes.
  - Le tube est ensuite incubé à 56 °C pendant 10 minutes.
- **Étape de purification**
  - Un volume de 200 µL d'éthanol (96-100 %) est ajouté au tube, suivi d'un mélange par vortex pendant 15 secondes.
  - L'ensemble du mélange est transféré dans une colonne QIAamp Mini spin.
  - Une centrifugation est effectuée à 6000 g (8000 rpm) pendant 1 minute. La mini-colonne est placée dans un nouveau tube collecteur de 2 mL, et le tube contenant le filtrat est jeté.

- Un volume de 500 µL de tampon AW1 est ajouté dans la mini-colonne, suivi d'une centrifugation à 8000 rpm pendant 1 minute. Le filtrat est jeté, et la mini-colonne est replacée dans un nouveau tube collecteur.
- Un volume de 500 µL de tampon AW2 est ajouté, suivi d'une centrifugation à 8000 rpm pendant 5 minutes. Le filtrat est jeté, et la colonne est replacée dans le même tube collecteur. Une centrifugation supplémentaire à 8000 rpm pendant 1 minute est effectuée, puis le tube collecteur est éliminé.

◆ **Élution de l'ADN**

- La mini-colonne est placée dans un tube Eppendorf stérile de 1,5 mL.
- Un volume de 200 µL de tampon AE est ajouté à la mini-colonne, suivi d'une incubation à température ambiante pendant 1 à 5 minutes.
- Une centrifugation est réalisée à 8000 rpm pendant 1 minute.
- Le tube Eppendorf contenant l'ADN est conservé à +4 °C si l'échantillon est utilisé dans les jours qui suivent l'extraction, ou à -20 °C pour toute utilisation ultérieure.

B. Préparation des échantillons d'ADN

L'ADN a été mis en suspension dans 50 µL d'eau. La quantité et la qualité de l'ADN ont été évaluées à l'aide du photomètre Qubit (Life Technologies) et du kit de dosage Qubit dsDNA HS (High Sensitivity). Les concentrations d'ADN sont représentées dans l'annexe 2.

- Les échantillons d'ADN ont été dilués à 0,67 ng/µl.
- 15 µl de chaque échantillon d'ADN 0,67 ng/µl ont été ajoutés dans la première colonne (A1-H1) de la plaque PCR *IonCode*™ (figure 24).

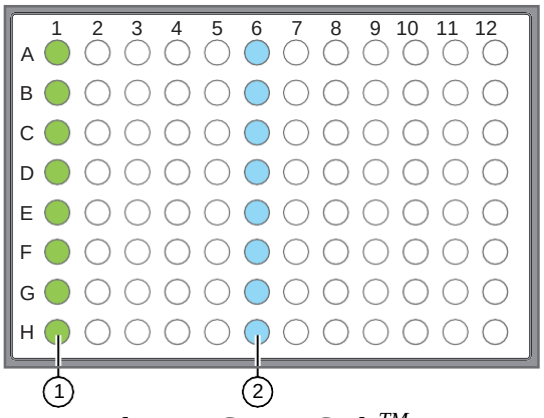


Figure 24 : Plaque PCR *IonCode*™ ;
(1) Chaque puits de la colonne 1 contient 15 µl d'échantillon d'ADNg a 0,67 ng/µl, (2) Chaque puits de la colonne 6 contient un code-barres IonCode™. Le numéro de code-barres le plus bas se trouve en A6 et le numéro de code-barres le plus élevé en H6.

C. Création de l'ensemble d'échantillons (*Sample Set*)

- Un ensemble d'échantillons a été créé dans le Torrent Suite™ Software (TSS) en important un fichier CSV (annexe 3) contenant les détails de l'échantillon pour un total de 8 échantillons par run lors de la préparation de la librairie par Ion Chef.
- Les informations requises des échantillons qui ont été remplies dans TSS étaient les suivantes : Nom de l'échantillon, Position de l'échantillon dans la plaque IonCode 96-well (A1, B1, C1, D1, E1, F1, G1, H1).

D. Chargement et exécution de l'instrument Ion Chef

150 µl du panel d'amorces (IDIAD237274_181) ont été ajoutés dans chaque tube, tube 1 (position A) et le tube 2 (position B) de la cartouche des réactifs Ion AmpliSeq Chef DL8 (figure 25).

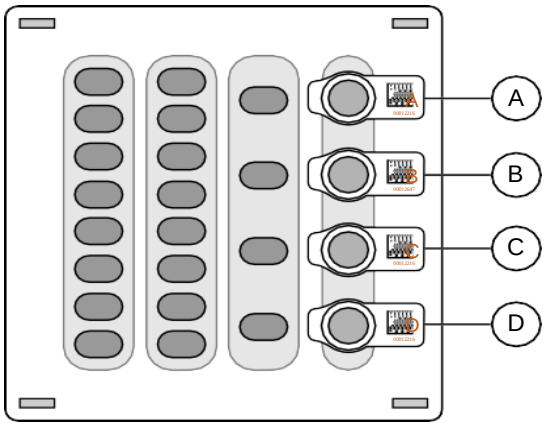


Figure 25: Cartouche Ion AmpliSeq™ Chef Reagents DL8.

Position A (150 µL Primer Pool 1 at 2X concentration)
Position B (150 µL Primer Pool 1 or 2 at 2X concentration)
Position C (Empty tube)
Position D (Output tube)

En suivant le guide d'application *Ion AmpliSeq™ Library Preparation on the Ion Chef™ System User Guide*, tous les réactifs comme les code-barres, les cartouches et les matières plastiques consommables ont été installés dans Ion Chef à l'emplacement qui leur a été attribué (figure 26).

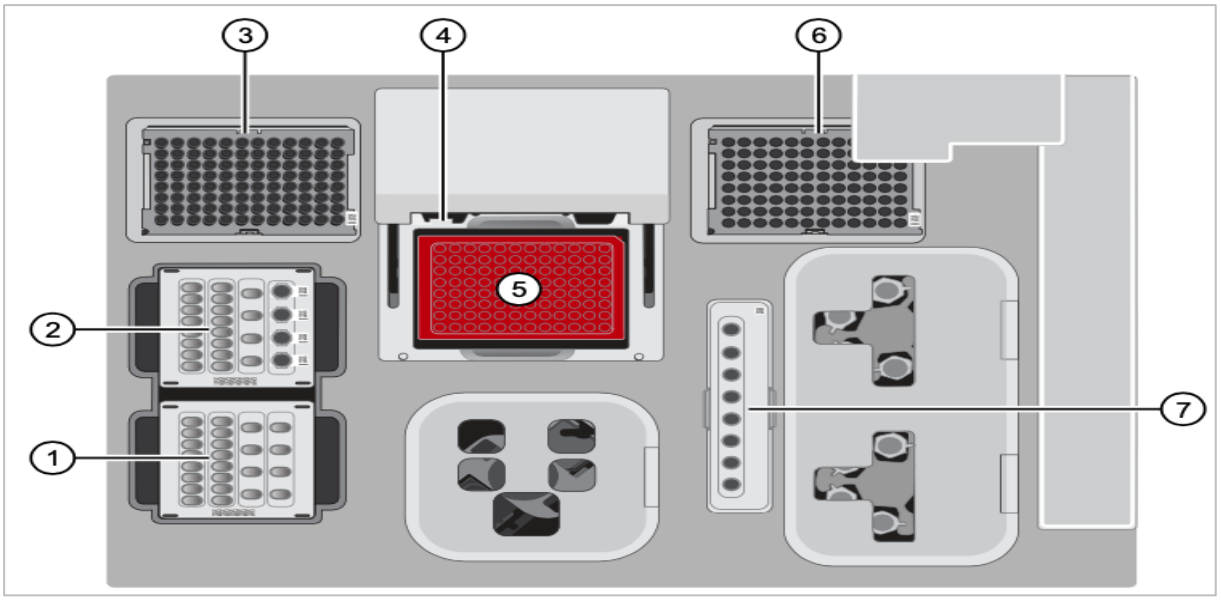


Figure 26: Schéma d'un instrument Ion ChefTM chargé pour préparation des librairies

1 : Ion AmpliSeq™ Chef Solutions DL8 cartridge
2 : Ion AmpliSeq™ Chef Reagents DL8 cartridge
3 : Ion AmpliSeq™ Tip Cartridge L8
4: PCR Frame Seal
5: IonCode™ 96 Well PCR Plate
6: Empty Tip Cartridge L8
7: Enrichment Cartridge

Le nombre de cycles d'amplification et le temps d'extension ont été sélectionnés (Tableau 5). Après avoir sélectionné toutes les options, l'Ion Chef vérifie tous les codes à barres des réactifs et des matériaux en plastique consommables qui avaient été chargés, l'Ion Chef est ensuite démarré avec un temps total d'exécution de 7 heures.

Tableau 5: Données montrant la recommandation du panel pour la préparation automatisée de la librairie avec Ampliseq workflow

Paires d'amorces par pool	Quantité d'ADN d'entrée ADNg ajouté	Nombre de pools d'amorces	Nombre de cycles	Temps de prolongation
47	1 ng (300 copies)	1	21 cycles	4 minutes

E. Déchargement de Ion Chef et dilution des bibliothèques

Une fois le cycle Ion Chef Ampliseq terminé, le tube en position D (tube de sortie) (figure 26) dans la cartouche des réactifs a été retiré, bouché, étiqueté et conservé à -20 °C pour le cycle suivant.

Le tube de sortie contenait la librairie à code-barres regroupées d'une concentration normalise à environ 100 pM.

II.3.2.2 Préparation des Templates sur l'Ion Chef

Les librairies préparées ont été ensuite séquencées sur un séquenceur Ion S5 en utilisant une puce Ion 530 et un kit Ion 510™ & Ion 520™ & Ion 530™–Chef (tous Thermo Fisher Scientific).

Le procédé a débuté avec la préparation des particules Ion Sphere™ à l'aide des réactifs fournis dans le kit Ion 510™ & Ion 520™ & Ion 530™ - Chef.

La préparation des particules Ion Sphere™, le chargement des puces et le séquençage ont été accomplis en suivant les protocoles et en utilisant les réactifs du kit Ion 510™ & Ion 520™ & Ion 530™-Chef.

A. Création du Planned Run

Le run planifié (*Planned Run*) sont des instructions numériques qui sont créées dans le logiciel *Torrent Suite*^{TM} pour contrôler les Templates de préparation et de l'instrument de séquençage. Les runs planifiés contiennent des paramètres tels que le nombre de *flows*, les types de kits, les codes-barres, les informations sur les échantillons et les fichiers de référence. Les runs planifiés sont également utilisés pour suivre les échantillons, les puces et les réactifs tout au long du déroulement des opérations de la préparation des Templates sur l'instrument Ion Chef^{TM} et au séquençage sur un séquenceur Ion S5^{TM} et à l'analyse ultérieure des données.

Le guide Ion 520TM & Ion 530^{TM} ExT Kit – Chef (Numéro de publication : MAN0015805) a été suivi pour la création de l'essai planifié (planned run).

Pour chaque run, les options appropriées ont été sélectionnées dans la liste des kits.

De même, pour chaque panel, les paramètres d'analyse appropriés ont été sélectionnés et les champs requis ont été remplis, y compris le Run Name, Number of Barcodes (nombre total d'échantillons avec code-barres), Sample Tube Label (le tube contenant les librairies regroupées), Chip Barcode, le nom de l'échantillon pour chaque code-barres. Ajouter des figures

Les fichiers "Reference" (Human hg19) et "BED" (IAD237274_181_Designed) appropriés ont été sélectionnés.

Une fois que tous les champs requis ont été remplis, le plan d'exécution a été sauvegardé et répertorié dans la page d'exécution planifiée sur Ion Chef.

Tableau 6: Données indiquant les informations appropriées saisies pour chaque cycle.

Instrument	Ion GeneStudio™ S5 System
Chip Type	Ion 530™
Library Kit Type	Ion AmpliSeq™ Kit for Chef DL8
Template Kit	Ion S5 ExT Sequencing Kit
Templating Size	200
Flows	500

B. Exécution de l'Ion chef

Ion Chef a été mis en marche et la connexion au TSS a été vérifiée. Le Templating a été réalisé à l'aide de deux puces Ion 530™. Tous les réactifs, cartouches et consommables en plastique ont été correctement positionnés dans leurs stations respectives de l'Ion Chef (figure 27). Ceci inclut la cartouche Ion S5^{TM} ExT Chef Reagents, la cartouche Ion S5^{TM} Chef Solutions, une nouvelle cartouche de Tips Ion S5^{TM} ExT Tip, un support de Tips de pipette vide (de l'essai précédent). Une nouvelle plaque PCR a été placée dans le bloc du thermocycleur et un nouveau PCR *Frame seal v2* a été placé sur le couvercle chauffant. La cartouche d'enrichissement v2 et les six tubes de récupération v2 ont été placés dans chaque unité de centrifugation, ces dernières étant ensuite scellées avec deux couvercles en plastique. Un adaptateur pour deux puces a été fixé à chacune des puces Ion. Ces puces ont été positionnées dans la centrifugeuse dédiée au chargement des puces. Le run planifié a été choisie à partir de l'écran tactile de l'Ion Chef et l'instrument a été démarré.

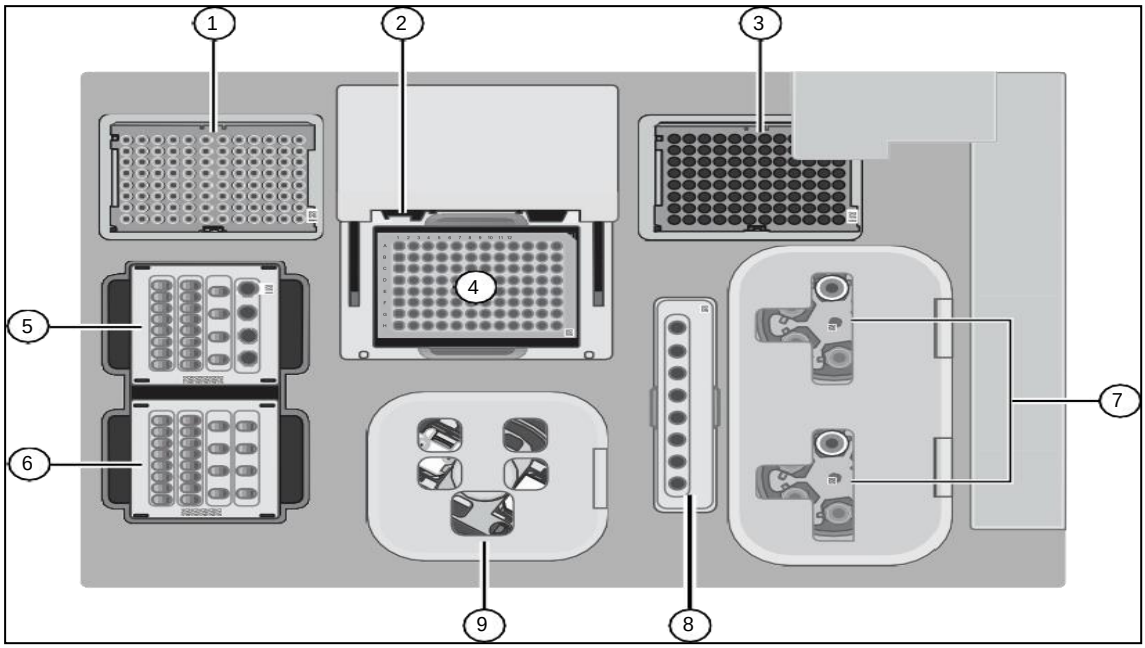


Figure 27: Schéma d'un instrument Ion ChefTM chargé pour préparation des librairies

1: New Ion S5™ ExT Tip Cartridge
2: Frame Seal v2 (inserted)
3: Empty tip rack (move from new Tip cartridge position)
4: PCR Plate
5: Ion S5™ ExT Chef Reagents cartridge
6: Ion S5™ Chef Solutions cartridge
7: Recovery centrifuges: Recovery Tubes and Recovery Station Disposable Lid v2
8: Enrichment Cartridge v2
9: Chip-loading centrifuge: Chip Adapter/Chip assembly and Chip Balance

II.3.2.3 Exécution du séquençage sur Ion GeneStudio™ S5 System

Avant le début des opérations de séquençage, une étape d'initialisation a été effectuée pour garantir la précision et l'efficacité du processus de séquençage. Une fois l'initialisation terminée, la puce chargée a été placée dans le séquenceur, et le séquençage a été lancé avec le run planifié approprié.

II.3.2.4 Analyse des données

Les rapports récapitulatifs des runs pour toutes les puces ont été consultés, ces rapports fournissent des informations sur la qualité du run, telles que la densité des ISP, le résumé du run ISP et la longueur de lecture.

Les données brutes ont été traitées par Ion Torrent Suite™ Server (ThermoFisher Scientific) en utilisant Homo sapiens hg19 comme génome de référence pour l'alignement, un fichier BED cible (Custom-made primer panel. Designed. Bed), pour localiser les régions d'intérêt et un fichier BED hotspot (Custom-made primer panel. Hotspot. Bed) pour spécifier les régions de mutations connues.

Analyse de la couverture des plug-in a été utilisé pour fournir des statistiques et des graphiques décrivant le niveau de couverture de la séquence produite pour les régions ciblées et pour générer un rapport de synthèse des codes-barres, détaillé avec les lectures mappées sur le pourcentage cible, la profondeur moyenne et le pourcentage d'uniformité pour chaque échantillon dans la même série.

Les variants ont été identifiés avec Torrent Variant Caller (ThermoFisher Scientific) et les fichiers de format d'appel de variants (.vcf) résultants ont été analysées dans Ion Reporter™ Software 5.20. Les tableaux des variant ont été analysés à l'aide d'un classeur Excel interne.

II.4 Génotypage de la population témoin

Pour la population témoin le génotypage á été déterminé par la technique TaqMan Genotyping pour les SNP présentés sur le tableau 7.

Tableau 7: polymorphisme détecté par TaqMan Genotyping

dbSNP	Symbole du gène	Gène
rs308395	FGF2	fibroblast growth factor 2
rs35767	IGF1	insulin like growth factor 1
rs2285094	PDGFB	platelet derived growth factor subunit B
rs1800470	TGFB1	transforming growth factor beta 1
rs699947	VEGFA	vascular endothelial growth factor A

II.4.1 Principe de la méthode TaqMan Genotyping

La technique TaqMan Genotyping est une méthode de PCR en temps réel utilisée pour la détection d'allèles spécifiques dans un échantillon d'ADN. La réaction de PCR commence avec les composants de l'essai, comprenant des amorces spécifiques à l'ADN cible et une sonde TaqMan spécifique à chaque allèle. La sonde est marquée avec un colorant fluorescent à une extrémité et un quencher à l'autre extrémité. Tant que la sonde est intacte, la proximité du quencher inhibe la fluorescence du colorant reporter.

Pendant la PCR, l'enzyme ADN polymérase synthétise un nouveau brin d'ADN en s'étendant depuis l'amorce. Lorsque l'enzyme rencontre la sonde hybridée à l'ADN cible, elle possède une activité exonucléase qui clive la sonde. Cette coupure sépare le colorant reporter du quencher, entraînant une augmentation de la fluorescence qui peut être mesurée par l'instrument de PCR en temps réel. La quantité de fluorescence générée est proportionnelle à la quantité d'ADN cible amplifié au cours des cycles de PCR, permettant ainsi la détection et la quantification de l'allèle spécifique présent dans l'échantillon (figure 28) [285].

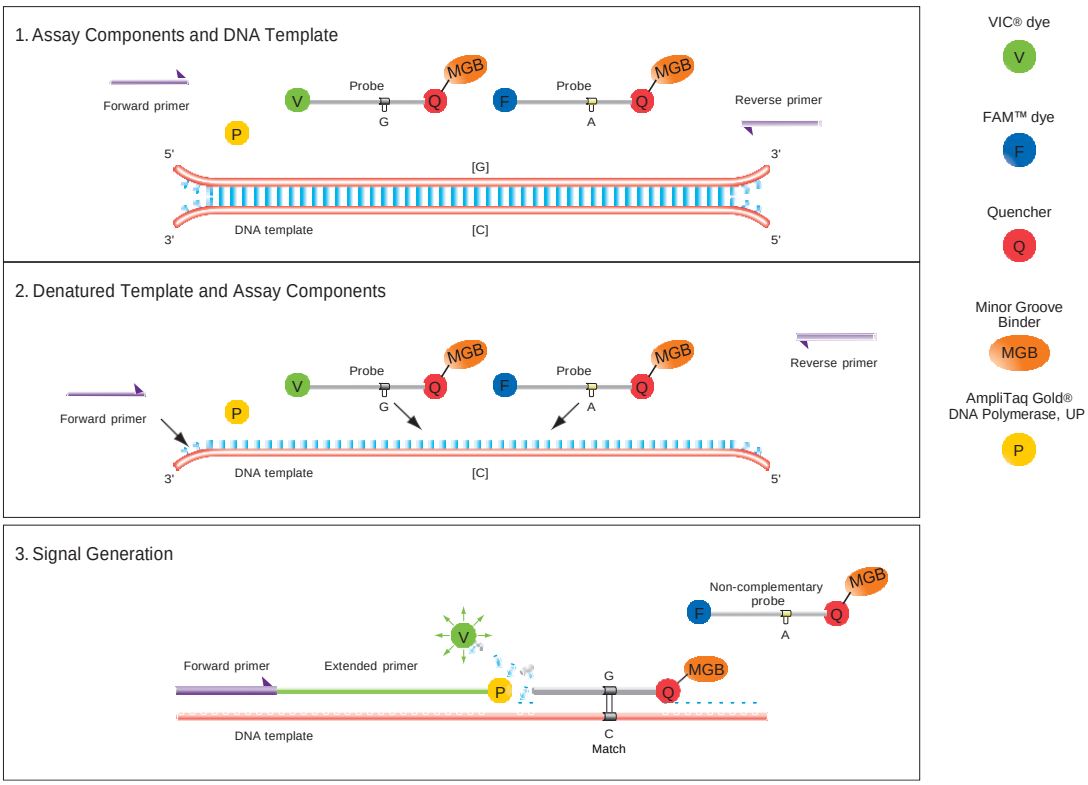


Figure 28: Principe de la technique TaqMan Genotyping [285]

II.4.2 Protocole expérimental

L'extraction de l'ADN a été réalisée à partir du sang total à l'aide du *QIAamp DNA Mini Kit*, conformément aux instructions détaillées du protocole figurant à la page 62.

Chaque échantillon d'ADN a été dilué dans un volume final de 4,5 µl d'eau afin d'obtenir une quantité d'ADN finale de 1 à 20 ng. L'amplification par PCR en temps réel a été réalisée dans le milieu réactionnel indiquée dans le tableau 8.

Tableau 8: Conditions expérimentales utilisés pour PCR en temps réel

Étape	**Volume (µl)**
TaqMan Genotyping Master Mix (2X)	5
TaqMan Assay Mix (20X)	0,5
ADN	4,5
Volume total	10

Les échantillons ont été amplifiés et détectés dans une plaque de réaction MicroAmp Fast 96 puits (Applied Biosystems) sur un système PCR en temps réel (Applied Biosystems QuantStudio™ 1). L'amplification a été réalisée dans les conditions indiquée dans le tableau 9

Tableau 9: Protocole de PCR en temps réel utilisé pour l'amplification et la détection

	Température [°C]	Durée [mm:sec]	Cycles
Lecture pré-PCR	60	00:30	1 x
Dénaturation initiale	95	10:00	1 x
Dénaturation Hybridation	95 60	00:15 01:00	40 x
Lecture post-PCR	60	00:30	1 x

Les fichiers de résultats (.eds) ont été importés sur le Thermo-Fisher Cloud et analysés sur l'application Genotyping qPCR, Applied Biosystems™.

II.4.3 Interprétation des signaux de fluorescence du génotypage TaqMan

L'interprétation des signaux de fluorescence du génotypage TaqMan a été basée sur les tableaux 10 et 11.

Tableau 10: Séquences des sondes oligo-nucléotidiques utilisées pour le génotypage TaqMan

dbSNP	Gène	Génomique Map	Contexte du Séquence [VIC/FAM]
rs308395	FGF2	C____802990_10	CTCTTCTATGGCCTACTTTCTACTG[C/G]TATTTGTGTTACTCATGCTACCCAT
rs35767	IGF1	C____799146_10	GAATTTTTTCTTTTTTTTTTTTTCC[A/G]CATGACTCTCAGGGGACTGACACAT
rs2285094	PDGFB	C__15962706_10	CAACCAATAGAGGGGCCAATAGAAC[T/C]GCCCAGCTGAGCCCAGTCAACCCCC
rs1800470	TGFB1	C__22272997_10	TAGCCACAGCAGCGGTAGCAGCAGC[A/G]GCAGCAGCCGCAGCCCGGAGGGCGG
rs699947	VEGFA	C___8311602_10	GCCAGCTGTAGGCCAGACCCTGGCA[A/C]GATCTGGGTGGATAATCAGACTGAC

Tableau 11: Interprétation des signaux de fluorescence du génotypage TaqMan

Augmentation de la fluorescence	Indication
Fluorescence du VIC dye uniquement	Homozygotie pour l'allèle 1
Fluorescence du 6FAM dye uniquement	Homozygotie pour l'allèle 2
Signaux de fluorescence pour les deux dyes	Hétérozygotie pour l'allèle 1-allèle 2

II.5 Analyse statistique

Afin de déterminer la pertinence de l'association entre les polymorphismes et le syndrome coronarien aigu (SCA), nous avons réalisé une série d'analyses statistiques.

- Équilibre de Hardy-Weinberg : un test d'équilibre de Hardy-Weinberg a été effectué sur les fréquences alléliques et génotypiques des polymorphismes chez les cas et les témoins.
- Tests d'association : La différence des fréquences alléliques et génotypiques entre les cas et les témoins a été évaluée à l'aide du test exact de Fisher. Les odds ratios (OR) et les intervalles de confiance à 95 % (IC) ont été calculés pour estimer la force et la direction de l'association.
- Une régression logistique a été réalisée en utilisant le modèle log-additif. Ajustements pour facteurs confondants : Les modèles multivariés ont été ajustés pour des facteurs potentiels de confusion tels que l'âge, le sexe, et les antécédents familiaux.
- Correction pour tests multiples : Étant donné le nombre d'analyses réalisées, une correction pour les tests multiples a été appliquée pour éviter les erreurs de type I.

Toutes les analyses ont été effectuées à l'aide du logiciel statistique R. Un seuil de significativité de $p < 0,05$ a été utilisé pour toutes les analyses.

III. Résultats

III.1 Caractéristiques démographiques, cliniques et paracliniques des patients :

Dans cette étude, une cohorte de 64 patients a été analysée. Les patients ont été répartis en deux groupes: 23 patients présentant un sus-décalage du segment ST (STEMI) et 41 patients sans sus-décalage du segment ST (NSTEMI), (tableau 12).

Le profil démographique montre un âge moyen global de 61,53 ± 10,37 ans, avec des intervalles respectifs de 62,26 ± 10,38 ans pour le groupe STEMI et de 61,12 ± 10,47 ans pour le groupe NSTEMI. La majorité des cas étaient de sexe masculin (70,3%), avec 73,9% dans le groupe STEMI contre 68,3% dans le groupe NSTEMI (p=0,4).

Concernant les facteurs de risque, 50% de l'ensemble de la population est constitué de fumeurs, ce pourcentage s'élevant à 60,9% chez les patients STEMI et à 43,9% chez les patients NSTEMI (p=0,1). La comorbidité du diabète est présente chez 40,6% des patients, avec une distribution de 26,1% pour STEMI et 48,8% pour NSTEMI (p=0,06). L'hypertension artérielle (HTA) touche 37,5% des cas, avec 43,5% dans le groupe STEMI contre 34,1% dans le groupe NSTEMI (p=0,3).

Les données cliniques indiquent un score GRACE moyen de 143,42 ± 42,53, qui est nettement plus élevé dans le groupe STEMI (165,39 ± 42,861) comparativement au groupe NSTEMI (131,10 ± 37,488, p=0,003).

D'autres paramètres cliniques, tels que l'IMC (26,19 ± 3,97 kg/m^2), la CRP (40,80 ± 74,22), la clairance (76,44 ± 32,26) et la numération plaquettaire (245625 ± 108 10^3/µl), ont été également rapportés, montrant des différences statistiquement non significatives.

Sur le plan thérapeutique, la majorité des patients ont été traités avec de l'exanoparine (95,3%) et statines (98,4%). L'utilisation des IPP varie considérablement entre les groupes, avec 82,6% pour le groupe STEMI et 41,5% pour le groupe NSTEMI (p=0,001).

Tableau 12: Caractéristiques démographiques de la population SCA étudiée

Caractéristiques	Totale n (%)	STEMI (n=23)	NSTEMI (n=41)	P value
Age	61,53 ± 10,37 [30-81]	62,26 ± 10,38	61,12 ± 10,47	0,6
Male n (%)	45 (70,3%)	17 (73,9%)	28 (68,3%)	0,4
Tabagisme n (%)	32 (50%)	14 (60,9%)	18 (43,9%)	0,1
Diabète n (%)	26 (40,6%)	6 (26, 1%)	20 (48,8%)	0,06
HTA n (%)	24 (37,5%)	10 (43,5%)	14 (34,1%)	0,3
STEMI n (%)	23 (35,9%)	---	---	
NSTEMI n (%)	41 (64,1%)	---	---	
Traitement n (%)				
Exanoparine	61 (95,3%)	23 (100%)	38 (92,7%)	0,2
Statine	63 (98,4%)	23 (100%)	40 (97,6%)	0,6
IPP	36 (56,3%)	19 (82,6%)	17 (41,5%)	0,001
IEC	22 (34,4%)	6 (26,1%)	16 (39,0%)	0,2
B-bloqueur	29 (45,3%)	7 (30,4%)	22 (53,7%)	0,06
IMC, kg/m^2	26,19 ± 3,97	26,7565 ± 3,81	25,8741 ± 4	0,3
Score GRACE	143,42 ± 42,53	165,39 ± 42,861	131,10 ± 37,488	0,003
CRP	40,80 ± 74,22	56,630 ± 78,819	31,924 ± 70,958	0,2
Clairance	76,44 ± 32,26	69,105 ± 23,946	80,56 ± 35,726	0,1
Plaquette, $10^3/\mu l$	245625 ± 108	243565 ± 89807	246780 ± 119039	0,9

III.2 Analyse de divers SNPs étudiés :

Nous avons analysé 47 SNP à l'aide d'un panel Ion AmpliSeq personnalisé, en utilisant deux puces Ion 530™ sur la plateforme de séquençage NGS Ion Torrent S5.

Les résumés des essais sont présentés sur les figures 29 et 30, les rapports de séquençage ont indiqué un bon rendement ; 94 % des puits des deux puces étaient remplis par des ISP, c'est quasiment la capacité maximale de charge d'une puce. Plus de 17 mille lectures filtrées ont été obtenues avec la première puce, et plus de 19 mille avec la deuxième. La longueur des lectures filtrées montre une distribution homogène autour de 227 pb". Les deux rapports intégraux sont présentés dans les annexes 4 et 5.

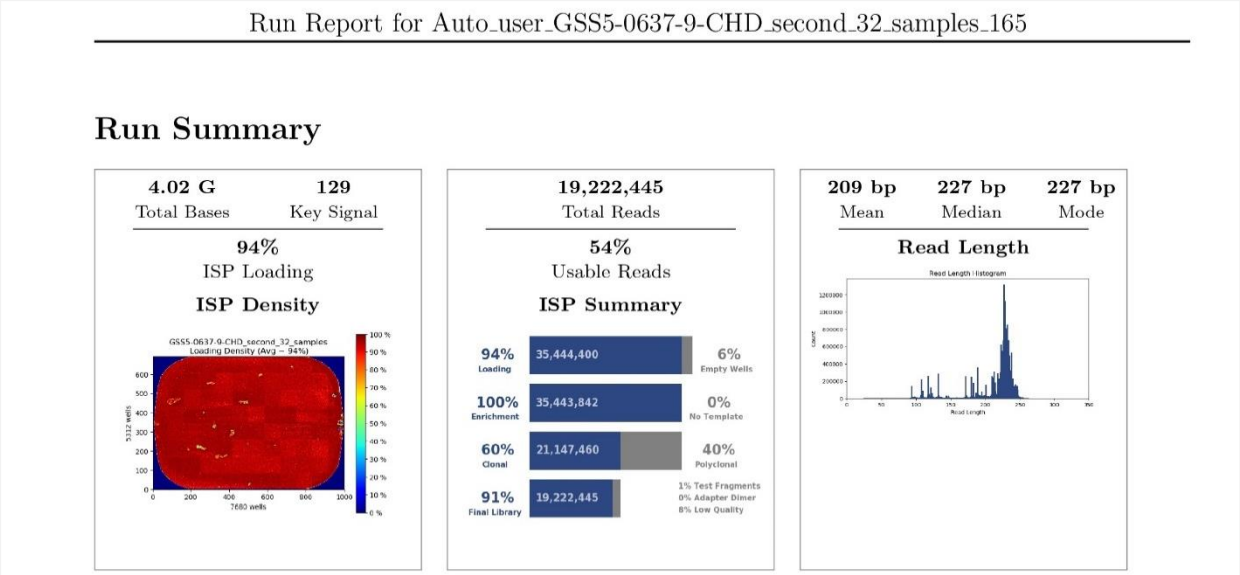


Figure 29: Rapport de séquençage Ion Torrent de la première puce

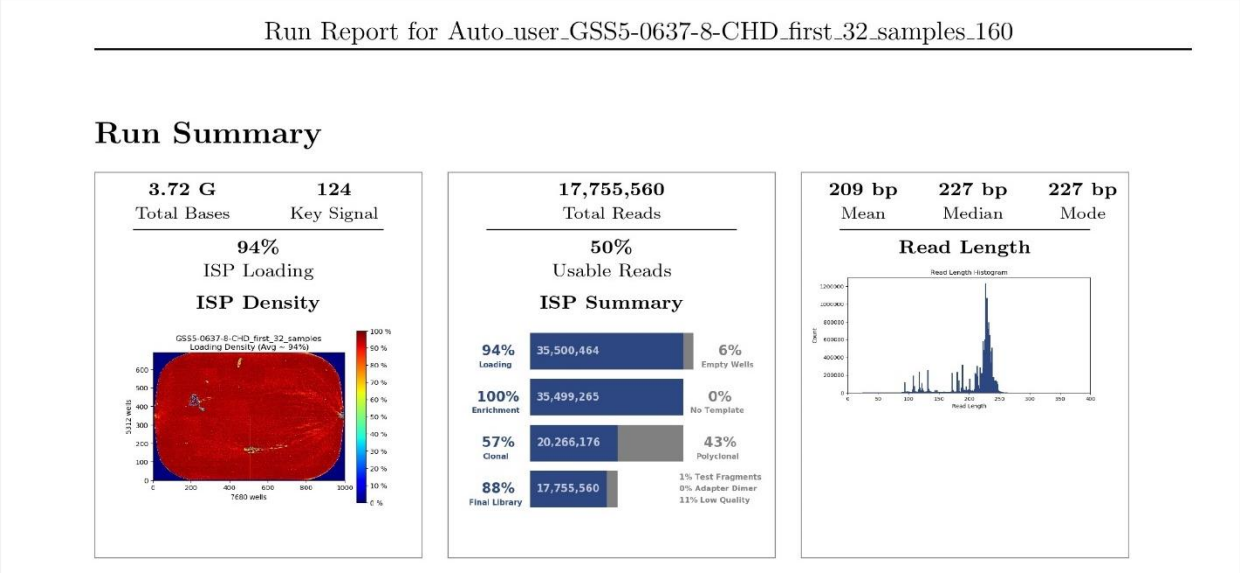


Figure 30: Rapport de séquençage Ion Torrent de la deuxième puce

En parallèle, nous avons déterminé le génotype de 48 sujets sains à l'aide de la technique *TaqMan Genotyping*. Cette technique a permis d'identifier les allèles des SNP suivants avec leurs gènes correspondants : rs308395 (*VEGF-A*), rs35767 (*IGF1*), rs2285094 (*TGF-β1*), rs1800470 (*TGF-β1*) et rs699947 (*VEGF-A*), en utilisant le système de PCR en temps réel Applied Biosystems QuantStudio™ 1. Les résultats obtenus ont été analysés à l'aide de l'application Genotyping d'Applied Biosystems™ sur la plateforme Thermo-Fisher Cloud. Les résultats du génotypage des cinq SNP chez les sujets sains sont résumés sur les figures 31, 32, 33, 34 et 35. Les graphiques représentent la discrimination allélique des génotypes pour les cinq polymorphismes.

Les axes X et Y indiquent respectivement les intensités de fluorescence des sondes spécifiques à l'allèle 1 et à l'allèle 2.

Les points sont répartis en trois clusters distincts, correspondant aux trois génotypes possibles pour chaque SNP :

- Rouge : Homozygotes pour l'allèle 1 (Allèle 1/Allèle 1).
- Vert : Hétérozygotes (Allèle 1/Allèle 2).
- Bleu : Homozygotes pour l'allèle 2 (Allèle 2/Allèle 2).

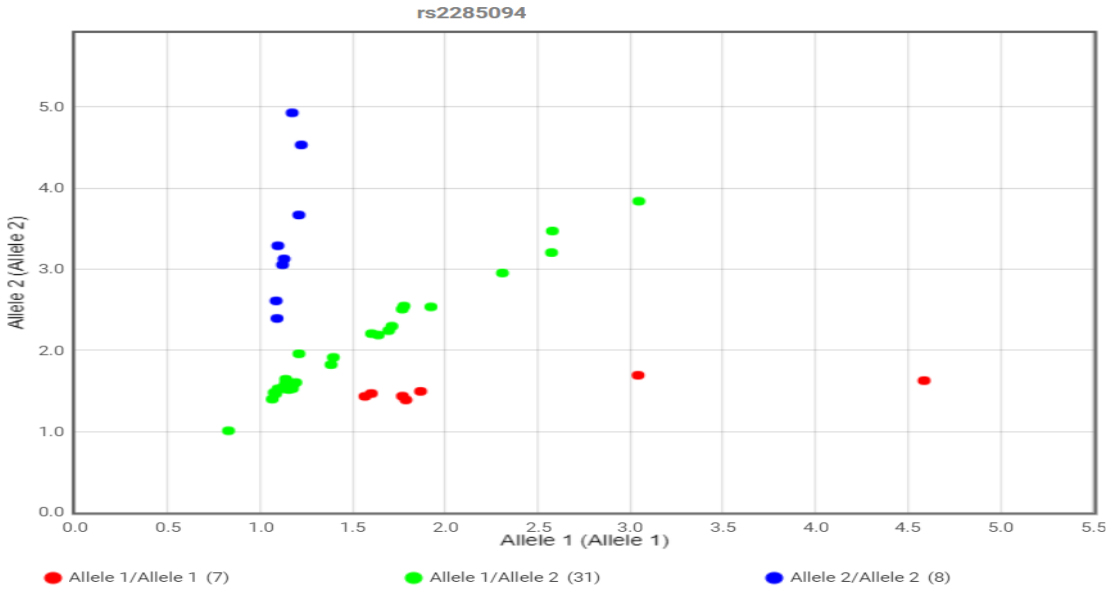


Figure 31: Diagramme de discrimination allélique du SNP rs2285094 du gène *PDGFB*

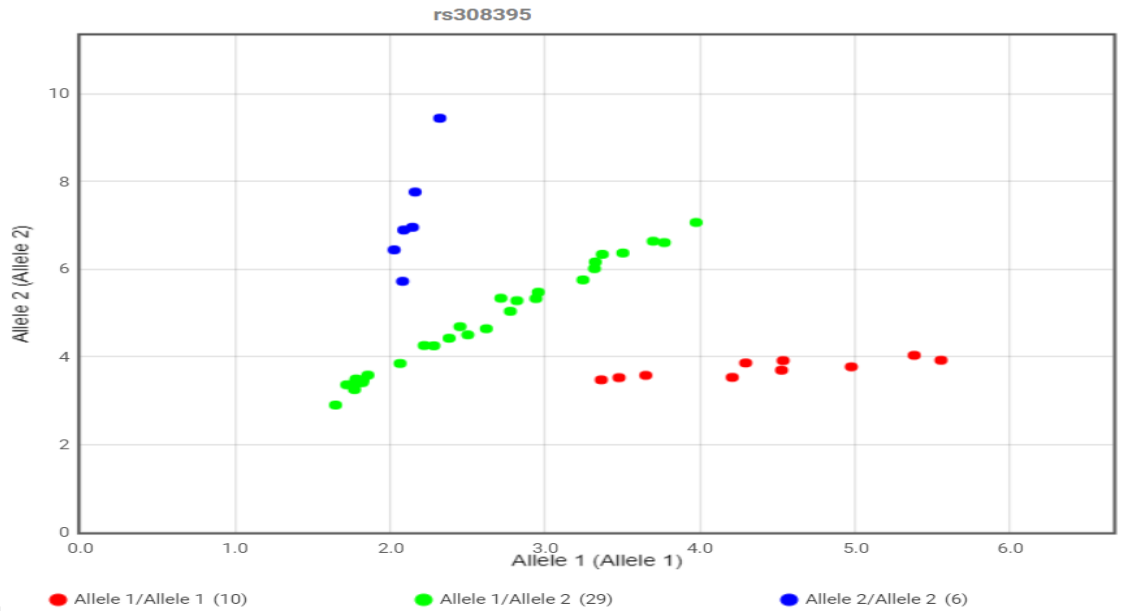


Figure 32: Diagramme de discrimination allélique du SNP rs308395 du gène *FGF2*

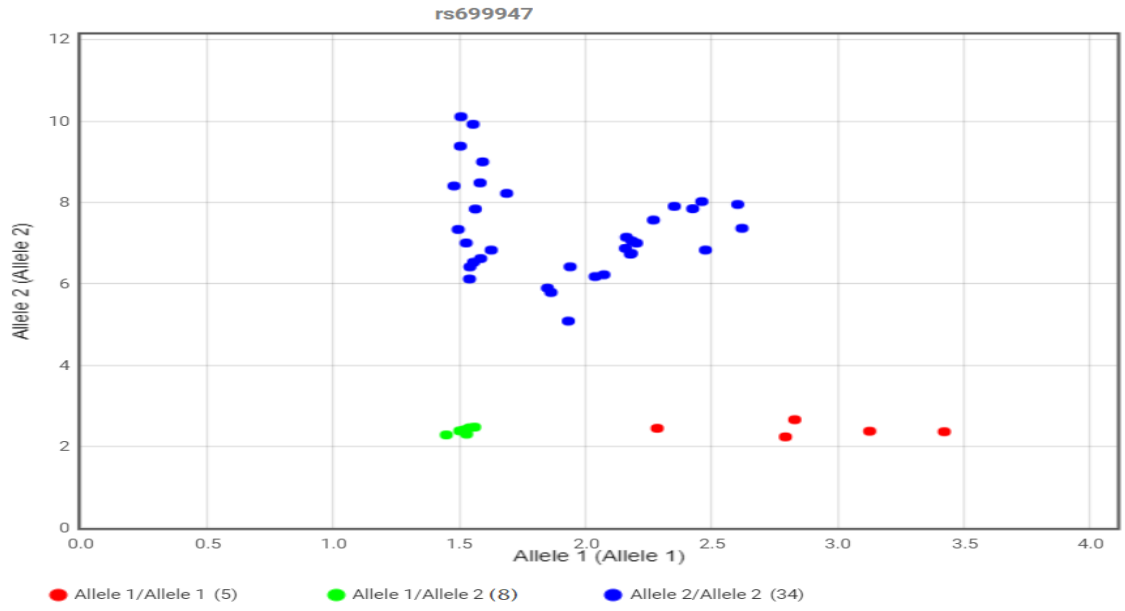


Figure 33: Diagramme de discrimination allélique du SNP rs699947 du gène *VEGFA*

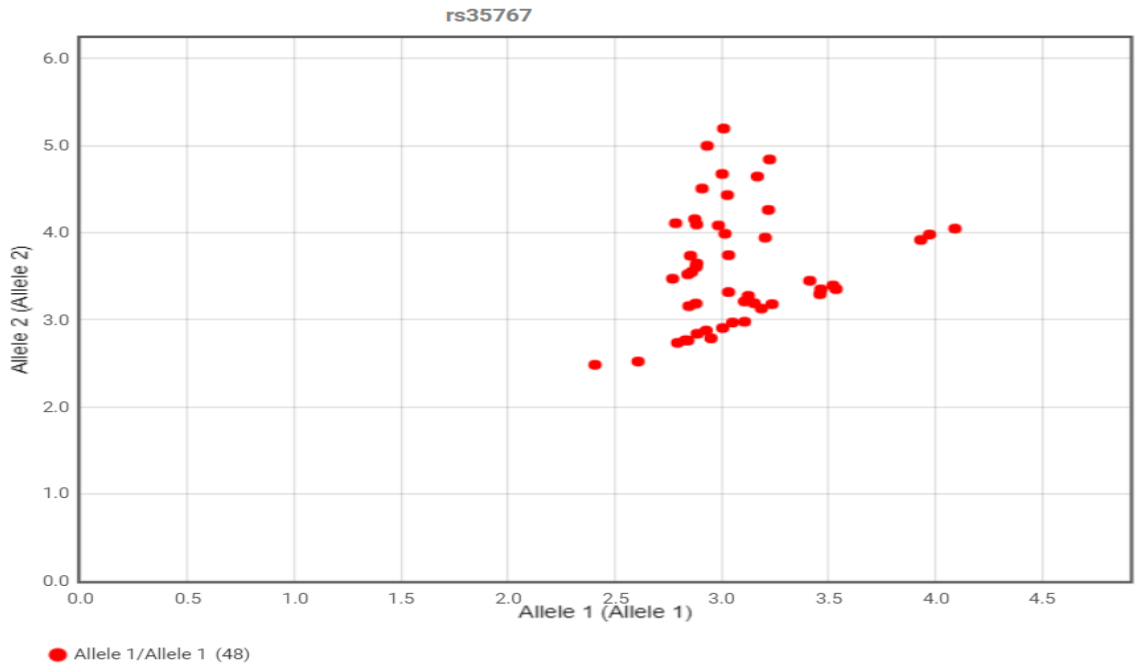


Figure 34: Diagramme de discrimination allélique du SNP rs35767 du gène *IGF1*

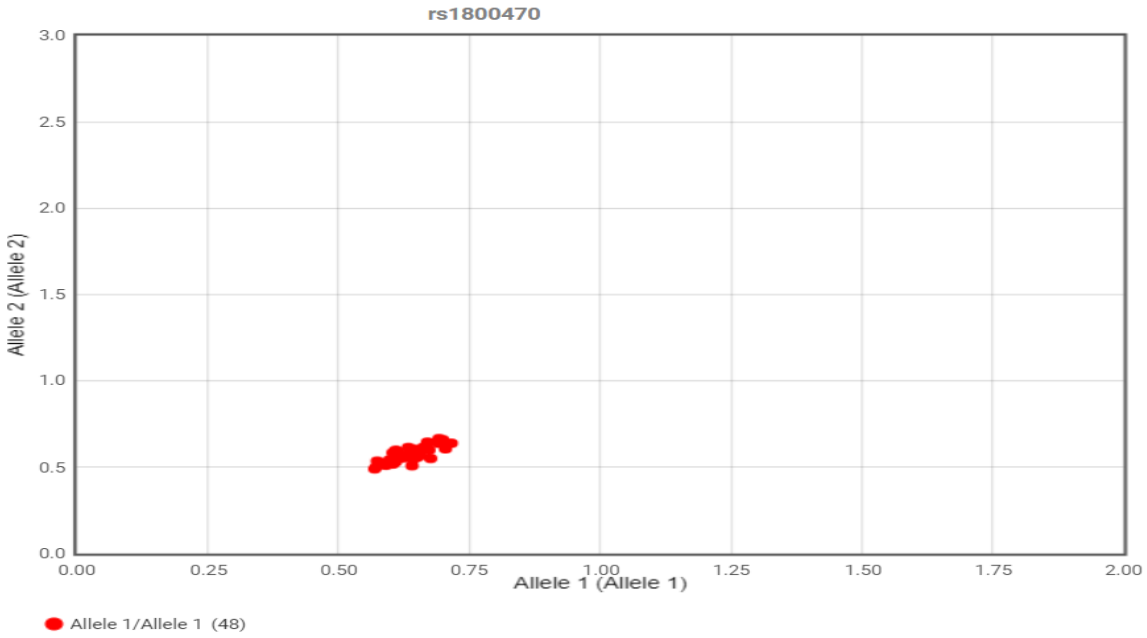


Figure 35: Diagramme de discrimination allélique du SNP rs1800470 du gène *TGFB1*

Le tableau 13 présente la distribution des génotypes et allèles au sein des patients atteints du SCA ainsi que la fréquence allélique mineure (MAF) extraite de la base de données d'agrégation des génomes (Genome-Aggregation Database, gnomAD genomes, http://gnomad.broadinstitute.org/) de la phase 3 du projet 1000 génomes.

Dans cette série de patients, plusieurs polymorphismes nucléotidiques simples (SNP) ont été identifiés. Le SNP rs6725887 dans le gène *WDR12* présente une distribution où l'allèle T

est majoritaire avec une fréquence de 90%, tandis que l'allèle C est minoritaire avec une fréquence de 10%. Le SNP rs646776 dans CELSR2 montre une fréquence allélique de 79% pour l'allèle T et 21% pour l'allèle C. Le gène ESRRG présente deux SNPs, rs602633 et rs4846525, avec des fréquences alléliques dominantes pour l'allèle G (73% et 75%, respectivement).

Parmi les autres SNPs notables, rs4845625 montre une répartition presque égale des allèles, avec 56% pour C et 44% pour T. Le SNP rs17464857 dans TAF1A montre une dominance de l'allèle T à 77%. Le SNP rs646776 dans MIA3 a une distribution équilibrée des allèles, avec 52% pour C et 48% pour A. Certains SNPs, tels que rs11206510, rs17114036 dans PLPP3, et rs273909 dans SLC22A4>MIR3936HG, montrent une prédominance marquée de l'allèle majeur, dépassant 90%.

Plusieurs autres gènes, tels que *TEX41*, *VAMP5*, *MRAS*, *GUCY1A1*, *PHACTR1*, *TCF21*, *SH2B3*, *CNNM2*, *ZPR1*, *LPA*, *CDKN2B-CDKN2B-AS1*, et *COL4A1-COL4A2*, montrent également des variations notables dans les distributions alléliques de leurs SNPs respectifs.

Pour la plupart des SNPs listés, la proportion d'homozygotes pour l'allèle mineur est généralement faible. De plus, la valeur p pour l'équilibre de Hardy-Weinberg (HWE P-value) est souvent proche de 1, suggérant que la population étudiée est en équilibre génétique pour la plupart de ces SNPs.

L'analyse comparative des fréquences alléliques mineurs entre notre population et celle extraite à partir de la base de données d'agrégation des génomes (gnomAD genomes) a été également réalisée (tableau 13). Le polymorphisme rs6725887 (T>C) *WDR12* s'est distingué par une prévalence allélique mineure au sein de notre population de 10%, soit une proportion supérieure à celle enregistrée dans la population globale (5%). Toutefois, concernant le polymorphisme rs602633 (T>G) *CELSR2*, l'allèle mineur T a été observé avec une fréquence de 27% dans notre cohorte, une valeur inférieure à celle de la population de référence, évaluée à 35%. Cependant, certains polymorphismes, à l'instar de rs646776 (C>T) *CELSR2* et rs4846525 (C>T) ESRRG, présentent des fréquences alléliques comparables entre notre population et celle de référence. Néanmoins, des écarts conséquents ont été observés pour des polymorphismes tels que rs17464857 (T>G) TAF1A, où l'allèle mineur G affiche une prévalence de 23% au sein de notre cohorte, contre 8% dans la population de référence.

Tableau 13: Analyse des Fréquences Génotypiques et Alléliques de SNPs Sélectionnés au sein des Patients Atteints du SCA

Génotype	Nombre	Proportion	HWE P-value	Allèle	Nombre	Proportion	MAF*
rs6725887 (T>C) WDR12							
C/C	1	2%	0,49	T	115	90%	
T/C	11	17%		C	13	10%	5% (C)
T/T	52	81%					
rs646776 (C>T) CELSR2							
C/C	1	2%	0,27	T	101	79%	
T/C	25	39%		C	27	21%	24% (C)
T/T	38	59%					
rs602633 (T>G) CELSR2, PSRC1							
G/G	32	50%	0,36	G	93	73%	
G/T	29	45%		T	35	27%	35% (T)
T/T	3	5%					
rs4845625							
C/C	19	30%	0,62	C	72	56%	
C/T	34	53%		T	56	44%	44% (T)
T/T	11	17%					
rs4846525 (C>T) ESRRG							
C/C	35	55%	0,74	C	96	75%	
C/T	26	41%		T	32	25%	26% (T)
T/T	3	5%					
rs17464857 (T>G) TAF1A							
G/G	3	5%	1	T	99	77%	
T/G	23	36%		G	29	23%	8% (G)
T/T	38	59%					
rs17465637 (A>C) MIA3							
A/A	14	22%	0,8	C	66	52%	
C/A	34	53%		A	62	48%	50% (A)
C/C	16	25%					
rs11206510 (T>C)							
T/C	13	20%	1	T	115	90%	
T/T	51	80%		C	13	10%	10% (C)
rs17114036 (A>G) PLPP3							
A/A	58	91%	1	A	122	95%	
A/G	6	9%		G	6	5%	9% (G)
rs2252641 (T>C) TEX41							
T/T	19	30%	0,14	T	64	50%	31% (T)
T/C	26	41%		C	64	50%	
C/C	19	30%					
rs6725887 (T>C) WDR12							
C/C	1	2%	0,49	T	115	90%	
T/C	11	17%		C	13	10%	5% (C)
T/T	52	81%					
rs515135 (T>C)							
C/C	46	72%	0,64	C	108	84%	

Génotype	Nombre	Proportion	HWE P-value	Allèle	Nombre	Proportion	MAF*
C/T	16	25%		T	20	16%	25% (T)
T/T	2	3%					
rs1561198 (C>T) VAMP5							
C/C	9	14%	0,31	T	74	58%	49% (T)
T/C	36	56%		C	54	42%	
T/T	19	30%					
rs9818870 (C>T) MRAS							
C/C	48	75%	1	C	111	87%	
C/T	15	23%		T	17	13%	9% (T)
T/T	1	2%					
rs7692387 (G>A) GUCY1A1							
G/A	19	30%	0,33	G	109	85%	
G/G	45	70%		A	19	15%	16% (A)
rs273909 (A>G) SLC22A4, MIR3936HG							
A/A	57	89%	1	A	121	95%	
A/G	7	11%		G	7	5%	9% (G)
rs9369640 (C>A) PHACTR1							
A/A	8	12%	0,6	C	79	62%	36% (C)
C/A	33	52%		A	49	38%	
C/C	23	36%					
rs12526453 (C>G) PHACTR1							
C/C	24	38%	0,45	C	76	59%	
C/G	28	44%		G	52	41%	17% (G)
G/G	12	19%					
rs12190287(C>G)TCF21							
C/C	39	61%	0,3	C	98	77%	
C/G	20	31%		G	30	23%	34% (G)
G/G	5	8%					
rs2048327 (T>C) SLC22A3							
C/C	1	2%	0,49	T	115	90%	
T/C	11	17%		C	13	10%	29% (C)
T/T	52	81%					
rs10455872 (A>G) LPA							
A/A	58	91%	1	A	122	95%	
A/G	6	9%		G	6	5%	2% (G)
rs4252120 (T>C) PLG							
C/C	5	8%	0,51	T	96	75%	
T/C	22	34%		C	32	25%	14% (C)
T/T	37	58%					
rs12205331 (C>T) ANKS1A							
C/C	60	94%	1	C	124	97%	
C/T	4	6%		T	4	3%	8% (T)
rs10947789 (T>C) KCNK5							
C/C	2	3%	0,32	T	97	76%	
T/C	27	42%		C	31	24%	17% (C)
T/T	35	55%					
rs11556924 (C>T) ZC3HC1							

Génotype	Nombre	Proportion	HWE P-value	Allèle	Nombre	Proportion	MAF*
C/C	35	55%	0,75	C	94	73%	
C/T	24	38%		T	34	27%	16% (T)
T/T	5	8%					
rs2954029 (A>T)							
A/A	34	53%	0,36	A	91	71%	
A/T	23	36%		T	37	29%	41% (T)
T/T	7	11%					
rs264 (G>A) LPL							
A/A	1	2%	0,12	G	122	95%	
G/A	4	6%		A	6	5%	16% (A)
G/G	59	92%					
rs3217992 (C>T) CDKN2B, CDKN2B-AS1							
C/C	21	33%	0,45	C	70	55%	
C/T	28	44%		T	58	45%	35% (T)
T/T	15	23%					
rs1333049 (G>C) CDKN2B-AS1							
C/C	12	19%	1	G	72	56%	
G/C	32	50%		C	56	44%	42% (C)
G/G	20	31%					
rs12413409 (G>A) CNNM2							
G/A	11	17%	1	G	117	91%	
G/G	53	83%		A	11	9%	16% (A)
rs501120 (T>C)							
C/C	1	2%	1	T	108	84%	
T/C	18	28%		C	20	16%	33% (C)
T/T	45	70%					
rs1746048 (C>T)							
C/C	45	70%	1	C	108	84%	
C/T	18	28%		T	20	16%	34% (T)
T/T	1	2%					
rs964184 (G>C) ZPR1							
C/C	38	59%	0,73	C	98	77%	
C/G	22	34%		G	30	23%	22% (G)
G/G	4	6%					
rs3184504 (T>C) SH2B3							
C/C	32	50%	0,38	C	88	69%	
C/T	24	38%		T	40	31%	15% (T)
T/T	8	12%					
rs4773144 (A>G) COL4A1, COL4A2							
A/A	14	22%	1	G	67	52%	40% (G)
G/A	33	52%		A	61	48%	
G/G	17	27%					
rs9515203 (T>C) COL4A2							
C/C	3	5%	0,69	T	103	80%	
T/C	19	30%		C	25	20%	22% (C)
T/T	42	66%					
rs9319428 (G>A) FLT1							

Génotype	Nombre	Proportion	HWE P-value	Allèle	Nombre	Proportion	MAF*
A/A	3	5%	1	G	98	77%	
G/A	24	38%		A	30	23%	33% (A)
G/G	37	58%					
rs2895811 (T>C) HHIPL1							
C/C	4	6%	0,097	T	85	66%	
T/C	35	55%		C	43	34%	32% (C)
T/T	25	39%					
rs7173743 (T>C) MORF4L1							
C/C	11	17%	1	T	75	59%	
T/C	31	48%		C	53	41%	47% (C)
T/T	22	34%					
rs12936587 (G>A)							
A/A	17	27%	0,22	G	67	52%	
G/A	27	42%		A	61	48%	27% (A)
G/G	20	31%					
rs1122608 (G>T) SMARCA4							
G/G	39	61%	0,3	G	98	77%	
G/T	20	31%		T	30	23%	14% (T)
T/T	5	8%					
rs9982601 (C>T)							
C/C	47	73%	1	C	110	86%	
C/T	16	25%		T	18	14%	11% (T)
T/T	1	2%					
rs308395 (C>G) FGF2							
C/C	32	50%	0,76	C	92	72%	
C/G	28	44%		G	36	28%	36% (G)
G/G	4	6%					
rs2285094 (T>C) PDGFB							
C/C	15	23%	1	T	66	52%	
T/C	32	50%		C	62	48%	31% (C)
T/T	17	27%					
rs1800470 (G>A) TGFB1							
A/A	22	34%	0,44	A	78	61%	
A/G	34	53%		G	50	39%	45% (G)
G/G	8	12%					
rs35767 (A>G) IGF1							
A/A	2	3%	1	G	106	83%	
G/A	18	28%		A	22	17%	30% (A)
G/G	44	69%					
rs699947 (A>C) VEGFA							
A/A	10	16%	0,79	C	79	62%	
C/A	29	45%		A	49	38%	32% (A)
C/C	25	39%					

* les valeurs MAF extraite de la base de données d'agrégation des génomes (Genome-Aggregation Database, gnomAD genomes, http://gnomad.broadinstitute.org/) de la phase 3 du projet 1000 génomes.

III.3 Analyse comparative des SNP entre les patients atteints du Syndrome Coronarien Aigu et les sujets témoins

III.3.1 Analyse du SNP rs1800470 du gène TGFB1

L'analyse de ce SNP s'est portée sur les fréquences alléliques et génotypiques, ainsi que sur son association avec le SCA.

III.3.1.1 Fréquence allélique :

Le tableau 14 illustre la distribution des allèles du SNP rs1800470 (G>A) localisé sur le gène *TGFB1*. Cette analyse concerne un échantillon total de 112 individus, subdivisés en cas et témoins.

L'examen global dévoile une prévalence marquée de l'allèle A avec une fréquence de 78%, tandis que l'allèle G est représenté à une fréquence de 22%. Cependant, une distinction nette est observée lors de la dissection des groupes : chez les patients atteints de SCA, l'allèle A est détecté à une fréquence de 61%, et l'allèle G à 39%. Alors que pour la population témoin, l'allèle A est ubiquitaire avec une fréquence de 100%, tandis que l'allèle G est absent.

Tableau 14: Fréquences Alléliques du SNP rs1800470 dans le gène TGFB1 : Une Analyse Comparative entre Patients Atteints du SCA et Sujets Témoins

rs1800470 (G>A) TGFB1 fréquence allélique (n=112)						
	Cas+Témoin		Cas		Témoin	
Allèle	Nombre	Proportion	Nombre	Proportion	Nombre	Proportion
A	174	78%	78	61%	96	100%
G	50	22%	50	39%	0	0%

III.3.1.2 Fréquence génotypique :

Le tableau 15 présente la distribution génotypique du polymorphisme rs1800470 (G>A) au sein du gène *TGFB1* pour un échantillon total de 112 individus, distinctement catégorisés en cas cliniques présentant un syndrome coronarien aigu et sujets témoins.

Au sein de l'ensemble des participants, le génotype A/A domine avec une fréquence de 62% (70 individus). Ensuite, le génotype A/G est observé chez 30% de l'échantillon (34 individus), tandis que le génotype G/G est moins fréquent, présent uniquement chez 7% des participants (8 individus). En se focalisant uniquement sur les cas, la distribution génotypique révèle une fréquence de 34% pour le génotype A/A (22 patients), 53% pour le génotype A/G (34 patients), et 12% pour le génotype G/G (8 patients). Notons de manière singulière que l'intégralité des sujets témoins portait le génotype A/A. Les p-value associée au test d'équilibre de Hardy-Weinberg pour cette population combinée est de 0,18, indiquant que la population est en équilibre génétique concernant ce SNP.

Tableau 15: Distribution des fréquences génotypiques du SNP rs1800470 du gène TGFB1 entre cas et sujets témoins.

rs1800470 (G>A) TGFB1 fréquence génotypique (n=112)						
	Cas+Témoin		Cas		Témoin	
Génotype	Nombre	Proportion	Nombre	Proportion	Nombre	Proportion
A/A	70	62%	22	34%	48	100%
A/G	34	30%	34	53%	0	0%
G/G	8	7%	8	12%	0	0%

rs1800470 (G>A) TGFB1 test exact de Hardy-Weinberg equilibrium (n=112)						
	N11	N12	N22	N1	N2	P-value
Cas+Témoin	70	34	8	174	50	0,18
Cas	22	34	8	78	50	0,44
Témoin	48	0	0	96	0	1

III.3.1.3 Analyse d'association du polymorphisme rs1800470 entre les cas et les témoins :

Le tableau 16 présente une analyse détaillée de l'association du polymorphisme rs1800470 dans le gène *TGFB1* avec le syndrome coronarien aigu. Différents modèles génétiques, notamment codominant, dominant, récessif, sont explorés. Pour chaque modèle, les génotypes, leur répartition entre les cas et les témoins, le rapport de cotes (OR) avec l'intervalle de confiance à 95%, la valeur p sont présentés.

Dans le modèle codominant, il est notable que les génotypes G/A et G/G n'ont été observés que chez les cas et sont complètement absents des témoins. De même, dans les modèles dominant, récessif, les ratios OR indiquent une association significative entre le polymorphisme et le syndrome coronarien aigu, avec une valeur p inférieure à 0,0001 pour la plupart des analyses. Seul le modèle récessif montre une valeur p légèrement plus élevée de 0,0022 pour le génotype G/G.

Tableau 16: Association du polymorphisme rs1800470 du gène TGFB1 avec le syndrome coronarien aigu.

rs1800470 (G>A) TGFB1 association entre les cas et les témoins (n=112)					
Modèle	Génotype	Cas	Témoin	OR (95% CI)	P-value
Codominant	A/A	22 (34,4%)	48 (100%)	1	<0,0001
	G/A	34 (53,1%)	0 (0%)	0,00 (0,00-NA)	<0,0001
	G/G	8 (12,5%)	0 (0%)	0,00 (0,00-NA)	<0,0001
Dominant	A/A	22 (34,4%)	48 (100%)	1	<0,0001
	G/A-G/G	42 (65,6%)	0 (0%)	0,00 (0,00-NA)	<0,0001
Récessive	A/A-G/A	56 (87,5%)	48 (100%)	1	0,0022
	G/G	8 (12,5%)	0 (0%)	0,00 (0,00-NA)	0,0022
Surdominant	A/A-G/G	30 (46,9%)	48 (100%)	1	<0,0001
	G/A	34 (53,1%)	0 (0%)	0,00 (0,00-NA)	<0,0001
Log-additive	---	---	---	0,00 (0,00-NA)	<0,0001

III.3.2 Analyse du polymorphisme rs699947 du gène VEGFA :

L'analyse de ce polymorphisme s'est focalisée sur les fréquences alléliques et génotypiques, ainsi que l'association avec le SCA.

III.3.2.1 Fréquence allélique :

Ce tableau 17 présente la distribution des fréquences alléliques pour le polymorphisme rs699947 (A>C) du gène *VEGFA* parmi un total de 112 individus, subdivisés en cas et témoins.

Pour l'allèle C, la proportion globale (Cas+Témoin) est de 69%. Lorsqu'on observe spécifiquement les groupes, les cas présentent une fréquence allélique de 62% pour l'allèle C, tandis que les témoins présentent une fréquence légèrement plus élevée de 78%. Par ailleurs, pour l'allèle A, la fréquence globale est de 31%. Cette fréquence s'élève à 38% chez les cas, mais est plus faible chez les témoins, à 22%.

Tableau 17: Fréquence alléliques du polymorphisme rs699947 du gène VEGFA chez les cas et les témoins

rs699947 (A>C) VEGFA fréquence allélique (n=112)						
	Cas+Témoin		Cas		Témoin	
Allèle	Nombre	Proportion	Nombre	Proportion	Nombre	Proportion
C	154	69%	79	62%	75	78%
A	70	31%	49	38%	21	22%

III.3.2.2 Fréquence génotypique :

Le tableau 18 expose les fréquences génotypiques du polymorphisme rs699947 du gène *VEGFA*.

Chez les cas et les témoins combinés (Cas+Témoin), le génotype C/C est le plus fréquent, représentant 53% de l'échantillon, suivi du génotype C/A à 32%, puis du génotype A/A à 15%.

Lorsque l'on examine séparément les cas, on observe que le génotype C/A est plus fréquent (45%), suivi du C/C (39%) et enfin du A/A (16%). Cependant, chez les témoins, le génotype C/C prédomine nettement avec 71%, tandis que les génotypes A/A et C/A sont tous deux représentés à 15%.

Pour le groupe Cas+Témoin, la valeur P est de 0,0085, suggérant un écart significatif par rapport à l'équilibre de Hardy-Weinberg. Cependant, pour les Cas seuls, la valeur P est de 0,79, indiquant une conformité à cet équilibre. Les Témoins, avec une valeur P de 0,00028, montrent également un écart significatif par rapport à l'équilibre HWE.

Tableau 18: Fréquences génotypiques du polymorphisme rs699947 du gène VEGFA chez les cas et les témoins dans l'étude sur le SCA

rs699947 (A>C) VEGFA fréquence génotypique (n=112)						
	Cas+Témoin		Cas		Témoin	
Génotype	Nombre	Proportion	Nombre	Proportion	Nombre	Proportion
A/A	17	15%	10	16%	7	15%
C/A	36	32%	29	45%	7	15%
C/C	59	53%	25	39%	34	71%

rs699947 (A>C) VEGFA test exact de Hardy-Weinberg equilibrium (n=112)						
	N11	N12	N22	N1	N2	P-value
Cas+Témoin	59	36	17	154	70	0,0085
Cas	25	29	10	79	49	0,79
Témoin	34	7	7	75	21	0,00028

III.3.2.3 Analyse d'association du polymorphisme rs699947 entre les cas et les témoins :

Le tableau 19 détaille les associations entre le polymorphisme rs699947 du gène *VEGFA* et le syndrome coronarien aigu.

Dans le modèle codominant, en utilisant le génotype C/C comme référence, le génotype A/C montre un odds ratio (OR) de 0,18, signalant une augmentation substantielle du risque par rapport au groupe C/C, tandis que le génotype A/A ne présente pas une différence notable avec un OR de 0,51. En suivant le modèle dominant, la combinaison des génotypes A/C et A/A affiche un OR de 0,26, suggérant que la présence de l'allèle A est liée au risque de développer la maladie. Le modèle récessif, en revanche, ne montre pas de variation notable de risque entre les individus A/A et ceux avec au moins un allèle C.

Tableau 19: Association du polymorphisme rs699947 du gène VEGFA avec le SCA

rs699947 (A>C) VEGFA association entre les cas et les témoins (n=112, crude analysis)					
Model	Génotype	Cas	Témoin	OR (95% CI)	P-value
Codominant	C/C	25 (39,1%)	34 (70,8%)	1	9,00E-04
	A/C	29 (45,3%)	7 (14,6%)	0,18 (0,07-0,47)	9,00E-04
	A/A	10 (15,6%)	7 (14,6%)	0,51 (0,17-1,54)	9,00E-04
Dominant	C/C	25 (39,1%)	34 (70,8%)	1	8,00E-04
	A/C-A/A	39 (60,9%)	14 (29,2%)	0,26 (0,12-0,59)	8,00E-04
Recessive	C/C-A/C	54 (84,4%)	41 (85,4%)	1	0,88
	A/A	10 (15,6%)	7 (14,6%)	0,92 (0,32-2,63)	0,88
Surdominant	C/C-A/A	35 (54,7%)	41 (85,4%)	1	4,00E-04
	A/C	29 (45,3%)	7 (14,6%)	0,21 (0,08-0,53)	4,00E-04
Log-additive	---	---	---	0,52 (0,30-0,91)	0,017

III.3.3 Analyse du polymorphisme rs35767 du gène *IGF1*

L'analyse de ce variant est portée sur les fréquences alléliques et génotypiques, et sur son l'association avec le SCA.

III.3.3.1 Fréquence allélique :

Le tableau 20 illustre la distribution allélique pour le polymorphisme rs35767 (A>G) du gène *IGF1*.

Dans l'ensemble des échantillons (Cas+Témoin), l'allèle A est observé à une fréquence de 53%, tandis que l'allèle G a une fréquence de 47%. Lorsque nous examinons spécifiquement les cas, il est notable que l'allèle A n'est présent qu'a une fréquence de 17% chez les patients, tandis que l'allèle G domine de manière significative avec une fréquence de 83%. De façon remarquable, chez les témoins, l'allèle A est l'unique allèle détecté avec une fréquence de 100%.

Tableau 20: Fréquence allélique du polymorphisme rs35767 dans IGF1 chez les patients atteints du syndrome coronarien aigu et chez les témoins.

rs35767 (A>G) IGF1 fréquence allélique (n=112)						
	Cas+Témoin		Cas		Témoin	
Allèle	Nombre	Proportion	Nombre	Proportion	Nombre	Proportion
A	118	53%	22	17%	96	100%
G	106	47%	106	83%	0	0%

III.3.3.2 Fréquence génotypique :

Le tableau 21 présente les fréquences génotypiques du polymorphisme rs35767, IGF1.

Chez les individus combinant à la fois les cas et les témoins, le génotype A/A est observé à une fréquence de 45%, le génotype A/G à 16% et le génotype G/G à 39%. Cependant, une nette différence est observée entre les cas et les témoins : le génotype A/A est largement représenté chez les témoins (100%), tandis que le génotype G/G domine chez les cas avec une fréquence de 69%. Le génotype A/G est également présent chez les cas avec une fréquence de 28% alors que le génotype A/G et G/G sont absents chez les témoins.

Pour l'ensemble des participants (Cas+Témoin), les génotypes ne semblent pas suivre l'équilibre de Hardy-Weinberg avec une p-value significative (<0,0001).

Tableau 21: Fréquences génotypiques du polymorphisme rs35767 (A>G) du gène IGF1 chez les cas et les témoins

rs35767 (A>G) IGF1 fréquence génotypique (n=112)						
	Cas+Témoin		Cas		Témoin	
Génotype	Nombre	Proportion	Nombre	Proportion	Nombre	Proportion
A/A	50	45%	2	3%	48	100%
A/G	18	16%	18	28%	0	0%
G/G	44	39%	44	69%	0	0%

rs35767 (A>G) IGF1 test exact de Hardy-Weinberg equilibrium (n=112)						
	N11	N12	N22	N1	N2	P-value
Cas+Témoin	50	18	44	118	106	<0,0001
Cas	2	18	44	22	106	1
Témoin	48	0	0	96	0	1

III.3.3.3 Analyse d'association du polymorphisme rs35767 (A>G) entre les cas et les témoins :

Dans le modèle codominant, les individus ayant le génotype A/A étaient majoritairement présents parmi les témoins (100%), tandis qu'ils étaient minoritaires parmi les cas (3,1%). Inversement, les génotypes A/G et G/G étaient exclusivement observés parmi les cas à 28,1% et 68,8%, respectivement. Le rapport de cotes (OR) pour ces deux derniers génotypes était de 0,00, indiquant une forte association négative avec le syndrome coronarien aigu.

En examinant les autres modèles génétiques (Dominant, Récessif, Surdominant, Log-additif), nous constatons des tendances similaires d'association, avec un OR de 0,00 pour les génotypes A/G et G/G dans tous les modèles.

Tableau 22: Association du polymorphisme rs35767 du gène IGF1 avec le syndrome coronarien aigu

rs35767 (A>G) IGF1 association entre les cas et les témoins (n=112, crude analysis)					
Model	Génotype	Cas	Témoin	OR (95% CI)	P-value
Codominant	A/A	2 (3,1%)	48 (100%)	1	<0,0001
	A/G	18 (28,1%)	0 (0%)	0,00 (0,00-NA)	<0,0001
	G/G	44 (68,8%)	0 (0%)	0,00 (0,00-NA)	<0,0001
Dominant	A/A	2 (3,1%)	48 (100%)	1	<0,0001
	A/G-G/G	62 (96,9%)	0 (0%)	0,00 (0,00-NA)	<0,0001
Récessive	A/A-A/G	20 (31,2%)	48 (100%)	1	<0,0001
	G/G	44 (68,8%)	0 (0%)	0,00 (0,00-NA)	<0,0001
Surdominant	A/A-G/G	46 (71,9%)	48 (100%)	1	<0,0001
	A/G	18 (28,1%)	0 (0%)	0,00 (0,00-NA)	<0,0001
Log-additive	---	---	---	0,00 (0,00-NA)	<0,0001

III.3.4 Analyse du variant rs2285094 du gène PDGFB

L'analyse de ce SNP s'est focalisée sur les fréquences alléliques et génotypiques, et sur son l'association avec le SCA.

III.3.4.1 Fréquence allélique :

Le tableau 23 présente la distribution des allèles T et C du polymorphisme rs2285094 du gène PDGFB chez les individus atteints du syndrome coronarien aiguë et les témoins.

Pour l'ensemble de l'échantillon (Cas+Témoin), la fréquence de l'allèle T est de 52%, tandis que l'allèle C présente une fréquence de 48%.

Lorsque l'on examine spécifiquement les cas, l'allèle T est observé à une fréquence de 52% avec un total de 66, et l'allèle C est observé à une fréquence de 48% avec un total de 62.

Parmi les témoins, la fréquence de l'allèle T est de 52%, et l'allèle C est de 48%.

Tableau 23: Fréquence allélique du polymorphisme rs2285094 du gène PDGFB chez les cas et les témoins

rs2285094 (T>C) PDGFB fréquence allélique (n=112)						
	Cas+Témoin		Cas		Témoin	
Allèle	Nombre	Proportion	Nombre	Proportion	Nombre	Proportion
T	116	52%	66	52%	50	52%
C	108	48%	62	48%	46	48%

III.3.4.2 Fréquence génotypique :

Le tableau 24 montre une analyse comparative des fréquences génotypiques associées au polymorphisme rs2285094. Parmi l'ensemble des participants, la prédominance du génotype hétérozygote T/C est notable, englobant 55% de l'échantillon. Cette tendance se reflète de manière analogue dans les sous-groupes des cas et des témoins avec des fréquences de 50% et 62%, respectivement. Les génotypes homozygotes, quant à eux, montrent une distribution différentielle. Le génotype C/C est observé chez 23% des cas contre 17% des témoins, tandis que le génotype T/T est présent chez 27% des cas et 21% des témoins.

Les résultats du test d'équilibre Hardy-Weinberg montrent que l'ensemble des cas et témoins (Cas+Témoin) présente un équilibre HWE avec une valeur p de 0,34.

Tableau 24: Répartition génotypique du polymorphisme rs2285094 du gène PDGFB chez les patients atteints de syndrome coronarien aigu

rs2285094 (T>C) PDGFB fréquence génotypique (n=112)						
	Cas+Témoin		Cas		Témoin	
Génotype	Nombre	Proportion	Nombre	Proportion	Nombre	Proportion
C/C	23	21%	15	23%	8	17%
T/C	62	55%	32	50%	30	62%
T/T	27	24%	17	27%	10	21%

rs2285094 (T>C) PDGFB test exact de Hardy-Weinberg equilibrium (n=112)						
	N11	N12	N22	N1	N2	P-value
Cas+Temoin	27	62	23	116	108	0,34
Cas	17	32	15	66	62	1
Témoin	10	30	8	50	46	0,15

III.3.4.3 Analyse d'association du polymorphisme rs2285094 (T>C) entre les cas et les témoins :

Le tableau 25 illustre l'évaluation de l'association du polymorphisme rs2285094 (T>C) du gène PDGFB avec le syndrome coronarien aigu. Dans le modèle codominant, le génotype T/T sert de référence, avec un OR de 1,59 pour T/C et 0,91 pour C/C, tous deux avec une valeur p de 0,41. Selon le modèle dominant, l'association de T/C et C/C montre un OR de 1,37 (p = 0,48) par rapport à T/T. Le modèle récessif indique que C/C a un OR de 0,65 (p = 0,38) par rapport à la combinaison T/T et T/C. En outre, le modèle surdominant présente un OR de 1,67 pour T/C comparé à T/T et C/C combinés (p = 0,19). Enfin, dans le modèle log-additif, l'OR global est de 0,98 avec une valeur p de 0,93.

Tableau 25: Association du polymorphisme rs2285094 du gène *PDGFB* avec le syndrome coronarien aigu : Analyse des génotypes chez les cas et les témoins

rs2285094 (T>C) PDGFB association entre les cas et les témoins (n=112, crude analysis)					
Model	Génotype	Cas	Témoin	OR (95% CI)	P-value
Codominant	T/T	17 (26,6%)	10 (20,8%)	1	0,41
	T/C	32 (50%)	30 (62,5%)	1,59 (0,63-4,02)	0,41
	C/C	15 (23,4%)	8 (16,7%)	0,91 (0,28-2,89)	0,41
Dominant	T/T	17 (26,6%)	10 (20,8%)	1	0,48
	T/C-C/C	47 (73,4%)	38 (79,2%)	1,37 (0,56-3,35)	0,48
Récessive	T/T-T/C	49 (76,6%)	40 (83,3%)	1	0,38
	C/C	15 (23,4%)	8 (16,7%)	0,65 (0,25-1,70)	0,38
Surdominant	T/T-C/C	32 (50%)	18 (37,5%)	1	0,19
	T/C	32 (50%)	30 (62,5%)	1,67 (0,78-3,57)	0,19
Log-additive	---	---	---	0,98 (0,56-1,71)	0,93

III.3.5 Analyse du variant rs308395 du gène *FGF2*

L'analyse de ce variant est portée sur les fréquences alléliques et génotypiques, et l'association avec le SCA.

III.3.5.1 Fréquence allélique :

Le tableau 26 montrer la distribution allélique du polymorphisme rs308395 (C>G) dans le gène *FGF2*, en rapport avec le syndrome coronarien aigu. Dans l'ensemble de la cohorte (cas + témoins, n=112), l'allèle C est prédominant avec une fréquence de 66%. Lorsque nous décomposons ces données, chez les patients, l'allèle C'est encore plus fréquent, avec une

prévalence de 72%. En revanche, chez les témoins, la fréquence de cet allèle est légèrement réduite à 57%. L'allèle G est moins courant dans la population générale, avec une fréquence de 34%. Chez les cas, la fréquence est de 28%, tandis que chez les témoins, elle s'élève à 43%.

Tableau 26: Fréquence allélique du polymorphisme rs308395 chez les cas et les témoins

rs308395 (C>G) FGF2 fréquence allélique (n=112)						
	Cas+Témoin		Cas		Témoin	
Allèle	Nombre	Proportion	Nombre	Proportion	Nombre	Proportion
C	147	66%	92	72%	55	57%
G	77	34%	36	28%	41	43%

III.3.5.2 Fréquence génotypique :

On observe dans le tableau 27 la distribution des fréquences génotypiques du polymorphisme rs308395. Chez les cas, le génotype C/C est le plus fréquent avec une proportion de 50%, suivi du génotype C/G à 44% et du génotype G/G à 6%. Comparativement, chez les témoins, le génotype C/G domine à 60%, tandis que le génotype C/C est observé chez 27% et le génotype G/G chez 12% des témoins.

Il est à noter que le génotype C/C est plus fréquent chez les cas que chez les témoins, tandis que le génotype C/G est moins fréquent chez les cas que chez les témoins. Le génotype G/G présente une légère augmentation chez les témoins par rapport aux cas.

Dans ce contexte, le groupe des patients et le groupe témoin ne montrent pas une déviation significative de l'équilibre de Hardy-Weinberg.

Tableau 27: Distribution des fréquences génotypiques du polymorphisme rs308395 du gène *FGF2* chez les cas et les témoins

rs308395 (C>G) FGF2 fréquence génotypique (n=112)						
	Cas+Témoin		Cas		Témoin	
Génotype	Nombre	Proportion	Nombre	Proportion	Nombre	Proportion
C/C	45	40%	32	50%	13	27%
C/G	57	51%	28	44%	29	6%
G/G	10	9%	4	6%	6	12%

III.3.5.3 Analyse d'association du polymorphisme rs308395 (C>G) entre les cas et les témoins :

Le tableau 28 présente une évaluation détaillée de l'association entre le polymorphisme rs308395. Dans le modèle codominant, les génotypes C/G et G/G montrent des odds ratios (OR) respectifs de 2,55 et 3,69, suggérant une diminution potentielle du risque par rapport au génotype C/C. Le modèle dominant révèle une association statistiquement significative pour

le génotype combiné C/G-G/G avec un OR de 2,69. Bien que le modèle récessif montre un OR augmenté pour le génotype G/G, cette association n'atteint pas la signification statistique.

Tableau 28: Analyse de l'association du polymorphisme rs308395 (C>G) du gène FGF2 avec le syndrome coronarien aigu

rs308395 (C>G) FGF2 association entre les cas et les témoins (n=112, crude analysis)					
Model	Génotype	Cas	Témoin	OR (95% CI)	P-value
Codominant	C/C	32 (50%)	13 (27,1%)	1	0,041
	C/G	28 (43,8%)	29 (60,4%)	2,55 (1,11-5,83)	0,041
	G/G	4 (6,2%)	6 (12,5%)	3,69 (0,89-15,27)	0,041
Dominant	C/C	32 (50%)	13 (27,1%)	1	0,013
	C/G-G/G	32 (50%)	35 (72,9%)	2,69 (1,21-6,01)	0,013
Récessive	C/C-C/G	60 (93,8%)	42 (87,5%)	1	0,25
	G/G	4 (6,2%)	6 (12,5%)	2,14 (0,57-8,06)	0,25
Surdominant	C/C-G/G	36 (56,2%)	19 (39,6%)	1	0,08
	C/G	28 (43,8%)	29 (60,4%)	1,96 (0,92-4,20)	0,08
Log-additive	---	---	---	2,15 (1,15-4,04)	0,014

IV. Discussion :

IV.1 Caractéristiques cliniques des patients :

La présente étude a exploré les caractéristiques cliniques et démographiques d'une cohorte de patients étudiés pour des polymorphismes génétiques qui pourraient être associés au syndrome coronarien aigu. L'âge moyen de nos cas était de 61,53 ans, s'inscrivant dans la tranche d'âge souvent associée à un risque accru de maladies cardiovasculaires. Cette observation est en accord avec la littérature qui décrit la sixième décennie de la vie comme une période de vulnérabilité accrue pour les événements cardiaques.

La prédominance masculine (70,3%) dans notre cohorte est également notable. Plusieurs études antérieures ont également mis en évidence une prédominance masculine dans l'incidence du syndrome coronarien aigu [286] [287]. Ceci pourrait s'expliquer par des différences hormonales, comportementales, ou encore génétiques entre les sexes [288].

Le tabagisme, facteur de risque majeur des maladies cardiovasculaires, était présent chez la moitié des participants. Une proportion plus élevée de fumeurs a été observée parmi les individus avec un sus-décalage du segment ST. Cela pourrait souligner l'impact du tabagisme sur la gravité des lésions coronariennes, bien que la différence ne soit pas statistiquement significative (p=0,1).

Les antécédents de diabète et d'hypertension, deux comorbidités fréquemment associées à la maladie coronarienne [289], étaient également répandus au sein de notre population. La distribution inégale du diabète entre les sous-groupes pourrait suggérer une possible

interaction entre le diabète et d'autres facteurs génétiques ou cliniques modulant le risque de sus-décalage du segment ST, bien que cela nécessite des études complémentaires.

Le traitement médicamenteux reflète largement les directives actuelles pour la prise en charge du syndrome coronarien aigu, avec une utilisation élevée d'exanoparine et de statines. L'utilisation différenciée des IPP entre les groupes est intrigante et pourrait mériter une exploration plus approfondie dans des études futures.

En conclusion, notre étude met en évidence plusieurs facteurs cliniques et démographiques qui pourraient jouer un rôle dans la prédisposition et la manifestation du syndrome coronarien aigu. Ces observations, conjuguées à des études génétiques ultérieures, pourraient aider à mieux comprendre les mécanismes sous-jacents de cette pathologie et à affiner les stratégies de prévention et de traitement.

IV.2 Analyse des divers SNPs étudiés :

Les maladies cardiovasculaires (MCV) sont la principale cause de décès dans le monde [290]. De nombreux facteurs, tels que l'âge, le sexe, le tabagisme, l'hypertension, etc., sont connus pour augmenter leur risque [6] [291]. Cependant, la génétique joue également un rôle crucial dans la susceptibilité aux MCV. De nombreux polymorphismes génétiques ont été identifiés comme étant associés à un risque accru de MCV [292]. Dans cette étude, nous avons cherché à déterminer la fréquence de ces polymorphismes chez une population marocaine. Notre étude, centrée sur cette variabilité, nous a permis de distinguer des éléments clés de la structure génétique de notre population.

Pour les fréquences génotypiques, nous avons observé une prédominance des homozygotes dans plusieurs SNPs: le rs6725887, *WDR12*, le rs646776, *CELSR2* et le rs11206510 avec des fréquences respectives de 81%, 59% et 80% pour le génotype T/T. Ces fortes prévalences pourraient suggérer une sélection favorable pour ces allèles spécifiques dans la population étudiée, ou bien une association avec des caractéristiques physiologiques ou environnementales spécifiques.

Par ailleurs, des distributions génotypiques équilibrées ont été observées pour les SNPs rs646776, *CELSR2* et rs4846525, *ESRRG*, suggérant une répartition allélique homogène au sein de notre échantillon.

Pour les fréquences alléliques, le gène *WDR12*, en particulier du SNP rs6725887, révèle une dominance majeure de l'allèle T à 90%. Une telle distribution pourrait témoigner d'une adaptation positive où cet allèle confère un avantage sélectif. Par exemple, si cet allèle offre une meilleure résistance à une maladie ou une meilleure réponse à un stress environnemental, cela pourrait expliquer sa prédominance. À l'opposé, la présence d'allèles distribués de

manière équilibrée, comme pour le SNP rs4845625 et rs646776 dans *MIA3*, suggère une possible sélection balancée. Dans un tel scénario, différents allèles conféreraient des avantages dans des contextes variés, résultant d'une dynamique possiblement influencée par des interactions génétiques, des facteurs environnementaux ou des contraintes métaboliques.

Il est également à noter que la plupart des SNPs étudiés se trouvent en équilibre de Hardy-Weinberg, comme le démontrent les p-values supérieures à 0,05. Cela suggère que les fréquences alléliques et génotypiques pour ces SNPs sont stables dans la population étudiée et ne sont pas influencées par des forces évolutives majeures.

L'analyse des polymorphismes génétiques associés au syndrome coronarien aigu a mis en évidence des variations alléliques distinctives entre notre cohorte et la population de référence, du projet 1000 génomes.

Nos observations sur les loci tels que rs4845625, rs4846525, ESRRG, et rs1333049, CDKN2B-AS1 montrent une concordance notable avec la population de référence et corroborent les études antérieures [293], [294]. Par exemple, le polymorphisme rs1333049, situé sur le chromosome 9p21, a été fréquemment associé au risque de maladies coronariennes dans diverses populations [295], [296]

D'un autre côté, la prévalence accrue des allèles associés aux maladies coronariennes dans notre cohorte consternant les SNP rs6725887 *WDR12* et rs17464857, *TAF1A* pourrait suggérer une susceptibilité génétique distincte. Le SNP rs17464857, par exemple, bien que sa caractérisation ait été limitée, s'inscrit parmi les SNP validés au sein du consortium *CARDIoGRAMplusC4D*, en corrélation avec la pathologie cardiovasculaire, à l'instar de ce qui a été suggéré pour d'autres variations polymorphiques proches.[297], [298].

De manière intéressante, nos observations sur les polymorphismes rs602633 *CELSR2*, et rs2954029 indiquent une diminution des fréquences alléliques par rapport à la population global. Le polymorphisme rs602633 *CELSR2*, est particulièrement intrigant car des études antérieures ont identifié le rôle du locus dans la régulation du métabolisme des lipides et du glucose, deux mécanismes clés dans la pathogenèse des maladies cardiovasculaires [299], [300].

Bien que nos résultats corroborent en partie des études anterieures, ils mettent également en évidence des particularités génétiques qui pourraient être propres à notre population. Ces observations renforcent l'importance de la recherche génomique locale dans la compréhension des maladies cardiovasculaires.

Pour l’étude d’association, nous avons choisi dans un premier temps d’analyser les polymorphismes dans les gènes codant des facteurs de croissance. Ces variations génétiques

pourraient influencer la réponse inflammatoire, la prolifération cellulaire et d'autres processus biologiques qui jouent un rôle clé dans la formation des plaques d'athérosclérose et les événements cardiovasculaires ultérieurs [161].

IV.3 Analyse Comparative entre Patients Atteints du Syndrome Coronarien Aigu et Sujets Témoins

IV.3.1 Polymorphisme rs1800470 du gène TGFB1: Implications et Corrélations dans le Contexte du SCA

Le TGF-β1 joue un rôle clé dans la pathogenèse de nombreuses maladies cardiaques telles que l'hypertension, l'athérosclérose, l'hypertrophie ventriculaire gauche et l'insuffisance cardiaque. Le TGF-β1 a un effet pléiotrope sur les cellules cardiovasculaires [301], [302]. Il a été confirmé comme étant une cytokine protectrice car il est impliqué dans le maintien de l'intégrité de la paroi vasculaire, la réduction de l'inflammation et le maintien du contenu de la matrice extracellulaire dans l'athérosclérose. Si l'effet protecteur du TGF-β1 est perdu, le processus d'athérosclérose peut s'accélérer. Le TGF-β contribue également à la stabilisation de la plaque en augmentant la production de collagène [301], [302], [303].

Le polymorphisme rs1800470 du gène *TGFB1* a été étudié en relation avec de nombreux phénotypes dans la littérature scientifique, en particulier en raison de son rôle dans la modulation de la signalisation du TGF-β, une voie cruciale dans la régulation de la croissance cellulaire, la différenciation et d'autres fonctions cellulaires essentielles [304]. Dans le contexte du syndrome coronarien aigu (SCA), l'importance de cette voie est encore renforcée étant donné l'implication reconnue du TGF-β dans les processus inflammatoires et fibrotiques cardiaques [305].

Nos résultats ont révélé une prédominance notable de l'allèle A au sein de la cohorte étudiée, plus spécifiquement chez les témoins avec une prévalence de 100%, la présence significative de l'allèle G chez les patients atteints de SCA et son absence chez les témoins pourrait suggérer son implication potentielle, soit comme biomarqueur du SCA, soit en tant qu'acteur pathogénique. Cette divergence de fréquences alléliques entre nos patients et les témoins corrobore les hypothèses d'une association intrinsèque du SNP rs1800470 avec le SCA, une notion précédemment soutenue par d'autres études [161], [306], [307], [308], [309].

Une étude réalisée par une équipe au Royaume-Uni a pu démontrer que le polymorphisme *TGFB1* rs1800470 est corrélé à la cardiopathie ischémique [307]. Par ailleurs, au sein d'une cohorte chinoise, il a été observé une association entre le polymorphisme *TGFB1* rs1800470 et la pathologie des artères coronaires [308]. Yang et al., ont suggéré que le polymorphisme du gène *TGF-β1* rs1800470 pourrait avoir une corrélation avec la sévérité de l'atteinte

coronarienne chez les sujets masculins [309]. Il a été également démontré que la resténose après dépôt du *stent* était significativement moins fréquente dans le groupe de patients présentant le génotype AA du polymorphisme rs1800470 (*TGFB1*) par rapport aux patients présentant les génotypes AG et GG [161].

Sur le plan génotypique, nous avons pu démontrer que le génotype A/A prédominait parmi les témoins, suggérant un potentiel effet protecteur, tandis que les génotypes A/G et G/G étaient plus prévalents parmi les patients atteints de SCA. Ces observations génotypiques peuvent évoquer une susceptibilité accrue au SCA chez les porteurs de ces génotypes, alignant nos résultats avec ceux de Dylan et al., qui ont mis en avant le rôle crucial de *TGFB1* dans la pathogenèse cardiovasculaire [310].

Bien que nos données préliminaires indiquent une association probante entre le polymorphisme rs1800470 du gène *TGFB1* et le SCA, ces résultats doivent être validés à travers des études épidémiologiques plus vastes et multicentriques.

IV.3.2 Variant rs699947 du gène *VEGFA* : Implications et Corrélations dans le Contexte du SCA

Le facteur de croissance vasculaire endothéliale (VEGF) est un mitogène responsable de l'angiogenèse et de la stimulation de la prolifération des cellules endothéliales [311], [312]. Une expression accrue du gène *VEGF* a été enregistrée dans les artères coronaires humaines impliquées dans le processus athérosclérotique. La concentration sanguine de VEGF augmente avec l'exacerbation de l'athérosclérose. Cependant, le rôle du VEGF dans la dysfonction endothéliale et vasculaire n'a pas encore été pleinement élucidé [313].

Le gène VEGFA, émerge comme une cible potentielle dans la pathogénie du SCA [314]. Ce régulateur orchestre des éléments centraux de l'angiogenèse et de la vasculogenèse, deux processus critiques pour l'homéostasie tissulaire, notamment en contexte de pathologies cardiaques [311], [314].

Dans le cadre de la présente étude, nous nous sommes intéressés au polymorphisme rs699947 associé au gène *VEGFA*. Nos résultats ont révélé des variations alléliques et génotypiques notables entre les individus atteints de SCA et les témoins. L'allèle C a montré une moindre association avec le syndrome, suggérant ainsi que l'allèle A pourrait potentiellement aggraver le risque. Ces constatations coïncident avec des études préalables ayant identifié des associations analogues au sein d'autres cohortes [314], [315], [316]. Cui et al., ont montré que les patients atteints de maladie coronarienne présentaient une fréquence significativement plus élevée de l'allèle A [315]. Biselli et al., ont suggéré un possible effet protecteur du polymorphisme rs699947 sur la sévérité de la maladie coronarienne en raison

d'une réduction de l'expression du VEGF [317]. Cependant, d'autres études ont tiré des conclusions opposées. En revanche, Li et al ont rapporté que l'allèle C du *VEGF* (rs699947) peut être un facteur de risque indépendant important pour la susceptibilité à la maladie coronarienne [318].

Sur le plan génotypique, le génotype C/A s'est avéré prédominant parmi les cas, tandis que le génotype C/C était davantage représenté chez les témoins. Ces distinctions pourraient supporter le rôle contributif du gène *VEGFA* dans la pathogenèse du SCA.

Bien que nos données suggèrent une association entre le polymorphisme rs699947 et le SCA, la taille restreinte de notre échantillon pourrait compromettre sa puissance statistique.

En conclusion, nos observations, conjointement avec des données préexistantes, accentuent l'impératif d'approfondir l'exploration des mécanismes génétiques sous-tendant le SCA. Des études ultérieures avec des cohortes élargies et une approche multifactorielle se révèlent essentielles pour cerner les intrications causales et clarifier le rôle du polymorphisme rs699947 au sein du gène *VEGFA* dans le contexte du syndrome coronarien aigu.

IV.3.3 SNP rs35767 du gène *IGF1* : Implications et Corrélations dans le Contexte du SCA

L'Insulin-like Growth Factor 1 (IGF1) est une molécule pivot, impliquée dans une myriade de processus cellulaires tels que la régulation de la croissance, la différenciation et la survie cellulaire. Son rôle dans la cardioprotection, notamment vis-à-vis de l'ischémie myocardique, a été évoqué par plusieurs recherches antérieures [169], [319]. Au regard de notre cohorte, une association distincte émerge entre l'allèle G du polymorphisme rs35767 et une susceptibilité accrue au SCA. Curieusement, cet allèle est complètement absent dans le groupe témoin, où prévaut l'allèle A, suggérant ainsi une potentialité protectrice de ce dernier.

De plus, la divergence marquée des fréquences génotypiques entre les patients atteints de SCA et les sujets témoins accentue ces observations. Le génotype protecteur A/A prédomine chez les sujets témoins, tandis que les génotypes A/G et G/G sont exclusivement identifiés chez les patients atteints de SCA. Une telle distribution génotypique suggère incontestablement un risque accru associé à ces derniers génotypes.

Des travaux antérieurs ont démontré une association entre le polymorphisme rs35767 et les niveaux sériques d'IGF-1 [169]. Bien que l'IGF1 ait été exploré dans le cadre de l'athérosclérose, les informations disponibles demeurent limitées [169]. Sesti G. et collaborateurs ont établi que rs35767 est corrélé non seulement aux concentrations d'IGF-1, mais aussi à l'épaisseur intima-média [169]. Plusieurs études ont par la suite évalué la liaison entre les polymorphismes du gène IGF1 et le syndrome coronarien aigu. En contradiction

avec nos observations, ces travaux n'ont pas mis en évidence de liaison significative entre le rs35767 et les pathologies coronariennes [161], [320], [321].

Cependant, cette déviation n'est pas observée lorsque les patients et les témoins sont évalués séparément. La rareté des hétérozygotes au sein du groupe témoin nécessite une analyse approfondie, car elle pourrait révéler des mécanismes génétiques sous-jacents encore insoupçonnés.

En conclusion, notre étude propose le polymorphisme rs35767 du gène IGF1 comme un biomarqueur potentiel de susceptibilité au SCA, pavant ainsi la voie à des investigations complémentaires visant à déchiffrer les mécanismes moléculaires sous-jacents.

IV.3.4 Polymorphisme rs2285094 du gène PDGFB : Implications et Corrélations dans le Contexte du SCA

Le PDGFB est un facteur de croissance pour les cellules d'origine mésenchymateuse, y compris les CML, il favorise leur migration vers la lumière d'un vaisseau endommagé. Le PDGFB est libéré par les plaquettes qui forment le thrombus pariétal et par les macrophages activés qui migrent vers une lésion de la paroi artérielle [161], [322].

L'association entre le polymorphisme rs2285094 du gène PDGFB et le syndrome coronarien aigu (SCA) a suscité un intérêt croissant dans le domaine de la génétique cardiovasculaire. Cependant, dans la présente étude, nos résultats indiquent une absence d'association manifeste entre ce polymorphisme et la susceptibilité au SCA.

Les fréquences alléliques observées montrent une distribution comparable entre les patients atteints de SCA et les témoins, avec une fréquence de l'allèle T de 52% pour les deux groupes. Malgré le rôle reconnu du gène PDGFB dans la régulation des cellules musculaires lisses vasculaires, le polymorphisme rs2285094 ne semble pas influencer significativement le risque de SCA dans notre cohorte. Cette observation rejoint les travaux antérieurs de Yaro et al., où les génotypes de rs2285094 n'avaient pas de signification statistique entre le groupe de contrôle, et le groupe présentant un SCA [323].

Toutefois, quelques considérations méritent d'être soulignées. La prédominance du génotype hétérozygote T/C dans notre échantillon suggère la nécessité d'enquêter davantage sur son rôle potentiel dans la protection contre le SCA. De plus, bien que le polymorphisme rs2285094 (T>C) n'ait pas montré d'association directe dans notre étude, d'autres variants du gène *PDGFB* pourraient jouer un rôle dans la susceptibilité au SCA. Une exploration plus approfondie avec des échantillons plus conséquents est donc recommandée pour une analyse complète du gène *PDGFB* en relation avec le SCA.

IV.3.5 SNP rs308395 du gène FGF2 : Implications et Corrélations dans le Contexte du SCA

Le FGF2 est un facteur de croissance qui influence à la fois les cellules musculaires lisses et les cellules endothéliales. Le SNP rs308395 est situé dans la région du promoteur du gène du *FGF2*; il peut donc influencer la liaison des facteurs de transcription et l'expression du bFGF [324], [325]. Historiquement, FGF2 a été associé à l'angiogenèse, la prolifération cellulaire et d'autres processus cellulaires clés [326].

L'augmentation de la prévalence de l'allèle C chez les patients atteints de SCA, par rapport aux témoins, suggère que cet allèle pourrait être un facteur de risque pour la maladie. Bien qu'il n'existe pas une association apparente.

Bien que le polymorphisme rs308395 n'ait pas été largement étudié dans le contexte des maladies cardiovasculaires, il a été associé à un pronostic défavorable chez les patients atteints de lymphome non hodgkinien, en particulier ceux avec le génotype C/C [324]. De plus, des études ont montré une augmentation des niveaux de bFGF suite à l'angioplastie et l'implantation de stent, suggérant une possible implication de ce polymorphisme dans la réponse inflammatoire post-opératoire [327]. Ces observations indiquent le besoin d'approfondir l'étude de l'impact du rs308395 dans divers contextes pathologiques notamment la survenue d'évènement secondaires dans le syndrome coronarien aigu.

V. Conclusions

À l'issue de la présente étude des polymorphismes génétiques liés à la prédisposition au syndrome coronarien aigu, plusieurs points clés étaient soulevés. Les gènes *TGFB1, VEGFA, IGF1, PDGFB et FGF2* renferment des variations génétiques qui semblent avoir un impact notable sur la susceptibilité à développer un SCA.

Quant aux fréquences alléliques et génotypiques des polymorphismes examinés, elles montrent des différences significatives entre les patients atteints du SCA et les témoins sains. De plus, l'analyse des équilibres d'Hardy-Weinberg pour ces polymorphismes dans les groupes de cas et de témoins offre un éclairage précieux sur les dynamiques de population de ces gènes.

L'association manifeste entre certains génotypes et le risque de SCA, illustrée par les différents modèles d'association, souligne le potentiel de ces polymorphismes en tant que biomarqueurs de prédisposition. Les variations génétiques mises en évidence dans les gènes TGFB1 et VEGFA, reconnues pour leur influence significative sur la susceptibilité au syndrome coronarien aigu, représentent des cibles prometteuses pour des recherches futures,

Néanmoins, bien que ces conclusions suggèrent une relation entre ces polymorphismes et la prédisposition au SCA, des recherches supplémentaires sur des cohortes plus étendues et diversifiées renforceront la robustesse et la généralisation de ces observations. Ces découvertes pourraient à terme influencer les directives cliniques, contribuer au développement de stratégies thérapeutiques personnalisées pour les patients à risque de SCA et être intégrées dans le calcul du score de risque génétique dans notre population.

CHAPITRE III : POLYMORPHISMES GÉNÉTIQUES IMPLIQUÉS DANS LA VARIABILITÉ INTERINDIVIDUELLE DE LA RÉPONSE AU CLOPIDOGREL

CHAPITRE III : Polymorphismes génétiques impliqués dans la variabilité interindividuelle de réponse au clopidogrel

I. Introduction

L'efficacité et la sécurité de la pharmacothérapie dépendent de l'absorption, du métabolisme et de l'élimination des médicaments. Le métabolisme des médicaments est principalement déterminé par l'effet des enzymes du groupe du cytochrome P450, une superfamille (E.C. 1.14.14.1) de mono-oxygénases contenant de l'hème, qui utilisent le NADPH et l'oxygène pour leurs modifications de substrat [328]. Les gènes codant pour les enzymes du cytochrome P450 - *CYP2C9, CYP2D6, CYP2B6, CYP3A4, CYP3A5 et CYP2C19* - sont responsables du métabolisme de près de la moitié des classes de médicaments (antiplaquettaires, anticoagulants, antihypertenseurs, antiangineux, hypolipidémiants, antiarythmiques, psychotropes, antidiabétiques, antitumoraux et autres) [329].

Le polymorphisme génétique est une autre source de variabilité interindividuelle connue pour influencer la réponse aux médicaments. En effet, considérant que 60 à 80 % des médicaments commercialisés sont métabolisés par des enzymes polymorphes, les effets indésirables des médicaments ainsi que les échecs thérapeutiques peuvent être attribués à des variations génétiques des enzymes de métabolisation des médicaments [329], [330]. Par exemple, le CYP2C19*17 était 42 et 24 fois plus fréquent chez les Européens méditerranéens et du Sud et chez ceux du Moyen-Orient que chez les Asiatiques de l'Est ($P<0,001$, dans les deux cas) [331]. S'il semble prématuré de recommander l'application d'un test génétique avant le début de la pharmacothérapie, la pharmacogénétique pourrait déjà aider à identifier la bonne molécule pour le bon patient.

Les variant *CYP2C19*2, CYP2C19* et CYP2C19*17 CYP2C19** sont les polymorphismes les plus courants du gène CYP2C19. Les variant *CYP2C19*2 et CYP2C19*3* sont associés à une activité enzymatique réduite de la protéine CYP2C19, tandis que le variant *CYP2C19*17* est associé à une activité enzymatique accrue [332]. Ces polymorphismes génétiques jouent un rôle important dans la pharmacocinétique, et dans l'efficacité clinique du clopidogrel [333].

Dans ce deuxième volet notre objectif principal était d'évaluer les effets des gènes *ABCB1, CYP1A2, CYP2B6, CYP2C8, CYP2C9, CYP2C19, CYP3A4, CYP3A*5, impliqués dans le transport et le métabolisme du clopidogrel, et de déterminer l'association de leurs polymorphismes avec la réponse au clopidogrel.

II. Matériels et méthodes

II.1 Population étudiée

- Il s'agit d'une étude prospective effectuée pendant la période allant de mai 2017 à février 2018 concernant des patients suivis au service de cardiologie du CHU Hassan II Fès.

II.1.1 Critères d'inclusion

- Patients diagnostiqués pour la première fois d'un Syndrome coronarien aigu, présentant un STEMI, ou un NSTEMI
- Patients âgés de plus de 18 ans.
- Patients qui n'ont pas pris un anti-agrégant plaquettaire au moins 7 jours avant le recrutement.

II.1.2 Critères d'exclusion

- Patients traités par un anti-agrégant plaquettaire durant les 7 jours avant leur recrutement.
- Patients avec STEMI et qui ont bénéficié d'une revascularisation par fibrinolyse ou angioplastie primaire.
- Patients dont les données cliniques et paracliniques sont incomplètes.
- Patients incapables de consentir ou ayant refusé de participer à l'étude

II.1.3 Collecte des données et méthode d'échantillonnage

Les données des caractéristiques démographiques et cliniques des patients, leur traitement actuel et leur prise en charge clinique ont été recueillies à partir de la base de données informatisée de l'hôpital et des dossier médicaux du service de cardiologie du CHU Hassan II Fès (Annexe 1 : Fiche de recueil des données des patients).

II.2 Tests de fonction plaquettaire VerifyNow P2Y12 assay

Le VerifyNow P2Y12 assay (Accumetrics, San Diego, CA, Etats-Unis) est un test développé pour l'évaluation de la fonction plaquettaire globale. Le test est effectué à partir de sang complet citraté, il est rapide (< 5 minutes) et peut être aisément réalisé en laboratoire ou sur le lieu de soins. Il est conçu pour mesurer le blocage du récepteur plaquettaire P2Y12 par les thiénopyridines.

II.2.1 Principe du test VerifyNow P2Y12

Il se base sur la capacité des plaquettes à se lier au fibrinogène en utilisant des billes recouvertes de fibrinogène. Les mesures sont faites par analyse optique turbidimétrique. L'échantillon de sang est exposé à deux agonistes spécifiques (ADP et prostaglandine E1 – PGE1) qui sont incorporés dans le canal de mesure pour déclencher l'agrégation plaquettaire.

La transmission lumineuse augmente lorsque les plaquettes activées agrègent les billes recouvertes de fibrinogène (figure 38). Les résultats sont exprimés en fonction du changement du signal optique *P2Y12 Reaction Units* (PRU). Cela correspond à la mesure d'une pente de courbe d'inhibition.

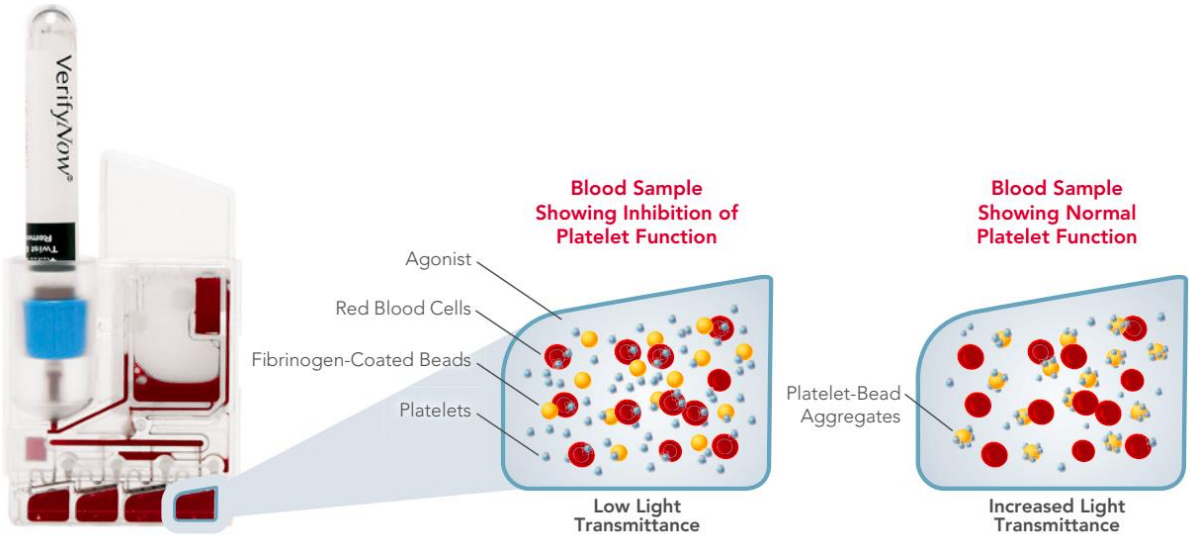


Figure 36: schéma explicatif de l'agrégométrie par transmission lumineuse du test VerifyNow. Accriva Diagnostics©2015

II.2.2 Protocol expérimental

Pour chaque patient admis le test de réactivité plaquettaire a été réalisé 8 heures après l'administration de la dose de charge de 300 mg clopidogrel

Les patients dont le PRU est inférieur à 208 étaient considérés comme des patients répondeurs et ceux dont le PRU est supérieur à 208 étaient considérés comme des non-répondeurs à la dose de charge de clopidogrel.

II.3 Étude des polymorphismes génétiques

II.3.1 Choix des gènes et des polymorphismes étudiés

Dans le but de déterminer les polymorphismes génétiques les plus impliqués dans la pharmacologie du clopidogrel nous avons exploré la littérature dans plusieurs bases de données telles que Scopus, ScienceDirect et PubMed. La recherche a porté sur les grandes études multicentriques.

En se basant sur ces données, nous avons sélectionné les variant des gènes cytochrome P450 - *CYP2C9, CYP2B6, CYP3A4, CYP3A5* et *CYP2C19* et le gène *ABCB1* (tableau 29).

Tableau 29: liste complète des variants analysés et de leurs conséquences fonctionnelles

Gènes	Allèle	Variation	Numéro rs	Conséquence	Méthode de génotypage
ABCB1	-	C3435T	rs1045642	Variant synonyme	Séquençage Sanger
CYP1A2	*1C	-3860 G>A	rs2069514	Variant de la région 5'UTR	GenoChip CYP+
	*1F	-163 C>A	rs762551	Variant intronique	GenoChip CYP+
CYP2B6	*6	516 G>T	rs3745274	_	GenoChip CYP+
	*6	785 A>G	rs2279343	_	GenoChip CYP+
CYP2C9	*2	430 C>T	rs1799853	Variant missense	GenoChip CYP+
	*3	1075 A>C	rs1057910	Variant missense	GenoChip CYP+
CYP2C19	*2	430 C>T	rs4244285	Variant synonyme	Séquençage Sanger et GenoChip CYP+
	*3	1075 A>C	rs4986893	Variant non sens	Séquençage Sanger et GenoChip CYP+
	*17	-806 C>T	rs12248560	Variant intronique	Séquençage Sanger et GenoChip CYP+
CYP3A4	*1B	-392 A>G	rs2740574	_	GenoChip CYP+
	*22	15389 C>T	rs35599367	Variant intronique	GenoChip CYP+
CYP3A5	*2	27289 C>A	rs28365085	_	GenoChip CYP+
	*3	6986 A>G	rs776746	Variant du site d'épissage	GenoChip CYP+

II.3.1.1 Phénotypage : applications dans l'étude des polymorphismes impliqués dans la pharmacogénétique du clopidogrel

Afin de simplifier l'analyse, les génotypes ont été classés selon la définition des allèles du *Clinical Pharmacogenetics Implementation* (CIPC), les génotypes des CYP ont été classés selon leur effet connu sur la fonction enzymatique (allèle de gain de fonction ou de perte de fonction) [334] [335] [336].

Les *CYP1A2* *1C, *1 et *1F ont reçu des scores d'activité de 0,5, 1 et 1,5, respectivement. On a attribué phénotype UM aux patients présentant le génotype *CYP1A2* *1F/*1F. Les patients présentant les génotypes *CYP1A2* *1/*1F et *1C/*1F ont été classés comme ayant un

phénotype *CYP1A2* NM/RM (Normal Metabolizer/Rapid Metabolizer), alors que le génotype *CYP1A2* *1C/*1C a été classé dans la catégorie PM [337].

Il a été démontré que l'allèle *CYP2B6*6A (c.516G>T, c.785A>G) [338], modifie la liaison au substrat et/ou l'activité catalytique [339], et diminue la réponse au clopidogrel [340]. Par conséquent, les génotypes *CYP2B6*6A ont été classés en PM (porteurs de 2 mutations ou d'une mutation en homozygotie), IM (porteurs de *CYP2B6*6A en hétérozygotie) et NM (porteurs du génotype *1/*1).

De plus, les génotypes CYP2C9 ont également été classés en PM (porteurs de 2 allèles mutés), IM (porteurs de *2 ou *3 en hétérozygotie) et NM (porteurs du génotype *1/*1) [341] [226].

Pour les génotypes CYP2C19, ils ont été divisés en trois groupes : NM (*1/*1), IM-PM (*1/*2, *2/*2 et *2/ *17) et UM (*1/*17 et *17/*17). Les génotypes de *CYP2C9* ont également été classés comme NM (*1/*1), IM-PM (*1/*2, *1/*3, *2/*2 et *2/*3) [334].

De plus, les patients porteurs du génotype *CYP3A4* *1/*1 ont été classés comme NM, et les patients porteurs des génotypes *CYP3A4* *1/*22 et *22/*22 ont été classés comme IM-PM [336]. Les patients porteurs du génotype *CYP3A5* *1/*3 ont été classés comme expresseur et les patients porteurs du génotype *CYP3A5* *3/*3, comme non-expresseur [334]. Pour le génotype *CYP3A4*1B (-392A>G), aucune preuve solide de l'effet de la mutation n'a été décrite dans la littérature.

Finalement, le génotype *ABCB1* C3435T a été catégorisé comme sauvage en l'absence de mutation, et muté en cas de génotype hétérozygote ou homozygote. La mutation *ABCB1* C3435T a été associée à une diminution de l'absorption du clopidogrel.

II.3.2 Purification de l'ADN

L'ADN a été purifié à partir du sang total en utilisant le QIAamp DNA Mini Kit, conformément aux instructions détaillées du protocole figurant à la page 62.

II.3.3 Génotypage par le test GenoChip CYP+

Le test **GenoChip CYP+** est une technique de génotypage facile, rapide et qui permet de détecter plusieurs variants en une seule réaction.

II.3.3.1 Principe du test GenoChip

Le test GenoChip est basé sur un MAAT (MacroArray Analysing Tools). La puce GenoChip est intégrée de façon permanente au fond d'un tube de 1,5 ml (Figure 39). La surface de base de la puce s'étend sur seulement 3x3 mm et contient des sondes

oligonucléotidiques ou des anticorps spécifiques à la séquence, selon l'application. Les séquences du gène cible sont amplifiées par PCR.

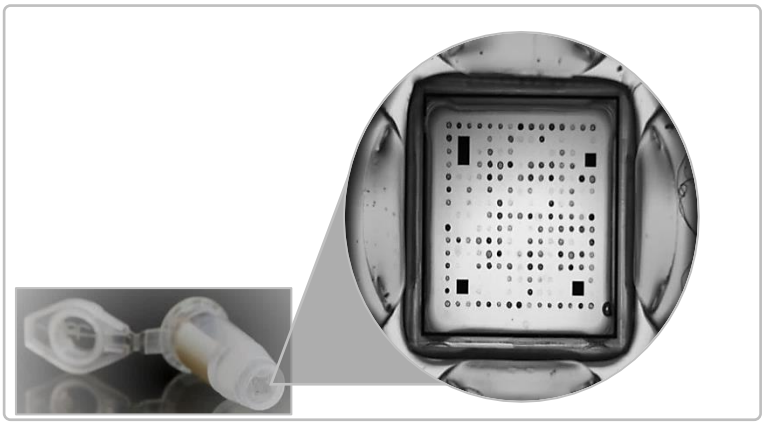


Figure 37 : Tube de réaction standard de 1.5ml avec la puce intégrée au fond.

Après une étape de dénaturation, les produits d'amplification sont transférés dans le tube de la puce, les produits amplifiés se lient aux sondes immobilisées sur la matrice de la puce. Une étape de lavage élimine les fragments non spécifiquement liés.

L'étape suivante consiste à ajouter le mélange de conjugaison, qui se lie aux complexes sonde-fragment de PCR.

Une autre étape de lavage élimine les résidus du mélange de conjugaison non liés. L'ajout ultérieur du substrat entraîne une réaction de précipitation aux endroits où l'ADN est lié.

Le schéma de précipitation est détecté par le lecteur d'image et interprété par le logiciel correspondant, et les résultats sont donnés sous forme de rapport, (Figure 40)

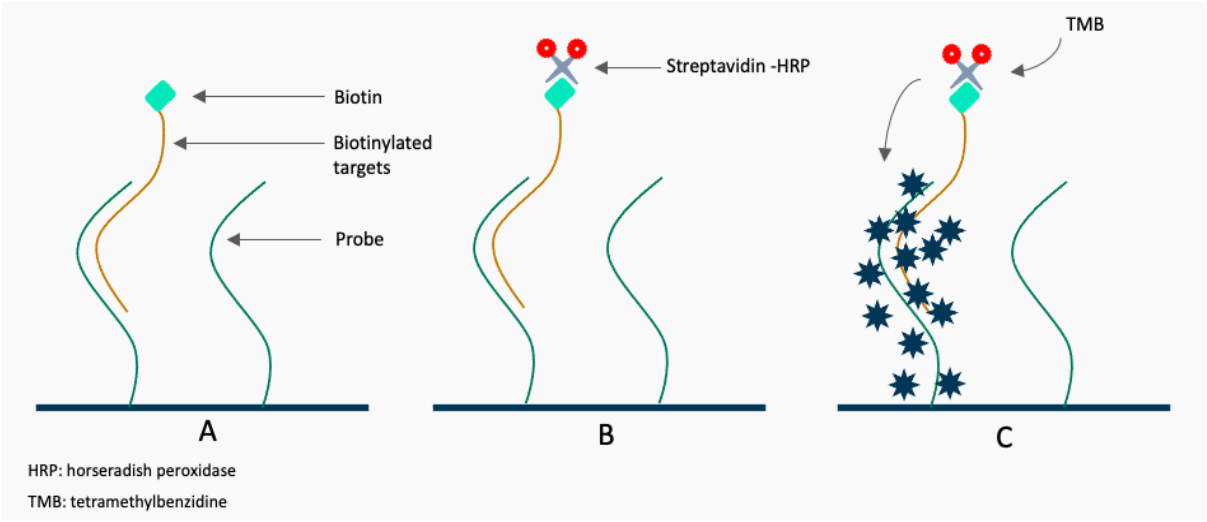


Figure 38 : Présentation schématique de la puce GenoChip CYP+ :

Des oligonucléotides, spécifiques à la sélection des SNP, sont immobilisés sur la puce GenoChip : (A) Hybridation des cibles biotinylées avec les sondes. (B) Conjugaison, Les cibles hybridées sont marquées à l'aide d'un streptavidine-HRP conjugué. (C) Précipitation, le

complexe streptavidine-HRP initie le clivage de la tétraméthyl benzidine ajoutée en un précipité coloré (modifié de PharmGenomics GmbH).

Le kit de test CYP+ est un test biomoléculaire pour l'analyse des mutations et des polymorphismes dans les gènes du Cytochrome *P450 2D6, 2C9, 2C19, 3A4, 3A5, 1A2, 2B6 et VKORC1* à partir de l'ADN génomique. Les variants génétiques étudiés sont associés à une activité accrue, réduite ou nulle des enzymes respectives. Les allèles et variations résumés dans le tableau 30 sont détectés par le test GenoChip CYP+

Tableau 30: Variants génétiques analysées par le kit GenoChip CYP+

Gènes	**Allèle**	**Variation**	**Numéro rs**
CYP1A2	*1C	-3860G>A	rs2069514
	*1F	-163C>A	rs762551
CYP2B6	*6	516G>T	rs3745274
	*6	785A>G	rs2279343
CYP2C9	*2	430C>T	rs1799853
	*3	1075A>C	rs1057910
CYP2C19	*2	430C>T	rs4244285
	*3	1075A>C	rs4986893
	*17	-806C>T	rs12248560
CYP3A4	*1B	-392A>G	rs2740574
	*22	15389C>T	rs35599367
CYP3A5	*2	27289C>A	rs28365085
	*3	6986A>G	rs776746

II.3.3.2 Protocole expérimental

A. PCR Multiplex

L'amplification de l'ADN cible a été réalisées dans le milieu réactionnel détaillé dans tableau 31.

Tableau 31: Préparation des Mix de la PCR Multiplex du test GenoChip CYP+

PCR-Mix 1

Reagent	Volume per 25 µL reaction
DNA (min. 110 ng - max. 200 ng)	**11 µL**
PCR Mix A (green lid)	**13.7 µL**
Polymerase (purple lid)	**0.3 µL**

PCR-Mix 2

Reagent	Volume per 25 µL reaction
DNA (min. 40 ng - max. 160 ng)	**4 µL**
PCR Mix B (yellow lid)	**20.7 µL**
Polymerase (purple lid)	**0.3 µL**

PCR-Mix 3

Reagent	Volume per 25 µL reaction
DNA (min. 40 ng - max. 160 ng)	**4 µL**
PCR Mix C (red lid)	**20.7 µL**
Polymerase (purple lid)	**0.3 µL**

PCR-Mix 4

Reagent	Volume per 25 µL reaction
DNA (min. 40 ng - max. 160 ng)	**4 µL**
PCR Mix D (blue lid)	**20.7 µL**
Polymerase (purple lid)	**0.3 µL**

PCR-Mix 5

Reagent	Volume per 25 µL reaction
DNA (min. 40 ng - max. 160 ng)	**4 µL**
PCR Mix E (white lid)	**20.7 µL**
Polymerase (purple lid)	**0.3 µL**

La PCR multiplex a été effectuée selon les conditions détaillées dans le Tableau 32.

Tableau 32: Programme du thermocycleur de la PCR multiplex GenoChip CYP+

	Température [°C]	Durée [mm:sec]	Cycles
Chauffage du couvercle	**99**	**--**	**1 x**
Dénaturation initiale	**94**	**03:00**	**1 x**
Dénaturation	**94**	**00:30**	
Hybridation des amorces	**63**	**00:30**	**10 x**
Elongation	**72**	**03:00**	
Élongation	**94**	**03:00**	
Hybridation des amorces	**60**	**00:30**	**20 X**
Élongation	**68**	**00:30**	
Élongation Finale	**68**	**07:00**	**1 x**
Chauffage du couvercle	**Off**	**--**	**--**
Stockage	**8**	∞	**1 x**

B. Protocole de préparation de la puce

- **Préparation des échantillons d'ADN**

▪ 2 µl de chaque produit PCR (A,B,C et D) sont ajoutés dans un tube de réaction PCR de 200µl.

▪ 60 µl de ROM sont ajoutés, puis le mélange est vortexé pendant 30 secondes.

▪ Le mélange est dénaturé à 95 °C pendant 2 minutes dans le thermocycleur.

▪ 100 µl de tampon d'hybridation sont immédiatement ajoutés au produit PCR dénaturé, puis le mélange est homogénéisé par pipetage de haut en bas.

▪ Le mélange est transféré complètement dans le tube de la puce, en évitant de toucher le fond pour ne pas endommager la puce.

- **Hybridation**

▪ Le tube Array contenant l'échantillon est incubé à 55 °C et 550 rpm pendant 60 minutes dans le thermoshaker.

- **Étape de lavage après l'hybridation**

▪ Le tube de la matrice est retiré du thermoshaker.

▪ Le thermoshaker est réglé à 50 °C.

▪ Une fois la température cible atteinte, le tampon d'hybridation est retiré complètement.

▪ 500 µL de tampon de lavage 1 sont ajoutés dans le tube Array avec précaution.

▪ L'incubation est réalisée à 50 °C et 550 rpm pendant 5 minutes dans le thermoshaker.

- **Étape de conjugaison**

▪ Le tube de la matrice est retiré du thermoshaker.

▪ Le tampon de lavage 1 est complètement retiré.

▪ 100 µL de mélange de conjugaison sont ajoutés dans le tube Array.

▪ L'incubation est effectuée à 21 °C et 550 rpm pendant 15 minutes.

▪ Le mélange de conjugaison est retiré complètement.

▪ 500 µL de tampon de lavage 2 sont ajoutés délicatement dans le tube Array.

▪ L'incubation est réalisée à 21 °C et 550 rpm pendant 5 minutes.

- **Précipitation**

▪ Le tampon de lavage 2 est complètement retiré.

▪ 100 µL de substrat sont ajoutés dans le tube Array, puis une incubation est réalisée pendant 5 minutes à 21 °C dans le thermoshaker.

▪ Le substrat est complètement retiré, et 100 µL de tampon de lavage 2 sont immédiatement ajoutés.

▪ Le tampon de lavage 2 est complètement retiré avant de procéder à l'évaluation.

▪ Le tube Array est placé dans le lecteur d'image pour l'étape suivante.

C. Évaluation des résultats

▪ Placer le tube Array dans le lecteur d'images et exécutez le logiciel correspondant (CYP+),

▪ La photographie obtenue du motif de taches sur la puce est interprétée par le logiciel correspondant (Annexe 10).

Les résultats sont fournis sous forme d'un rapport comme illustrer dans l'annexe 11.

II.3.4 Séquençage Sanger

Le séquençage Sanger reste la méthode de référence privilégiée pour confirmer et valider les résultats du génotypage obtenus à l'aide d'autres techniques. On a choisi de séquencer les trois régions qui comprennent les variants du gène *CYP2C19, *2, *3, *17*.

Le séquençage par la méthode Sanger avait deux buts dans notre étude,

- Le premier but était la recherche de la mutation ABCB1 C3435T, qui ne fait pas partie des variants détectés par la technique GenoChip CYP+.

- Le deuxième but était la validation des résultats obtenus par la nouvelle technique GenoChip CYP+.

II.3.4.1 Séquences des amorces

Tableau 33: Couples d'amorces choisis pour le séquençage Sanger

	Séquence d'amorce 5'>3'	Tm (°C)	Taux de GC
ABCB1 C3435T	F-AAGTGTGCTGGTCCTGAAGTT	**60**	**47,6**
	R-AAGGGTGTGATTTGGTTGC		**47,4**
CYPC19*2	F- CAACCAGAGCTTGGCATATT	**62**	**45**
	R- TACGCAAGCAGTCACATAAC		**45**
CYPC19*3	F- CCCTGTGATCCCACTTTCAT	**62**	**50**
	R- ATGGCTGTCTAGGCAAGACT		**50**
CYPC19*17	F- GACCAGGAGGTCAAGAAGCC	**65**	**60**
	R- ACAGCAGCCTAAACATGAAATAGC		**41,7**

II.3.4.2 Réaction de polymérisation en chaine (PCR)

Les amplifications étaient réalisées dans un milieu réactionnel de 25 µl. Pour chaque réaction le mélange réactionnel contient 15,8µl d'eau (nuclease-free water), 5µl de DreamTaq Green Buffer (incluant 20 mM MgCl2), 1 µl de dNTP (0,3 mM), 0,2 µl de DreamTaq DNA Polymérase (5 U/µL),1 µl de chaque amorce (10 µM) et 1 µl d'ADN (100 ng/µl).

Pour contrôler la qualité de la manipulation et s'assurer de l'absence des contaminants d'acides nucléiques, un témoin négatif exempt d'ADN a été préparé au cours de chaque essai de PCR.

Les réactions PCR ont été réalisées à l'aide du Thérmocycleur PCR ProFlex (Applied Biosystems, Forest City, CA, USA) dans les conditions détaillées sur le tableau 34.

Ce protocole a nécessité initialement une optimisation afin d'obtenir les amplicons attendus.

Tableau 34: programme du thermocycleur de la PCR pour le séquençage Sanger

		Température [°C]	Durée [mm:sec]	Cycles
Chauffage du couvercle		**99**	**--**	**1 x**
Dénaturation initiale		**95**	**03:00**	**1 x**
Dénaturation		**94**	**00:30**	**35 x**
Hybridation	**CYPC19*2**	**62**	**00:30**	
	CYPC19*3	**62**		
	CYPC19*17	**65**		
	ABCB1 C3435T	**60**		
Élongation		**72**	**00:60**	
Élongation Finale		**72**	**09:00**	**1 x**
Chauffage du couvercle		**Off**	**--**	**--**
Stockage		**8**	∞	**1 x**

Pour apprécier la qualité et la quantité des amplicons, les produits PCR obtenus sont soumis à une électrophorèse sur gel d'agarose 2%.

II.3.4.3 Séquençage par la méthode de Sanger

Après la PCR, les produits obtenus doivent être préparés pour séquençage, ce processus est constitué de trois étapes : Purification du produit PCR, amplification de la séquence en présence des nucléotides marqués, et enfin la purification des produits de la réaction de séquence pour éliminer l'excès de dNTPs non incorporés.

A. Purification des produits PCR

L'étape de purification permet l'élimination d'excès des dNTPs et d'amorces non consommés durant la PCR, ceci grâce à *l'exoSAP It* qui est un mélange de deux enzymes hydrolytiques, l'exonucléase I et la phosphatase alcaline.

Pour la purification des produits PCR, 2,5 µl d'exoSAP-IT sont ajoutés directement à 5,5 µl de produit PCR. Le mélange est incubé pendant 2 minutes à 37 °C et à 80 °C pendant 3 minutes.

B. réaction de séquence

Pour la réalisation de la réaction de séquence, nous utilisons le BigDye Terminator v3.1 cycle sequencing kit (Applied Biosystems, CA, USA), (tableau 35).

Tableau 35: Protocole de la réaction de séquence Sanger

Réactifs	Volumes (µl)
Eau	**3**
Tampon	**1**
Big Dye terminator V3.1	**2**
Amorce sens ou anti-sens	**1**
Produit PCR purifié	**4**

Le programme de la réaction de séquence est résumé dans le tableau 36.

Tableau 36: programme du thermocycleur de la réaction de séquence

	Température [°C]	Durée [mm:sec]	Cycles
Dénaturation	**96**	**00:50**	**25 x**
hybridation	**50**	**00:05**	
Élongation	**60**	**06:00**	
Stockage	**8**	∞	**1 x**

La réaction de séquence est suivie d'une étape de purification, qui vise à éliminer tout excès de réactif (tableau 37).

Tableau 37: Protocole de purification des produits de séquençage

Réactifs	Volumes (µl)
X-terminator	**10**
SAM (tampon)	**45**
Produit de séquence	**10**

C. Électrophorèse capillaire sur le séquenceur 3500Dx Genetic Analyzer

Une électrophorèse capillaire se fait ensuite de façon automatique par le séquenceur 3500Dx Series Genetic Analyzer (Applied Biosystems).

A la fin du séquençage nous avons obtenu des séquences nucléotidiques qui correspondent aux régions amplifiées contenants les variants CYP2C19, *2, *3, *17, ABCB1 C3435T. Ces

différentes séquences ont été sujettes à une analyse bio-informatique dans le but de rechercher la présence de ces variants.

II.3.4.4 Analyse bio-informatique

L'analyse des séquences obtenues se fait par alignement aux séquences de référence présentes dans la base de données de NCBI par le logiciel « Nucleotide BLAST » (http://blast.ncbi.nlm.nih.gov). Le logiciel blast permet le calcul du pourcentage de similarité entre toutes les séquences incluses

II.4 Analyse statistique

L'ensemble des analyses statistiques a été conduit en utilisant le logiciel SPSS Inc, Chicago, USA. Notre première démarche a été d'évaluer l'équilibre de Hardy-Weinberg.
À la suite, nous avons recherché les associations possibles entre la distribution des génotypes ou des phénotypes et la réponse au clopidogrel. Nous avons utilisé le test du chi-carré. En cas d'effectifs insuffisants, nous avons privilégié le test exact de Fisher en raison de sa précision dans les petits échantillons.

Par ailleurs, afin de déceler les éventuelles différences des paramètres quantitatifs entre les différents individus de notre population, nous avons utilisé l'analyse de variance à sens unique (ANOVA). Dans un souci de rigueur scientifique, le seuil de signification a été fixé à une valeur P inférieure à 0,05, traduisant ainsi une différence ou une association statistiquement significative.

III. Résultats

III.1 Données démographiques des patients

Durant la période de mai 2016 à octobre 2017, 55 patients, atteints de syndromes coronariens aigus traités par le clopidogrel à raison de 300 mg de dose de charge, ont été recrutés

III.1.1 Répartition selon l'âge

L'âge moyen des patients au moment du diagnostic était de 58,47 ± 8,67 ans avec une tranche d'âge allant de 31 à 73 ans.

III.1.2 Répartition selon le sexe

La population étudiée est caractérisée par une prédominance du sexe masculin, 76,4 % étaient des hommes (figure 39).

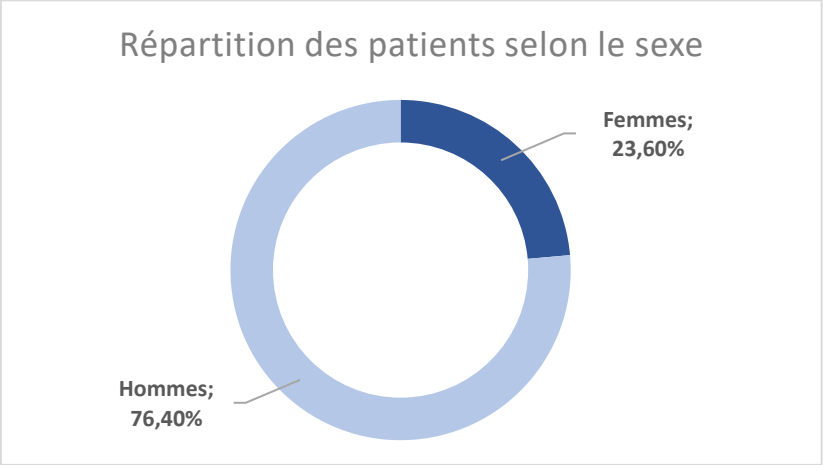


Figure 39: Répartition des patients selon le sexe

III.1.3 Facteurs de risques cardiovasculaires

Les facteurs de risque cardio-vasculaires les plus fréquemment retrouvés dans notre population étaient le tabagisme présent chez 34 patients (61,8 %), le diabète sucré chez 20 patients (36,6 %) et l'hypertension retrouvée chez 14 patients (25,5 %) (figure 40).

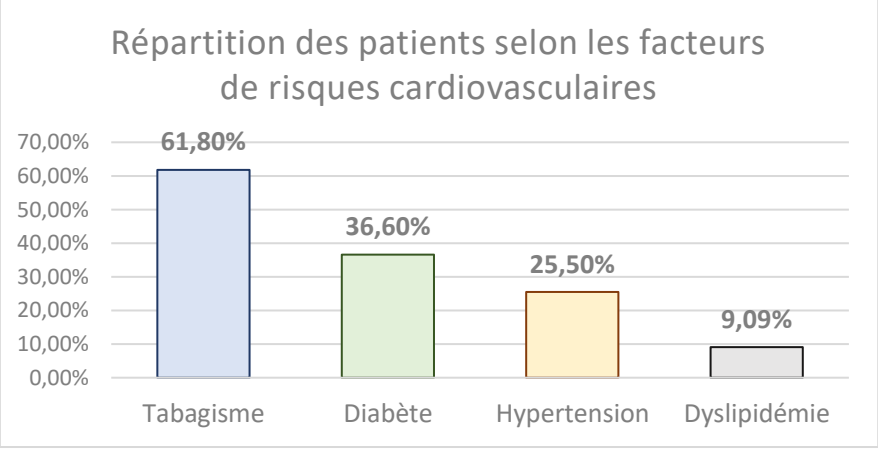


Figure 40: Répartition des patients selon les facteurs de risques cardiovasculaires

III.1.4 Diagnostic selon l'électrocardiogramme

Le sus-décalage du segment ST a été constaté chez 27% des cas alors que 73% présentaient un infarctus du myocarde sans sus-décalage du segment ST (NSTEMI) (figure 41).

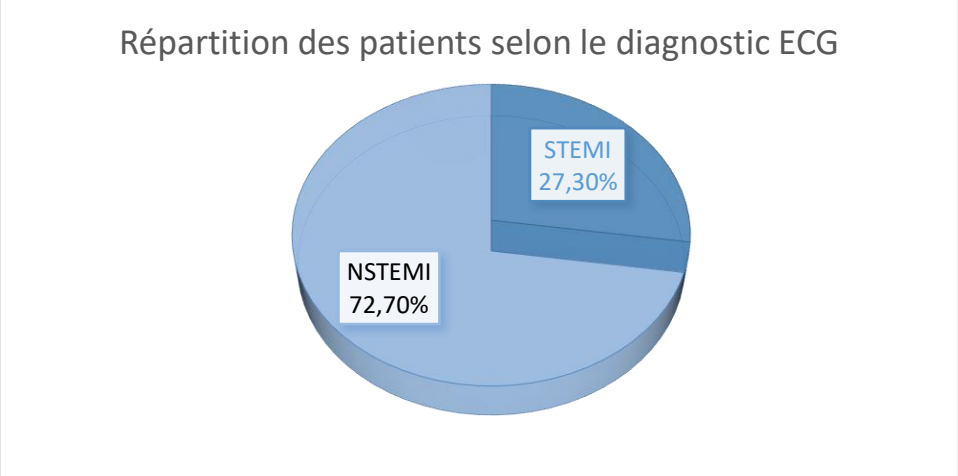


Figure 41: Répartition des patients selon le diagnostic ECG

III.1.5 Interactions médicamenteuses

La quasi-totalité des patients ont été traités par énoxaparine (89%), statines (94,5%), 47,3% des patients ont été traités par les bêta-bloquants, 38,2% par l'inhibiteur de l'AEC et 14,5% par les l'inhibiteurs de la pompe à protons. Tous les patients ont été traités par l'acide acétylsalicylique (figure 42).

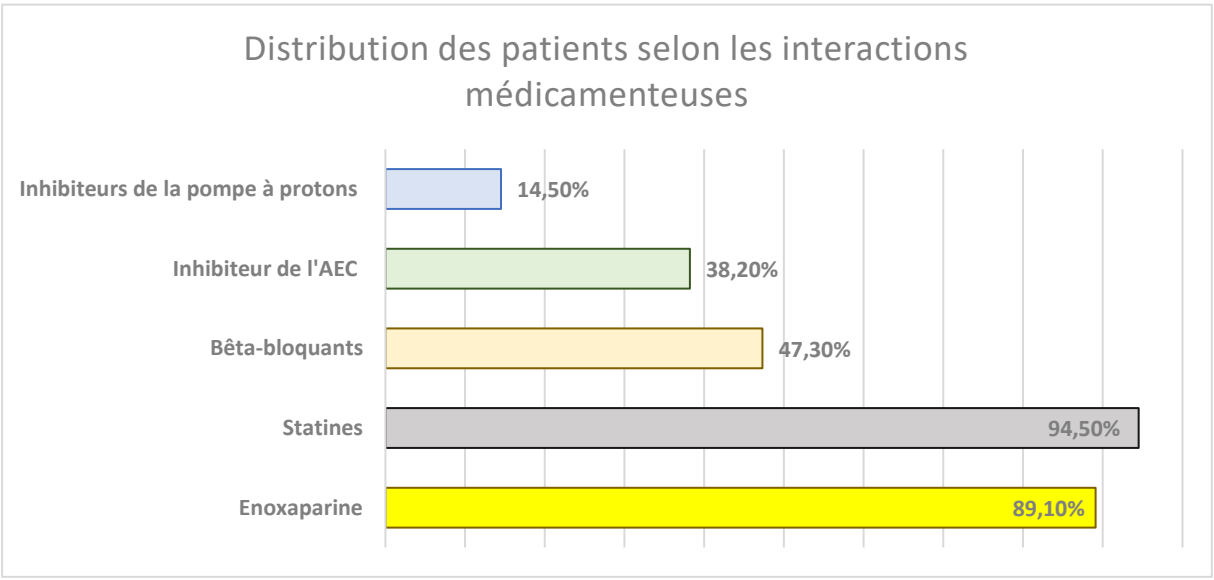


Figure 42: Distribution des patients selon les interactions médicamenteuses

III.2 Réponse au clopidogrel

Les patients ont été subdivisés selon les résultats du test VerifyNow en deux groupes : un groupe de répondeurs au clopidogrel (RC) avec un PRU ≤ 208 et un groupe de non-répondeurs au clopidogrel (NRC) avec un PRU>208, 19 patients. 34,55% de patients étaient des non-répondeurs, tandis que 65,45% l'étaient (figure 43).

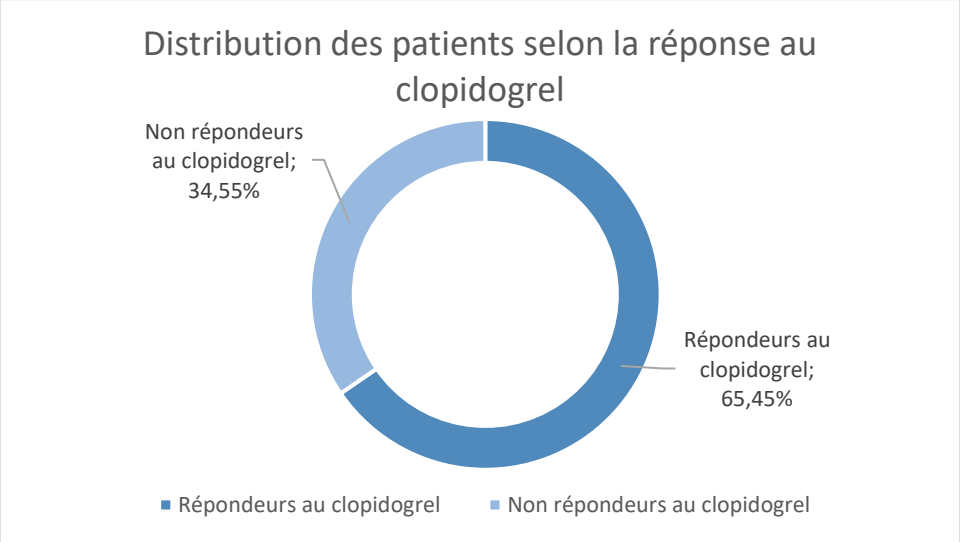


Figure 43: Distribution des patients selon la réponse au clopidogrel

III.3 Distribution des caractéristiques clinico-pathologiques selon la réponse au clopidogrel

L'analyse comparative des caractéristiques clinico-pathologiques entre les RC (n = 36) et les NRC (n = 19) a révélé des similitudes significatives dans l'âge, le poids corporel, le périmètre abdominal, l'IMC, le nombre de plaquettes, le score GRACE, les facteurs de risque cardiovasculaire et l'utilisation des traitements hospitalier. Cependant, un lien significatif avec STEMI été observées chez les RC (p = 0.042) (tableau 38).

Tableau 38: Répartition des caractéristiques des patients dans les deux groupes répondeurs et non répondeurs au clopidogrel

Caractéristiques	Total (n = 55)	Répondeurs au clopidogrel (n = 36)	Non-répondeurs au clopidogrel (n = 19)	Valeur *P*
Âge, ans	58.47±8.67	57.5±9.3	60.4±7.1	0.242
Hommes, n (%)	42 (76.4)	30 (83.3)	12 (63.2)	0.180
Poids corporel, kg	72.24±12.16	72.03±12.98	72.52±11.20	0.884
Périmètre abdominal, Cm	94.87±14.52	94.03±12.83	96.04±16.83	0.617
IMC, kg/m^2	26.49±4.6	26.25±4.5	26.95±4.9	0.600
Facteurs de risque cardiovasculaire, n (%)				
Diabète sucré	21 (38.2)	11 (30.6)	10 (52.6)	0.109
Hypertension	14 (25.5)	8 (22.2)	6 (31.6)	0.666
Tabagisme	34 (61.8)	23 (63.9)	11 (57.9)	1.00
Dyslipidémie	5 (9.1)	3 (8.3)	2 (10.5)	1.00
Plaquettes, 10^3/µl	233.109±70.38	230.750±62.12	237.579±85.58	0.736
STEMI, n (%)	15 (27.3)	12 (80)	3 (20)	0.042
Score GRACE	124.22±32.98	125.9±34.7	121.1±30.2	0.602
Traitement hospitalier, n (%)				
Enoxaparin	49 (89.1)	32 (88.9)	17 (89.5)	1.000
Statin	52 (94.5)	34 (94.4)	18 (94.7)	1.000
IPP	8 (14.5)	4 (11.1)	4 (21.1)	0.426
Inhibiteur de l'AEC	21 (38.2)	14 (38.9)	7 (36.8)	0.882
Bêta-bloquant	26 (47.3)	16 (44.4)	10 (52.6)	0.563

III.4 Distribution des SNP des gènes CYP450 et ABCB1 dans la population étudiée

Treize variants génétiques des *CYP450* ont été étudiés, notamment CYP1A2*1F, *1C ; CYP2B6*6A (516G>T, 785A>G) ; CYP2C9*2, *3 ; CYP2C19*2, *3, *17 ; CYP3A4*1B, *22 ; CYP3A5*2, *3.

Les variants CYP2C9*3, CYP2C19*2, CYP2C19*3, CYP3A4*22, et CYP3A5*2 n'ont pas été identifiés dans la population étudiée, tandis que neuf autres allèles ont été détectés, la distribution de ces polymorphismes génétiques est présentée dans le tableau 39.

Il est intéressant de noter que le variant CYP3A5*3 a été détecté chez tous les patients, le génotype hétérozygote *1/*3 chez 15 patients (27,3 %) et le génotype homozygote *3/*3 chez 40 patients (72,7 %).

La majorité des patients présentaient au moins une mutation du gène *CYP1A2,* dont 24 (43,6 %) étaient porteurs du génotype *1/*1F, 14 (25,5 %) du génotype *1F/*1F et 11 (20 %) du génotype *1C/*1F.

15 sujets étaient porteurs du génotype *1/*17 dans le gène *CYP2C19* (27,3 %) de la population étudiée. Dans le gène *CYP2B6*, la mutation hétérozygote (516G>T) a été détectée chez 20 cas (36,4%), le génotype (785A>G) AG a été trouvé également chez 20 cas (36,4%). Pour le *CYP3A4*, la présence de l'allèle *1B concernait 34,5 % des sujets.

Tableau 39: Distribution de la prévalence du génotype et de l'allèle dans la population étudiée

Genotype SNP	**Population n=55 No (%)**
CYP1A2	
*1/*1	6 (10.9%)
*1/*1F	24 (43.6%)
*1F/*1F	14 (25.5%)
*1C/*1F	11 (20%)
CYP2B6 (516G>T)	
GG	35 (63.6%)
GT	20 (36.4%)
CYP2B6 (785A>G)	
AA	35 (63.6%)
AG	20 (36.4%)
CYP2C9	
*1/*1	49 (89.1%)
*1/*2	6 (10.9%)
CYP2C19	
*1/*1	40 (72.7%)
*1/*17	15 (27.3%)
CYP3A4	
*1/*1	36 (65.5%)
*1/*1B	19 (34.5%)
CYP3A5	
*1/*3	15 (27.3%)
*3/*3	40 (72.7%)
ABCB1 C3435T	
CC	21 (38.2%)
CT	29 (52.7%)
TT	5 (9.1%)

III.5 Influence des variants des gènes CYP450 et ABCB1 sur la réponse au clopidogrel

Dans la présente étude, nous avons examiné les effets des variants des gènes *CYPs et ABCB1* sur la réponse des patients à la dose de charge de 300 mg de clopidogrel. La distribution des génotypes des *CYP et ABCB1* selon la réponse au clopidogrel est présentée dans le tableau 40.

Comme décrit précédemment, la classification génotypique des CYP a été utilisée : *CYP1A2* (NM/RM, UM), *CYP2B6**6A (NM/IM, PM), *CYP2C9* (NM, IM), *CYP2C19* (NM, UM), CYP3A5 (Exprimeurs, Non-exprimeurs).

Parmi les patients porteurs du variant *ABCB1* C3435T, 52,7 % présentent la mutation hétérozygote (CT), 9,1 % ont la mutation homozygote (TT), tandis que 38,2 % des patients possèdent le génotype sauvage (CC) (Tableau 40). En raison de la faible fréquence du génotype TT, l'analyse statistique a été effectuée entre les sujets porteurs de type sauvage et les porteurs de l'allèle T (CT hétérozygote ou TT homozygote).

La distribution des génotypes du variant *ABCB1* C3435T était marginalement significative entre les deux groupes de patients (P = 0,057), la fréquence de l'allèle T chez les non-répondants au clopidogrel était plus élevée que chez les répondants (15/19 ; 78,9%) et (19/36 ; 52,8%) respectivement. Cependant, il n'y avait aucune influence de *CYP1A2, CYP2B6, CYP2C9, CYP2C19, CYP3A4* ou *CYP3A5* sur la réponse au clopidogrel (tous les P>0,05) (tableau 40).

Tableau 40: Distribution génotype/phénotype des gènes étudiés en fonction des groupes répondeurs et non-répondeurs au clopidogrel.

Gène	**Génotype/ Phénotype**	**Répondeurs au clopidogrel n=36 No (%)**	**Non-répondeurs au clopidogrel n=19 No (%)**	**Valeur *P***
ABCB1 C3435T				0.057
	WT (n = 21)	17 (47.2%)	4 (21.1%)	
	T carriers (n = 34)	19 (52.8%)	15 (78.9%)	
CYP1A2				1.000
	NM/RM (n = 41)	27 (75%)	14 (73.7%)	
	UM (n = 14)	9 (25%)	5 (26.3%)	
CYP2B6				0.822
	IM/NM (n = 42)	28 (77.8%)	14 (73.7%)	
	PM (n = 13)	8 (22.2%)	5(26.3%)	
CYP2C9				1.000
	NM (n = 49)	32 (88.9%)	17 (89.5%)	
	IM (n = 6)	4 (11.1%)	2 (10.5%)	
CYP2C19				1.000
	NM (n = 40)	26 (72.2%)	14 (73.7%)	
	UM (n = 15)	10 (27.8%)	5 (26.3%)	
CYP3A4*1B (-392A>G)				0.392
	AA (n = 36)	25 (69.4%)	11 (57.9%)	
	AG (n = 19)	11 (30.6%)	8 (42.1%)	
CYP3A5				0.908
	Expressers (n = 15)	9 (28.1%)	5 (26.3%)	
	Non-expressers (n = 40)	23 (71.9%)	14 (73.7%)	

IM métaboliseur intermédiaire, NM métaboliseur normal, PM métaboliseur lent, RM métaboliseur rapide, UM métaboliseur ultrarapide. WT type sauvage. Les patients avec une agrégation >208 PRU ont été considérés comme des non-répondeurs au clopidogrel.

III.6 Résultats de Validation de la technique GenoChip CYP+

L'un des objectifs de notre étude était de vérifier la validité de la nouvelle technologie de génotypage GenoChip CYP+ macroarray, par l'étude de la concordance entre les résultats de GenoChip CYP+ macroarray et celle du séquençage Sanger.

Les trois régions comprenant les variants du gène *CYP2C19*, *2, *3, *17, ont été séquencées par la méthode Sanger chez tous les patients antérieurement génotypes par GenoChip CYP+ L'annexe 12 représente les électrophérogrammes des trois mutations. Le tableau 41 présente le pourcentage de concordance entre les résultats de génotypages des deux techniques.

La concordance entre les 55 échantillons testés avec la GenoChip CYP+ et le séquençage Sanger était de 100 % pour les 3 variants *CYP2C19* testés.

Tableau 41: Pourcentage de concordance entre le génotype par GenoChip CYP+ macroarray et le séquençage Sanger du CYP2C19

Génotype	N	Séquençage sanger (% de concordance)
CYP2C19*17		
*1/*1	40	100
*1/*17	15	100
CYP2C19*2		
*1/*1	55	100
*1/*2	0	100
CYP2C19*3		
*1/*1	55	100
*1/*3	0	100

IV. Discussions

Cinquante-cinq patients atteints du syndrome coronarien aigu ont été recruté dans cette étude. Tous les patients ont reçu une dose de charge du clopidogrel de 300 mg et nous avons étudié l'association des CYP SNPs, le variant *ABCB1* C3435T et les facteurs non génétiques à la réponse au clopidogrel.

Les résultats du test VerifyNow ont révélé que 34,5 % des patients atteints de SCA étaient des non-répondeurs au clopidogrel. Ce pourcentage était légèrement inférieur à celui rapportés dans des études antérieures.

Saiz-Rodrígue et al., ont signalé une fréquence de 44% de non-répondeurs au clopidogrel, en considérant qu'une valeur supérieure à 180 PRU est prédictive de l'absence d'effet du médicament [336]. Une prévalence moins élevée de 40% a été rapportée dans une étude menée par Yi et al., où la mesure de l'agrégation plaquettaire a été réalisée en utilisant la méthode d'agrégométrie par transmission lumineuse [342].

La variabilité de la réponse au clopidogrel représente un problème majeur chez les patients de cardiologie interventionnelle, puisqu'en moyenne 4 à 30 % des cas présentaient une réponse antiplaquettaire inadaptée. Plusieurs études ont rapporté une persistance d'une agrégabilité plaquettaire intense après l'administration de la dose de charge de clopidogrel [337]-[342]-[343]. Des facteurs tels que l'âge, les comorbidités, les traitements concomitants et l'indice de masse corporelle peuvent expliquer moins de 10 % de cette variabilité de la réponse [344]-[234]. Dans notre population, les caractéristiques démographiques (âge, poids corporel, tour de taille ombilical, indice de masse corporelle), les comorbidités (diabète sucré, profil lipidique, hypertension, tabagisme), les traitements concomitants (énoxaparine, statine, IPP, inhibiteur de l'AEC, bêta-bloquant) n'étaient pas associés à la réponse au clopidogrel. Par conséquent, la pharmacogénétique pourrait donc être d'un grand intérêt.

Des études antérieures ont suggéré une association entre la réponse au clopidogrel et le polymorphisme génétique impliqué dans le métabolisme et l'absorption de ce médicament [340]-[345]-[346]. Notre investigation a exploré la corrélation entre les variants du cytochrome P450 (*CYP1A2*, *CYP2B6*, *CYP2C9*, *CYP2C19*, *CYP3A4*, *CYP3A5*) et la réponse au clopidogrel. Les résultats obtenus indiquent que les génotypes des CYP ne présentent pas d'association significative avec la réponse à ce médicament.

Nos résultats divergent de ceux signalés dans une sous-étude de TRITON-TIMI 38 menée par Mega et al. [347], où la réponse à la dose de charge de clopidogrel a été affectée par des variants génétiques du *CYP2C19*. En revanche, dans notre cohorte, aucune association n'a été observée entre les *CYP1A2* et *CYP2C9* et une différence de réponse au clopidogrel. Ces

résultats sont en accord avec une étude récente menée par Saiz-Rodríguez, dans laquelle les variant dans *CYP1A2* et *CYP2C9* ne présentaient aucun effet sur réponse au traitement chez une population espagnole [336].

Malgré la fréquence élevée des non-expresseurs du CYP3A5 chez nos patients, les génotypes *CYP3A5**3 n'ont pas affecté de façon significative la réponse au clopidogrel. Des résultats similaires ont été observés dans une étude menée par Holmberg et al., dans laquelle l'allèle *CYP3A5**3 n'a pas affecté la pharmacodynamique du clopidogrel chez des volontaires sains après une dose de charge de 600 mg [348]. Cependant, une autre étude a suggéré que le *CYP3A5* joue un rôle important dans le métabolisme du clopidogrel [349]. Dans ce contexte, Yi et al., ont montré une association significative entre les génotypes *CYP3A5**3 et l'effet antiplaquettaire du clopidogrel après une semaine de dose d'entretien de clopidogrel [342].

L'absorption du clopidogrel est principalement limitée par le transporteur d'efflux la glycoprotéine P codé par le gène *ABCB1*. Après administration orale, la glycoprotéine P situé dans la paroi cellulaire de l'épithélium intestinal expulse le clopidogrel dans la lumière intestinale. Plusieurs études ont démontré que le variant *ABCB1* C3435T était associé à des taux plasmatiques plus faibles de clopidogrel et de son métabolite actif (2-oxo-clopidogrel). Les porteurs du génotype *ABCB1* 3435 TT présentaient une inhibition plaquettaire réduite et un risque accru d'événements ischémiques récurrents lors du traitement au clopidogrel [347]-[350].

Concernant le rôle du variant C3435T d'*ABCB1*. 78,9 % des NRC été porteurs du variant T. Le variant C3435T était proche de l'association à l'absence de réponse à la dose de charge de 300 mg du clopidogrel.

En ce qui concerne le rôle du variant C3435T d'*ABCB1*, 78,9 % des non-répondeurs au clopidogrel étaient porteurs du l'allèle T, Ce qui signifie que le variant C3435T était fortement lié à l'absence de réponse aux doses de charge de 300 mg de clopidogrel.

Une étude marocaine a montré que 62,5 % du groupe de non-répondeurs au clopidogrel étaient porteurs de l'allèle muté [351]. Ces résultats sont similaires à ceux rapporté par Namazi et al., ils ont étudié la réponse au clopidogrel après 2 heures de l'administration d'une dose de charge de 600 mg. Leur étude a montré une tendance à l'augmentation de l'inhibition plaquettaire par les types sauvages par rapport au groupe du variant T [343].

Une association significative entre l'homozygote TT et la non-réponse au clopidogrel a été rapporté par une étude multicentrique dans laquelle les porteurs homozygotes TT avaient une inhibition plaquettaire moindre après une dose de charge de clopidogrel [347]. De même, une étude pharmacocinétique menée par Stokanovic et al., a montré que lors d'un traitement

par des doses de charge de 300 ou 600 mg de clopidogrel, les individus porteurs du génotype TT homozygote ont présenté des concentrations réduites du clopidogrel et de son métabolite actif [350]. En accord avec ces résultats, Wang et al., ont étudié l'influence de l'augmentation de la dose de charge de 300 mg à 600 mg sur la réactivité plaquettaire, cette étude a suggéré que l'augmentation et l'ajustement de la dose de charge de clopidogrel atténuaient la résistance au clopidogrel chez les porteurs du gène *ABCB1* 3435T [352].

V. Conclusions

Dans cette étude, nous avons examiné cinquante-cinq patients atteints de syndrome coronarien aigu, tous ayant reçu une dose de charge de 300 mg de clopidogrel. Notre analyse portait sur l'association entre les variants génétiques des enzymes métabolisant le clopidogrel (CYP) et le variant *ABCB1* C3435T, ainsi que divers facteurs non génétiques, avec la réponse au clopidogrel.

Les résultats du test VerifyNow ont révélé qu'environ 34,5 % des patients étaient des non-répondeurs au clopidogrel, un pourcentage légèrement supérieur à celui rapporté dans des études antérieures. La variabilité de la réponse au clopidogrel est un problème majeur en cardiologie interventionnelle, avec un pourcentage variant de 4 à 30 % de cas de réponse antiplaquettaire inadéquate.

Nos résultats ont montré que les caractéristiques démographiques, les comorbidités et les traitements concomitants n'étaient pas associés à la réponse au clopidogrel, ce qui suggère une homogénéité de la population étudiée.

Nous avons exploré l'association entre les variants des enzymes CYP et la réponse au clopidogrel, mais nos résultats n'ont pas montré d'association significative. De même, le variant *ABCB1* C3435T n'a pas montré d'effet significatif sur la réponse au clopidogrel dans la population étudiée, malgré une prévalence élevée chez les non-répondeurs.

Les facteurs non génétiques n'ont montré aucune association avec la réponse au clopidogrel, indiquant ainsi que notre population était homogène. Cette constatation renforce l'hypothèse selon laquelle le variant *ABCB1* 3435T a une influence sur la réponse à la dose de charge du clopidogrel. En envisageant des essais multicentriques randomisés et bien contrôlés sur un large échantillon de patients, il serait possible d’obtenir des conclusions significatives et définitives. Ce variant pourrait alors être considéré comme un facteur prédictif de la réponse au médicament, permettant ainsi de distinguer les patients répondeurs de ceux susceptibles de ne pas l’être dans notre population. Pour les patients dont les effets antiplaquettaires du clopidogrel sont réduits, le clinicien peut envisager d'augmenter la dose du médicament ou de passer à d'autres comme le ticagrelor ou le prasugrel.

La technique GenoChip CYP+ est une méthode de génotypage facile et rapide qui permet de faire le génotypage pour un grand nombre de variants liés au métabolisme du clopidogrel, ce qui permet de tirer des conclusions sur le profil de métabolisme des patients.

VI. Conclusions générales et perspectives

À la suite d'une analyse approfondie des données de la littérature et les donnes de l'OMS, il est clair que les maladies cardiovasculaires représentent un défi majeur de santé publique au Maroc, comme dans de nombreux autres pays. Les MCV sont responsables d'un pourcentage alarmant des décès liés aux maladies non transmissibles, et leur prévalence continue d'augmenter, mettant en lumière l'urgence d'une prise en charge efficace et personnalisée.

Dans cette étude, nous avons essayé d'approfondir notre compréhension des mécanismes génétiques sous-jacents aux maladies cardiovasculaires, en nous concentrant sur deux aspects clés : les polymorphismes génétiques associés à la prédisposition au SCA et la réponse au clopidogrel chez les patients atteints de syndrome coronarien aigu. Nos résultats soulignent l'importance de la variabilité interindividuelle de la réponse au clopidogrel, ainsi que l'impact potentiel des variants génétiques sur la susceptibilité au SCA.

Dans le premier volet de notre étude, nous avons identifié plusieurs polymorphismes génétiques associés à la prédisposition au SCA, notamment dans les gènes *TGFB1*, *VEGFA*, *IGF1*, *PDGFB* et *FGF2*. Nos résultats ont révélé des différences significatives dans les fréquences alléliques et génotypiques des polymorphismes dans les gènes *VEGF-A* et le *TGFB1* entre les patients atteints de SCA et les témoins sains, soulignant ainsi leur potentiel en tant que biomarqueurs de prédisposition. Des recherches supplémentaires explorant chez les cas et les témoins les autres gènes et leurs variants, sont nécessaires pour consolider nos résultats.

Dans le second volet de notre étude, nous avons examiné l'association entre les variants génétiques des enzymes métabolisant le clopidogrel (CYP) et le variant *ABCB1* C3435T avec la réponse au clopidogrel chez des patients présentant un SCA. Bien que les résultats n'aient pas révélé d'associations significatives entre les variants génétiques étudiés et la réponse au médicament, Cette recherche souligne l'importance de poursuivre les investigations, notamment sur des échantillons plus vastes, afin de mieux comprendre l'implication du variant *ABCB1* C3435T dans cette variabilité interindividuelle de réponse au clopidogrel. Notre approche méthodologique rigoureuse et l'utilisation de techniques de génotypage avancées telles que la technique GenoChip CYP+ ont jeté les bases pour de futures investigations en termes de test génétique, rapide et efficace.

En intégrant ces résultats dans une perspective plus large, cette étude ouvre la voie à de nouvelles recherches visant à mieux comprendre les mécanismes moléculaires sous-jacents aux MCV et à développer des approches thérapeutiques plus ciblées et personnalisées. Les implications de nos résultats pourraient inclure l'utilisation de biomarqueurs génétiques dans

le diagnostic et le traitement du SCA, ainsi que l'intégration de ces données dans les scores de risque génétique pour améliorer la prise en charge des patients à risque.

Pour progresser dans notre compréhension des maladies cardiovasculaires, il est essentiel de poursuivre les recherches dans le domaine de la génétique, en particulier en ce qui concerne la diversité génétique propre à la population marocaine. Parmi les gènes d'intérêt, le *VEGF-A* et le *TGFB1* sont connus pour leur implication dans ces affections et jouent un rôle crucial dans la régulation de nombreuses voies métaboliques et de signalisation.

Nous proposons donc la mise en place d'une étude combinant l'identification de variants génétiques associées au *VEGF-A* et au *TGFB1* avec des analyses transcriptomiques afin de mieux comprendre leur fonctionnalité biologique. Cette approche nous permettra d'explorer les relations complexes entre les polymorphismes liés au *VEGF-A* et au *TGFB1*, les taux plasmatiques et l'expression de ces molécules, ainsi que leur interaction avec d'autres molécules et facteurs de risque cardiovasculaires.

En étudiant ces interactions chez des sous-groupes de patients sélectionnés sur la base de données coronographiques, nous pourrons identifier des associations significatives, mettant en lumière le rôle potentiel du *VEGF-A* et du *TGFB1* dans la modulation de divers processus physiologiques et pathologiques. De plus, nous envisageons d'étudier l'association des variants génétiques du *VEGF-A* et du *TGFB1* avec la déstabilisation et la stabilisation des lésions athérosclérotiques, ce qui pourrait fournir des informations précieuses pour la prévention et le traitement des maladies cardiovasculaires.

Une étude multicentrique et collaborative, englobant diverses disciplines scientifiques telles que la génomique, la transcriptomique et l'étude des lésions athérosclérotiques, sera indispensable pour une exploration approfondie des mécanismes génétiques sous-jacents aux maladies cardiovasculaires. Cette recherche devrait être menée sur un large échantillon de population afin d'assurer des résultats significatifs.

En conclusion, cette thèse apporte une contribution importante à la compréhension des bases génétiques des maladies cardiovasculaires au Maroc. Elle souligne l'importance de la recherche continue dans ce domaine et met en évidence le potentiel de la médecine de précision pour transformer les pratiques cliniques et améliorer les résultats pour les patients atteints de maladie cardiovasculaire.

Références bibliographiques

[1] « Non communicable diseases ». Consulté le: 17 décembre 2023. [En ligne]. Disponible sur: https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/noncommunicable-diseases

[2] « mondiale de la Santé, O. (2016). Stratégie de coopération OMS-Maroc: 2017-2021 (No. WHO-EM/CFS/001/F). Organisation mondiale de la Santé. Bureau régional de la Méditerranée orientale. »

[3] R. A. Brown, E. Shantsila, C. Varma, et G. Y. H. Lip, « Current Understanding of Atherogenesis », *Am. J. Med.*, vol. 130, n° 3, p. 268-282, mars 2017, doi: 10.1016/j.amjmed.2016.10.022.

[4] J. Knuuti *et al.*, « 2019 ESC Guidelines for the diagnosis and management of chronic coronary syndromes », *Eur. Heart J.*, vol. 41, n° 3, p. 407-477, janv. 2020, doi: 10.1093/eurheartj/ehz425.

[5] P. Jinatongthai *et al.*, « Comparative efficacy and safety of reperfusion therapy with fibrinolytic agents in patients with ST-segment elevation myocardial infarction: a systematic review and network meta-analysis », *Lancet Lond. Engl.*, vol. 390, n° 10096, p. 747-759, août 2017, doi: 10.1016/S0140-6736(17)31441-1.

[6] J. L. Rodgers *et al.*, « Cardiovascular Risks Associated with Gender and Aging », *J. Cardiovasc. Dev. Dis.*, vol. 6, n° 2, p. 19, avr. 2019, doi: 10.3390/jcdd6020019.

[7] F. Cambien et L. Tiret, « Genetics of cardiovascular diseases: from single mutations to the whole genome », *Circulation*, vol. 116, n° 15, p. 1714-1724, oct. 2007, doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.106.661751.

[8] Interleukin-6 Receptor Mendelian Randomisation Analysis (IL6R MR) Consortium *et al.*, « The interleukin-6 receptor as a target for prevention of coronary heart disease: a mendelian randomisation analysis », *Lancet Lond. Engl.*, vol. 379, n° 9822, p. 1214-1224, mars 2012, doi: 10.1016/S0140-6736(12)60110-X.

[9] S. Semaev et E. Shakhtshneider, « Genetic Risk Score for Coronary Heart Disease: Review », *J. Pers. Med.*, vol. 10, n° 4, Art. n° 4, déc. 2020, doi: 10.3390/jpm10040239.

[10] I. J. Kullo *et al.*, « Incorporating a Genetic Risk Score Into Coronary Heart Disease Risk Estimates: Effect on Low-Density Lipoprotein Cholesterol Levels (the MI-GENES Clinical Trial) », *Circulation*, vol. 133, n° 12, p. 1181-1188, mars 2016, doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.115.020109.

[11] C. R. Sirtori, « The pharmacology of statins », *Pharmacol. Res.*, vol. 88, p. 3-11, oct. 2014, doi: 10.1016/j.phrs.2014.03.002.

[12] S. L. Close, « Pharmacogenetics and pharmacogenomics of thienopyridines: clinically relevant? », *Fundam. Clin. Pharmacol.*, vol. 26, n° 1, p. 19-26, févr. 2012, doi: 10.1111/j.1472-8206.2011.00983.x.

[13] A. Al-abcha *et al.*, « Genotype-Guided Use of P2Y12 Inhibitors: A Review of Current State of the Art », *Front. Cardiovasc. Med.*, vol. 9, p. 850028, mars 2022, doi: 10.3389/fcvm.2022.850028.

[14] I. Fricke-Galindo *et al.*, « Interethnic variation of CYP2C19 alleles, “predicted” phenotypes and “measured” metabolic phenotypes across world populations », *Pharmacogenomics J.*, vol. 16, n° 2, p. 113-123, avr. 2016, doi: 10.1038/tpj.2015.70.

[15] T. Garabedian et S. Alam, « High residual platelet reactivity on clopidogrel: its significance and therapeutic challenges overcoming clopidogrel resistance », *Cardiovasc. Diagn. Ther.*, vol. 3, n° 1, Art. n° 1, mars 2013, doi: 10.3978/j.issn.2223-3652.2013.02.06.

[16] R. Elyamani, A. Soulaymani, et H. Hami, « Epidemiology of Cardiovascular Diseases in Morocco: A Systematic Review », *Rev. Diabet. Stud. RDS*, vol. 17, nº 2, p. 57-67, oct. 2021, doi: 10.1900/RDS.2021.17.57.

[17] R. Lozano *et al.*, « Global and regional mortality from 235 causes of death for 20 age groups in 1990 and 2010: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2010 », *The Lancet*, vol. 380, nº 9859, p. 2095-2128, déc. 2012, doi: 10.1016/S0140-6736(12)61728-0.

[18] E. Olvera Lopez, B. D. Ballard, et A. Jan, « Cardiovascular Disease », in *StatPearls*, Treasure Island (FL): StatPearls Publishing, 2022. Consulté le: 22 novembre 2022. [En ligne]. Disponible sur: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK535419/

[19] L. K. Mahan et S. Escott-Stump, *Krause's food & nutrition therapy*, 12th ed. St. Louis, Mo.: Saunders/Elsevier, 2008.

[20] P. D S, Z. Kabir, A. Dash, et B. Das, « Smoking and cardiovascular health: A review of the epidemiology, pathogenesis, prevention and control of tobacco », *Indian J. Med. Sci.*, vol. 63, p. 520-33, nov. 2009, doi: 10.4103/0019-5359.58884.

[21] A. Bakhru et T. P. Erlinger, « Smoking cessation and cardiovascular disease risk factors: results from the Third National Health and Nutrition Examination Survey », *PLoS Med.*, vol. 2, nº 6, p. e160, juin 2005, doi: 10.1371/journal.pmed.0020160.

[22] J. N. Morris et M. D. Crawford, « Coronary heart disease and physical activity of work; evidence of a national necropsy survey », *Br. Med. J.*, vol. 2, nº 5111, p. 1485-1496, déc. 1958, doi: 10.1136/bmj.2.5111.1485.

[23] E. Archer et S. N. Blair, « Physical activity and the prevention of cardiovascular disease: from evolution to epidemiology », *Prog. Cardiovasc. Dis.*, vol. 53, nº 6, p. 387-396, 2011, doi: 10.1016/j.pcad.2011.02.006.

[24] S.-J. Cheng *et al.*, « Physical Activity and Risk of Cardiovascular Disease Among Older Adults », *Int. J. Gerontol.*, vol. 7, nº 3, p. 133-136, sept. 2013, doi: 10.1016/j.ijge.2013.03.001.

[25] R. Guthold *et al.*, « Physical activity in 22 African countries: results from the World Health Organization STEPwise approach to chronic disease risk factor surveillance », *Am. J. Prev. Med.*, vol. 41, nº 1, p. 52-60, juill. 2011, doi: 10.1016/j.amepre.2011.03.008.

[26] A. Najdi, Y. El Achhab, C. Nejjari, T. Norat, A. Zidouh, et K. El Rhazi, « Correlates of physical activity in Morocco », *Prev. Med.*, vol. 52, nº 5, p. 355-357, mai 2011, doi: 10.1016/j.ypmed.2011.03.009.

[27] « Morocco STEPS Noncommunicable Disease Risk Factors Survey 2017 | GHDx ». Consulté le: 21 décembre 2023. [En ligne]. Disponible sur: https://ghdx.healthdata.org/record/morocco-steps-noncommunicable-disease-risk-factors-survey-2017

[28] K. El Rhazi *et al.*, « Adherence to a Mediterranean diet in Morocco and its correlates: cross-sectional analysis of a sample of the adult Moroccan population », *BMC Public Health*, vol. 12, p. 345, mai 2012, doi: 10.1186/1471-2458-12-345.

[29] S. Benjelloun, « Nutrition transition in Morocco », *Public Health Nutr.*, vol. 5, nº 1A, p. 135-140, févr. 2002, doi: 10.1079/PHN2001285.

[30] « Obesity and overweight ». Consulté le: 7 décembre 2022. [En ligne]. Disponible sur: https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/obesity-and-overweight

[31] « Global Status Report on Noncommunicable Diseases 2014: Attaining the Nine Global Noncommunicable Diseases Targets; A Shared Responsibility - World | ReliefWeb ». Consulté le: 7 décembre 2022. [En ligne]. Disponible sur: https://reliefweb.int/report/world/global-status-report-noncommunicable-diseases-2014-attaining-nine-global

[32] R. P. Hertz, A. N. Unger, M. McDonald, M. B. Lustik, et J. Biddulph-Krentar, « The impact of obesity on work limitations and cardiovascular risk factors in the U.S. workforce », *J. Occup. Environ. Med.*, vol. 46, nº 12, p. 1196-1203, déc. 2004.
[33] H. B. Hubert, M. Feinleib, P. M. McNamara, et W. P. Castelli, « Obesity as an independent risk factor for cardiovascular disease: a 26-year follow-up of participants in the Framingham Heart Study », *Circulation*, vol. 67, nº 5, p. 968-977, mai 1983, doi: 10.1161/01.cir.67.5.968.
[34] J. M. Pascual *et al.*, « Body weight variation and control of cardiovascular risk factors in essential hypertension », *Blood Press.*, vol. 18, nº 5, p. 247-254, janv. 2009, doi: 10.3109/08037050903244791.
[35] W. B. Kannel, « Blood pressure as a cardiovascular risk factor: prevention and treatment », *JAMA*, vol. 275, nº 20, p. 1571-1576, mai 1996.
[36] E. Dal Canto *et al.*, « Diabetes as a cardiovascular risk factor: An overview of global trends of macro and micro vascular complications », *Eur. J. Prev. Cardiol.*, vol. 26, nº 2_suppl, p. 25-32, déc. 2019, doi: 10.1177/2047487319878371.
[37] WRITING GROUP MEMBERS *et al.*, « Heart disease and stroke statistics--2010 update: a report from the American Heart Association », *Circulation*, vol. 121, nº 7, p. e46-e215, févr. 2010, doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.109.192667.
[38] « Indicator Metadata Registry Details ». Consulté le: 21 décembre 2023. [En ligne]. Disponible sur: https://www.who.int/data/gho/indicator-metadata-registry/imr-details/3236
[39] 2017-2018 Ministry of Health Morocco, « National survey of noncommunicable diseases risk factors 2017-2018. » 2018 2017. [En ligne]. Disponible sur: https://www.sante.gov.ma/Documents/2019/05/Rapport%20de%20l%20enqu%C3%AAte%20Stepwise.pdf
[40] « Stress and Heart Health », www.heart.org. Consulté le: 2 janvier 2023. [En ligne]. Disponible sur: https://www.heart.org/en/healthy-living/healthy-lifestyle/stress-management/stress-and-heart-health
[41] D. J. Brotman, S. H. Golden, et I. S. Wittstein, « The cardiovascular toll of stress », *Lancet Lond. Engl.*, vol. 370, nº 9592, p. 1089-1100, sept. 2007, doi: 10.1016/S0140-6736(07)61305-1.
[42] L. Sher, « Type D personality: the heart, stress, and cortisol », *QJM Int. J. Med.*, vol. 98, nº 5, p. 323-329, mai 2005, doi: 10.1093/qjmed/hci064.
[43] D. R. Ragland et R. J. Brand, « Type A behavior and mortality from coronary heart disease », *N. Engl. J. Med.*, vol. 318, p. 65-69, 1988, doi: 10.1056/NEJM198801143180201.
[44] M. Kivimäki et A. Steptoe, « Effects of stress on the development and progression of cardiovascular disease », *Nat. Rev. Cardiol.*, vol. 15, nº 4, p. 215-229, avr. 2018, doi: 10.1038/nrcardio.2017.189.
[45] T. S. Nawrot, L. Perez, N. Künzli, E. Munters, et B. Nemery, « Public health importance of triggers of myocardial infarction: a comparative risk assessment », *Lancet Lond. Engl.*, vol. 377, nº 9767, p. 732-740, févr. 2011, doi: 10.1016/S0140-6736(10)62296-9.
[46] T. Truelsen, N. Nielsen, G. Boysen, M. Grønbaek, et Copenhagen City Heart Study, « Self-reported stress and risk of stroke: the Copenhagen City Heart Study », *Stroke*, vol. 34, nº 4, p. 856-862, avr. 2003, doi: 10.1161/01.STR.0000062345.80774.40.
[47] D. K. Moser, B. Riegel, S. McKinley, L. V. Doering, K. An, et S. Sheahan, « Impact of anxiety and perceived control on in-hospital complications after acute myocardial infarction », *Psychosom. Med.*, vol. 69, nº 1, p. 10-16, janv. 2007, doi: 10.1097/01.psy.0000245868.43447.d8.

[48] B. J. North et D. A. Sinclair, « The intersection between aging and cardiovascular disease », *Circ. Res.*, vol. 110, nº 8, p. 1097-1108, avr. 2012, doi: 10.1161/CIRCRESAHA.111.246876.
[49] E. Costa, A. Santos-Silva, C. Paúl, et J. González Gallego, « Aging and cardiovascular risk », *BioMed Res. Int.*, vol. 2015, p. 871656, 2015, doi: 10.1155/2015/871656.
[50] W. B. Kannel et R. S. Vasan, « Is age really a non-modifiable cardiovascular risk factor? », *Am. J. Cardiol.*, vol. 104, nº 9, p. 1307-1310, nov. 2009, doi: 10.1016/j.amjcard.2009.06.051.
[51] The EUGenMed *et al.*, « Gender in cardiovascular diseases: impact on clinical manifestations, management, and outcomes », *Eur. Heart J.*, vol. 37, nº 1, p. 24-34, janv. 2016, doi: 10.1093/eurheartj/ehv598.
[52] J. Perk *et al.*, « European Guidelines on cardiovascular disease prevention in clinical practice (version 2012). The Fifth Joint Task Force of the European Society of Cardiology and Other Societies on Cardiovascular Disease Prevention in Clinical Practice (constituted by representatives of nine societies and by invited experts) », *Eur. Heart J.*, vol. 33, nº 13, p. 1635-1701, juill. 2012, doi: 10.1093/eurheartj/ehs092.
[53] M. Stramba-Badiale *et al.*, « Cardiovascular diseases in women: a statement from the policy conference of the European Society of Cardiology », *Eur. Heart J.*, vol. 27, nº 8, p. 994-1005, avr. 2006, doi: 10.1093/eurheartj/ehi819.
[54] A. J. Thomas, L. E. Eberly, G. Davey Smith, J. D. Neaton, et J. Stamler, « Race/Ethnicity, Income, Major Risk Factors, and Cardiovascular Disease Mortality », *Am. J. Public Health*, vol. 95, nº 8, p. 1417-1423, août 2005, doi: 10.2105/AJPH.2004.048165.
[55] K. L. Schalinske et A. L. Smazal, « Homocysteine imbalance: a pathological metabolic marker », *Adv. Nutr. Bethesda Md*, vol. 3, nº 6, p. 755-762, nov. 2012, doi: 10.3945/an.112.002758.
[56] H. Škovierová *et al.*, « The Molecular and Cellular Effect of Homocysteine Metabolism Imbalance on Human Health », *Int. J. Mol. Sci.*, vol. 17, nº 10, p. 1733, oct. 2016, doi: 10.3390/ijms17101733.
[57] J. Selhub, « Homocysteine metabolism », *Annu. Rev. Nutr.*, vol. 19, p. 217-246, 1999, doi: 10.1146/annurev.nutr.19.1.217.
[58] G. Ntaios, C. Savopoulos, D. Grekas, et A. Hatzitolios, « The controversial role of B-vitamins in cardiovascular risk: An update », *Arch. Cardiovasc. Dis.*, vol. 102, nº 12, p. 847-854, déc. 2009, doi: 10.1016/j.acvd.2009.07.002.
[59] F. Paganelli *et al.*, « Hyperhomocysteinemia and Cardiovascular Disease: Is the Adenosinergic System the Missing Link? », *Int. J. Mol. Sci.*, vol. 22, nº 4, p. 1690, févr. 2021, doi: 10.3390/ijms22041690.
[60] Q. Yang et G.-W. He, « Imbalance of Homocysteine and H2S: Significance, Mechanisms, and Therapeutic Promise in Vascular Injury », *Oxid. Med. Cell. Longev.*, vol. 2019, p. 7629673, 2019, doi: 10.1155/2019/7629673.
[61] J. Skeete et D. J. DiPette, « Relationship between homocysteine and hypertension: New data add to the debate », *J. Clin. Hypertens. Greenwich Conn*, vol. 19, nº 11, p. 1171-1172, nov. 2017, doi: 10.1111/jch.13073.
[62] H. Kundi *et al.*, « Association between plasma homocysteine levels and end-organ damage in newly diagnosed type 2 diabetes mellitus patients », *Endocr. Res.*, vol. 42, nº 1, p. 36-41, févr. 2017, doi: 10.3109/07435800.2016.1171235.
[63] C. Wang *et al.*, « Elevated total plasma homocysteine levels are associated with type 2 diabetes in women with hypertension », *Asia Pac. J. Clin. Nutr.*, vol. 24, nº 4, p. 683-691, 2015, doi: 10.6133/apjcn.2015.24.4.09.

[64] D. E. Handy et J. Loscalzo, « Homocysteine and atherothrombosis: diagnosis and treatment », *Curr. Atheroscler. Rep.*, vol. 5, nº 4, p. 276-283, juill. 2003, doi: 10.1007/s11883-003-0050-x.

[65] P. Ganguly et S. F. Alam, « Role of homocysteine in the development of cardiovascular disease », *Nutr. J.*, vol. 14, p. 6, janv. 2015, doi: 10.1186/1475-2891-14-6.

[66] C. Catena, G. Colussi, F. Nait, F. Capobianco, et L. A. Sechi, « Elevated Homocysteine Levels Are Associated With the Metabolic Syndrome and Cardiovascular Events in Hypertensive Patients », *Am. J. Hypertens.*, vol. 28, nº 7, p. 943-950, juill. 2015, doi: 10.1093/ajh/hpu248.

[67] G. Montalescot *et al.*, « Plasma homocysteine and the extent of atherosclerosis in patients with coronary artery disease », *Int. J. Cardiol.*, vol. 60, nº 3, p. 295-300, août 1997, doi: 10.1016/s0167-5273(97)00099-5.

[68] O. Nygård, J. E. Nordrehaug, H. Refsum, P. M. Ueland, M. Farstad, et S. E. Vollset, « Plasma homocysteine levels and mortality in patients with coronary artery disease », *N. Engl. J. Med.*, vol. 337, nº 4, p. 230-236, juill. 1997, doi: 10.1056/NEJM199707243370403.

[69] F. Yang, H.-M. Tan, et H. Wang, « Hyperhomocysteinemia and atherosclerosis », *Sheng Li Xue Bao*, vol. 57, nº 2, p. 103-114, avr. 2005.

[70] Z. Ungvari *et al.*, « Increased superoxide production in coronary arteries in hyperhomocysteinemia: role of tumor necrosis factor-alpha, NAD(P)H oxidase, and inducible nitric oxide synthase », *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, vol. 23, nº 3, p. 418-424, mars 2003, doi: 10.1161/01.ATV.0000061735.85377.40.

[71] J. C. Tsai *et al.*, « Induction of cyclin A gene expression by homocysteine in vascular smooth muscle cells », *J. Clin. Invest.*, vol. 97, nº 1, p. 146-153, janv. 1996, doi: 10.1172/JCI118383.

[72] D. Liao *et al.*, « Hyperhomocysteinemia decreases circulating high-density lipoprotein by inhibiting apolipoprotein A-I Protein synthesis and enhancing HDL cholesterol clearance », *Circ. Res.*, vol. 99, nº 6, p. 598-606, sept. 2006, doi: 10.1161/01.RES.0000242559.42077.22.

[73] H. Jakubowski, « The pathophysiological hypothesis of homocysteine thiolactone-mediated vascular disease », *J. Physiol. Pharmacol. Off. J. Pol. Physiol. Soc.*, vol. 59 Suppl 9, p. 155-167, déc. 2008.

[74] A. Undas, J. Brozek, M. Jankowski, Z. Siudak, A. Szczeklik, et H. Jakubowski, « Plasma homocysteine affects fibrin clot permeability and resistance to lysis in human subjects », *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, vol. 26, nº 6, p. 1397-1404, juin 2006, doi: 10.1161/01.ATV.0000219688.43572.75.

[75] R. Vilar, R. J. Fish, A. Casini, et M. Neerman-Arbez, « Fibrin(ogen) in human disease: both friend and foe », *Haematologica*, vol. 105, nº 2, p. 284-296, 2020, doi: 10.3324/haematol.2019.236901.

[76] M. Neerman-Arbez et A. Casini, « Clinical Consequences and Molecular Bases of Low Fibrinogen Levels », *Int. J. Mol. Sci.*, vol. 19, nº 1, p. 192, janv. 2018, doi: 10.3390/ijms19010192.

[77] G. Murdaca, F. Spanò, P. Cagnati, et F. Puppo, « Free radicals and endothelial dysfunction: potential positive effects of TNF-α inhibitors », *Redox Rep. Commun. Free Radic. Res.*, vol. 18, nº 3, p. 95-99, 2013, doi: 10.1179/1351000213Y.0000000046.

[78] S. Surma et M. Banach, « Fibrinogen and Atherosclerotic Cardiovascular Diseases—Review of the Literature and Clinical Studies », *Int. J. Mol. Sci.*, vol. 23, nº 1, p. 193, déc. 2021, doi: 10.3390/ijms23010193.

[79] S. Kattula, J. R. Byrnes, et A. S. Wolberg, « Fibrinogen and Fibrin in Hemostasis and Thrombosis », *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, vol. 37, nº 3, p. e13-e21, mars 2017, doi: 10.1161/ATVBAHA.117.308564.

[80] K. E. Kryczka, M. Kruk, M. Demkow, et B. Lubiszewska, « Fibrinogen and a Triad of Thrombosis, Inflammation, and the Renin-Angiotensin System in Premature Coronary Artery Disease in Women: A New Insight into Sex-Related Differences in the Pathogenesis of the Disease », *Biomolecules*, vol. 11, nº 7, p. 1036, juill. 2021, doi: 10.3390/biom11071036.

[81] J. Heinrich, L. Balleisen, H. Schulte, G. Assmann, et J. van de Loo, « Fibrinogen and factor VII in the prediction of coronary risk. Results from the PROCAM study in healthy men », *Arterioscler. Thromb. J. Vasc. Biol.*, vol. 14, nº 1, p. 54-59, janv. 1994, doi: 10.1161/01.atv.14.1.54.

[82] S. G. Thompson, J. Kienast, S. D. Pyke, F. Haverkate, et J. C. van de Loo, « Hemostatic factors and the risk of myocardial infarction or sudden death in patients with angina pectoris. European Concerted Action on Thrombosis and Disabilities Angina Pectoris Study Group », *N. Engl. J. Med.*, vol. 332, nº 10, p. 635-641, mars 1995, doi: 10.1056/NEJM199503093321003.

[83] J. J. Stec *et al.*, « Association of Fibrinogen With Cardiovascular Risk Factors and Cardiovascular Disease in the Framingham Offspring Population », *Circulation*, vol. 102, nº 14, p. 1634-1638, oct. 2000, doi: 10.1161/01.CIR.102.14.1634.

[84] K. A. Mitropoulos et M. P. Esnouf, « Turnover of factor X and of prothrombin in rabbits fed on a standard or cholesterol-supplemented diet », *Biochem. J.*, vol. 244, nº 2, p. 263-269, juin 1987, doi: 10.1042/bj2440263.

[85] T. W. Meade, V. Ruddock, Y. Stirling, R. Chakrabarti, et G. J. Miller, « Fibrinolytic activity, clotting factors, and long-term incidence of ischaemic heart disease in the Northwick Park Heart Study », *Lancet Lond. Engl.*, vol. 342, nº 8879, p. 1076-1079, oct. 1993, doi: 10.1016/0140-6736(93)92062-x.

[86] T. W. Meade *et al.*, « Haemostatic function and ischaemic heart disease: principal results of the Northwick Park Heart Study », *Lancet Lond. Engl.*, vol. 2, nº 8506, p. 533-537, sept. 1986, doi: 10.1016/s0140-6736(86)90111-x.

[87] A. R. Folsom, K. K. Wu, C. E. Davis, M. G. Conlan, P. D. Sorlie, et M. Szklo, « Population correlates of plasma fibrinogen and factor VII, putative cardiovascular risk factors », *Atherosclerosis*, vol. 91, nº 3, p. 191-205, déc. 1991, doi: 10.1016/0021-9150(91)90167-2.

[88] P.-Y. Scarabin *et al.*, « Population Correlates of Coagulation Factor VII », *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, vol. 16, nº 9, p. 1170-1176, sept. 1996, doi: 10.1161/01.ATV.16.9.1170.

[89] G. J. Miller *et al.*, « Association between dietary fat intake and plasma factor VII coagulant activity--a predictor of cardiovascular mortality », *Atherosclerosis*, vol. 60, nº 3, p. 269-277, juin 1986, doi: 10.1016/0021-9150(86)90174-7.

[90] I. Mertens et L. F. V. Gaal, « Obesity, haemostasis and the fibrinolytic system », *Obes. Rev.*, vol. 3, nº 2, p. 85-101, mai 2002, doi: 10.1046/j.1467-789X.2002.00056.x.

[91] F. Green, C. Kelleher, H. Wilkes, A. Temple, T. Meade, et S. Humphries, « A common genetic polymorphism associated with lower coagulation factor VII levels in healthy individuals », *Arterioscler. Thromb. J. Vasc. Biol.*, vol. 11, nº 3, p. 540-546, 1991, doi: 10.1161/01.atv.11.3.540.

[92] S. E. Humphries, A. Lane, F. R. Green, J. Cooper, et G. J. Miller, « Factor VII coagulant activity and antigen levels in healthy men are determined by interaction between factor VII genotype and plasma triglyceride concentration », *Arterioscler.*

Thromb. J. Vasc. Biol., vol. 14, nº 2, p. 193-198, févr. 1994, doi: 10.1161/01.atv.14.2.193.

[93] S. E. Humphries, A. Lane, S. Dawson, et F. R. Green, « The study of gene-environment interactions that influence thrombosis and fibrinolysis. Genetic variation at the loci for factor VII and plasminogen activator inhibitor-1 », *Arch. Pathol. Lab. Med.*, vol. 116, nº 12, p. 1322-1329, déc. 1992.

[94] M. H. Prins et J. Hirsh, « A critical review of the relationship between impaired fibrinolysis and myocardial infarction », *Am. Heart J.*, vol. 122, nº 2, p. 545-551, août 1991, doi: 10.1016/0002-8703(91)91014-e.

[95] I. Juhan-Vague et M. C. Alessi, « Plasminogen activator inhibitor 1 and atherothrombosis », *Thromb. Haemost.*, vol. 70, nº 1, p. 138-143, juill. 1993.

[96] N. Kietsiriroje, R. A. S. Ariëns, et R. A. Ajjan, « Fibrinolysis in Acute and Chronic Cardiovascular Disease », *Semin. Thromb. Hemost.*, vol. 47, nº 5, p. 490-505, juill. 2021, doi: 10.1055/s-0040-1718923.

[97] V. A. Ploplis, « Effects of Altered Plasminogen Activator Inhibitor-1 Expression on Cardiovascular Disease », *Curr. Drug Targets*, vol. 12, nº 12, p. 1782-1789, nov. 2011.

[98] M. Cortellaro, E. Cofrancesco, C. Boschetti, et P. S. Group, « Fibrinolytic activity and ischaemic heart disease », *The Lancet*, vol. 342, nº 8885, p. 1489, déc. 1993, doi: 10.1016/0140-6736(93)92966-W.

[99] J. H. Jansson, B. O. Olofsson, et T. K. Nilsson, « Predictive value of tissue plasminogen activator mass concentration on long-term mortality in patients with coronary artery disease. A 7-year follow-up », *Circulation*, vol. 88, nº 5 Pt 1, p. 2030-2034, nov. 1993, doi: 10.1161/01.cir.88.5.2030.

[100] J. C. Chang, « Novel Classification of Thrombotic Disorders Based on Molecular Hemostasis and Thrombogenesis Producing Primary and Secondary Phenotypes of Thrombosis », *Biomedicines*, vol. 10, nº 11, Art. nº 11, nov. 2022, doi: 10.3390/biomedicines10112706.

[101] P. M. Ridker, D. E. Vaughan, M. J. Stampfer, J. E. Manson, et C. H. Hennekens, « Endogenous tissue-type plasminogen activator and risk of myocardial infarction », *Lancet Lond. Engl.*, vol. 341, nº 8854, p. 1165-1168, mai 1993, doi: 10.1016/0140-6736(93)90998-v.

[102] P. M. Ridker, C. H. Hennekens, M. J. Stampfer, J. E. Manson, et D. E. Vaughan, « Prospective study of endogenous tissue plasminogen activator and risk of stroke », *Lancet Lond. Engl.*, vol. 343, nº 8903, p. 940-943, avr. 1994, doi: 10.1016/s0140-6736(94)90064-7.

[103] Y. Wu, L. A. Potempa, D. El Kebir, et J. G. Filep, « C-reactive protein and inflammation: conformational changes affect function », *Biol. Chem.*, vol. 396, nº 11, p. 1181-1197, nov. 2015, doi: 10.1515/hsz-2015-0149.

[104] M. B. Pepys, « C-reactive protein fifty years on », *Lancet Lond. Engl.*, vol. 1, nº 8221, p. 653-657, mars 1981, doi: 10.1016/s0140-6736(81)91565-8.

[105] H. Gewurz, C. Mold, J. Siegel, et B. Fiedel, « C-reactive protein and the acute phase response », *Adv. Intern. Med.*, vol. 27, p. 345-372, 1982.

[106] T. W. Du Clos, « C-reactive protein as a regulator of autoimmunity and inflammation », *Arthritis Rheum.*, vol. 48, nº 6, p. 1475-1477, juin 2003, doi: 10.1002/art.11025.

[107] P. M. Ridker, « Clinical application of C-reactive protein for cardiovascular disease detection and prevention », *Circulation*, vol. 107, nº 3, p. 363-369, janv. 2003, doi: 10.1161/01.cir.0000053730.47739.3c.

[108] G. Lippi, E. J. Favaloro, M. Montagnana, et M. Franchini, « C-reactive protein and venous thromboembolism: causal or casual association? », *Clin. Chem. Lab. Med.*, vol. 48, nº 12, p. 1693-1701, déc. 2010, doi: 10.1515/CCLM.2010.335.
[109] R. M. Simpson, A. Prancan, J. M. Izzi, et B. A. Fiedel, « Generation of thromboxane A2 and aorta-contracting activity from platelets stimulated with modified C-reactive protein », *Immunology*, vol. 47, nº 1, p. 193-202, sept. 1982.
[110] J. Nilsson, « CRP--marker or maker of cardiovascular disease? », *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, vol. 25, nº 8, p. 1527-1528, août 2005, doi: 10.1161/01.ATV.0000174796.81443.3f.
[111] S. Van Linthout et C. Tschöpe, « Inflammation - Cause or Consequence of Heart Failure or Both? », *Curr. Heart Fail. Rep.*, vol. 14, nº 4, p. 251-265, août 2017, doi: 10.1007/s11897-017-0337-9.
[112] C. Monaco, J. Nanchahal, P. Taylor, et M. Feldmann, « Anti-TNF therapy: past, present and future », *Int. Immunol.*, vol. 27, nº 1, p. 55-62, janv. 2015, doi: 10.1093/intimm/dxu102.
[113] F. Rolski et P. Błyszczuk, « Complexity of TNF-α Signaling in Heart Disease », *J. Clin. Med.*, vol. 9, nº 10, p. 3267, oct. 2020, doi: 10.3390/jcm9103267.
[114] U. M. Chandrasekharan *et al.*, « Tumor necrosis factor alpha (TNF-alpha) receptor-II is required for TNF-alpha-induced leukocyte-endothelial interaction in vivo », *Blood*, vol. 109, nº 5, p. 1938-1944, mars 2007, doi: 10.1182/blood-2006-05-020875.
[115] J. Lee, S. Lee, H. Zhang, M. A. Hill, C. Zhang, et Y. Park, « Interaction of IL-6 and TNF-α contributes to endothelial dysfunction in type 2 diabetic mouse hearts », *PloS One*, vol. 12, nº 11, p. e0187189, 2017, doi: 10.1371/journal.pone.0187189.
[116] M. Jacobs *et al.*, « Tumor necrosis factor-alpha at acute myocardial infarction in rats and effects on cardiac fibroblasts », *J. Mol. Cell. Cardiol.*, vol. 31, nº 11, p. 1949-1959, nov. 1999, doi: 10.1006/jmcc.1999.1007.
[117] K. E. Porter, N. A. Turner, D. J. O'Regan, et S. G. Ball, « Tumor necrosis factor alpha induces human atrial myofibroblast proliferation, invasion and MMP-9 secretion: inhibition by simvastatin », *Cardiovasc. Res.*, vol. 64, nº 3, p. 507-515, déc. 2004, doi: 10.1016/j.cardiores.2004.07.020.
[118] C. Duerrschmid *et al.*, « TNF receptor 1 signaling is critically involved in mediating angiotensin-II-induced cardiac fibrosis », *J. Mol. Cell. Cardiol.*, vol. 57, p. 59-67, avr. 2013, doi: 10.1016/j.yjmcc.2013.01.006.
[119] P. E. Bunney, A. N. Zink, A. A. Holm, C. J. Billington, et C. M. Kotz, « Orexin activation counteracts decreases in nonexercise activity thermogenesis (NEAT) caused by high-fat diet », *Physiol. Behav.*, vol. 176, p. 139-148, juill. 2017, doi: 10.1016/j.physbeh.2017.03.040.
[120] H. Loppnow et P. Libby, « Adult human vascular endothelial cells express the IL6 gene differentially in response to LPS or IL1 », *Cell. Immunol.*, vol. 122, nº 2, p. 493-503, sept. 1989, doi: 10.1016/0008-8749(89)90095-6.
[121] T. Kishimoto, S. Akira, et T. Taga, « Interleukin-6 and its receptor: a paradigm for cytokines », *Science*, vol. 258, nº 5082, p. 593-597, oct. 1992, doi: 10.1126/science.1411569.
[122] Z. Wei *et al.*, « The IL-6/STAT3 pathway regulates adhesion molecules and cytoskeleton of endothelial cells in thromboangiitis obliterans », *Cell. Signal.*, vol. 44, p. 118-126, avr. 2018, doi: 10.1016/j.cellsig.2018.01.015.
[123] H. Alsaffar, N. Martino, J. P. Garrett, et A. P. Adam, « Interleukin-6 promotes a sustained loss of endothelial barrier function via Janus kinase-mediated STAT3 phosphorylation and de novo protein synthesis », *Am. J. Physiol. Cell Physiol.*, vol. 314, nº 5, p. C589-C602, mai 2018, doi: 10.1152/ajpcell.00235.2017.

[124] I. Caiello *et al.*, « IL-6 amplifies TLR mediated cytokine and chemokine production: implications for the pathogenesis of rheumatic inflammatory diseases », *PloS One*, vol. 9, nº 10, p. e107886, 2014, doi: 10.1371/journal.pone.0107886.
[125] Y. Wang, C. J. Lammi-Keefe, L. Hou, et G. Hu, « Impact of low-density lipoprotein cholesterol on cardiovascular outcomes in people with type 2 diabetes: a meta-analysis of prospective cohort studies », *Diabetes Res. Clin. Pract.*, vol. 102, nº 1, p. 65-75, oct. 2013, doi: 10.1016/j.diabres.2013.07.009.
[126] P. Tsioufis, P. Theofilis, K. Tsioufis, et D. Tousoulis, « The Impact of Cytokines in Coronary Atherosclerotic Plaque: Current Therapeutic Approaches », *Int. J. Mol. Sci.*, vol. 23, nº 24, p. 15937, déc. 2022, doi: 10.3390/ijms232415937.
[127] P. van der Harst et N. Verweij, « Identification of 64 Novel Genetic Loci Provides an Expanded View on the Genetic Architecture of Coronary Artery Disease », *Circ. Res.*, vol. 122, nº 3, p. 433-443, févr. 2018, doi: 10.1161/CIRCRESAHA.117.312086.
[128] IL6R Genetics Consortium Emerging Risk Factors Collaboration *et al.*, « Interleukin-6 receptor pathways in coronary heart disease: a collaborative meta-analysis of 82 studies », *Lancet Lond. Engl.*, vol. 379, nº 9822, p. 1205-1213, mars 2012, doi: 10.1016/S0140-6736(11)61931-4.
[129] T. Cai *et al.*, « Association of Interleukin 6 Receptor Variant With Cardiovascular Disease Effects of Interleukin 6 Receptor Blocking Therapy: A Phenome-Wide Association Study », *JAMA Cardiol.*, vol. 3, nº 9, p. 849-857, sept. 2018, doi: 10.1001/jamacardio.2018.2287.
[130] M. C. S. Boshuizen et M. P. J. de Winther, « Interferons as Essential Modulators of Atherosclerosis », *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, vol. 35, nº 7, p. 1579-1588, juill. 2015, doi: 10.1161/ATVBAHA.115.305464.
[131] T. Homma *et al.*, « Cooperative activation of CCL5 expression by TLR3 and tumor necrosis factor-alpha or interferon-gamma through nuclear factor-kappaB or STAT-1 in airway epithelial cells », *Int. Arch. Allergy Immunol.*, vol. 152 Suppl 1, nº Suppl 1, p. 9-17, 2010, doi: 10.1159/000312120.
[132] N. N. Mehta *et al.*, « IFN-γ and TNF-α synergism may provide a link between psoriasis and inflammatory atherogenesis », *Sci. Rep.*, vol. 7, nº 1, p. 13831, oct. 2017, doi: 10.1038/s41598-017-14365-1.
[133] S. Gupta, A. M. Pablo, X. c Jiang, N. Wang, A. R. Tall, et C. Schindler, « IFN-gamma potentiates atherosclerosis in ApoE knock-out mice », *J. Clin. Invest.*, vol. 99, nº 11, p. 2752-2761, juin 1997, doi: 10.1172/JCI119465.
[134] C. Buono, C. E. Come, G. Stavrakis, G. F. Maguire, P. W. Connelly, et A. H. Lichtman, « Influence of interferon-gamma on the extent and phenotype of diet-induced atherosclerosis in the LDLR-deficient mouse », *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, vol. 23, nº 3, p. 454-460, mars 2003, doi: 10.1161/01.ATV.0000059419.11002.6E.
[135] Y.-B. Lv, J. Jing, J.-M. Li, J.-P. Zhong, L. Fang, et B. Yang, « Assessment of RANTES levels as the indicators of plaque vulnerability in rabbit models of atherosclerosis », *Pathol. Res. Pract.*, vol. 210, nº 12, p. 1031-1037, déc. 2014, doi: 10.1016/j.prp.2014.03.012.
[136] C. Viedt *et al.*, « Monocyte chemoattractant protein-1 induces proliferation and interleukin-6 production in human smooth muscle cells by differential activation of nuclear factor-kappaB and activator protein-1 », *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, vol. 22, nº 6, p. 914-920, juin 2002, doi: 10.1161/01.atv.0000019009.73586.7f.
[137] M. K. Georgakis *et al.*, « Genetically Determined Levels of Circulating Cytokines and Risk of Stroke », *Circulation*, vol. 139, nº 2, p. 256-268, janv. 2019, doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.118.035905.

[138] M. K. Georgakis *et al.*, « Association of Circulating Monocyte Chemoattractant Protein-1 Levels With Cardiovascular Mortality: A Meta-analysis of Population-Based Studies », *JAMA Cardiol.*, vol. 6, nº 5, p. 587-592, mai 2021, doi: 10.1001/jamacardio.2020.5392.
[139] R. R, « The pathogenesis of atherosclerosis: a perspective for the 1990s », *Nature*, vol. 362, nº 6423, avr. 1993, doi: 10.1038/362801a0.
[140] S. E. Heinonen *et al.*, « The effects of VEGF-A on atherosclerosis, lipoprotein profile, and lipoprotein lipase in hyperlipidaemic mouse models », *Cardiovasc. Res.*, vol. 99, nº 4, p. 716-723, sept. 2013, doi: 10.1093/cvr/cvt148.
[141] M. Braile *et al.*, « VEGF-A in Cardiomyocytes and Heart Diseases », *Int. J. Mol. Sci.*, vol. 21, nº 15, p. 5294, juill. 2020, doi: 10.3390/ijms21155294.
[142] R. Cj et S. Se, « The splice variants of vascular endothelial growth factor (VEGF) and their receptors », *J. Cell Sci.*, vol. 114, nº Pt 5, mars 2001, doi: 10.1242/jcs.114.5.853.
[143] G.-P. Z, C. T, H. Y, et N. G, « Neuropilin-2 is a receptor for the vascular endothelial growth factor (VEGF) forms VEGF-145 and VEGF-165 [corrected] », *J. Biol. Chem.*, vol. 275, nº 24, juin 2000, doi: 10.1074/jbc.M909259199.
[144] S. S, T. S, M. Hq, N. G, et K. M, « Neuropilin-1 is expressed by endothelial and tumor cells as an isoform-specific receptor for vascular endothelial growth factor », *Cell*, vol. 92, nº 6, mars 1998, doi: 10.1016/s0092-8674(00)81402-6.
[145] D. I. Holmes et I. Zachary, « The vascular endothelial growth factor (VEGF) family: angiogenic factors in health and disease », *Genome Biol.*, vol. 6, nº 2, p. 209, févr. 2005, doi: 10.1186/gb-2005-6-2-209.
[146] K. D. Steffensen, M. Waldstrøm, I. Brandslund, et A. Jakobsen, « The relationship of VEGF polymorphisms with serum VEGF levels and progression-free survival in patients with epithelial ovarian cancer », *Gynecol. Oncol.*, vol. 117, nº 1, p. 109-116, avr. 2010, doi: 10.1016/j.ygyno.2009.11.011.
[147] C. J. Watson, N. J. Webb, M. J. Bottomley, et P. E. Brenchley, « Identification of polymorphisms within the vascular endothelial growth factor (VEGF) gene: correlation with variation in VEGF protein production », *Cytokine*, vol. 12, nº 8, p. 1232-1235, août 2000, doi: 10.1006/cyto.2000.0692.
[148] Z. Tie *et al.*, « Single nucleotide polymorphisms in VEGF gene are associated with an increased risk of osteosarcoma », *Int. J. Clin. Exp. Pathol.*, vol. 7, nº 11, p. 8143-8149, 2014.
[149] J. Fan *et al.*, « Vascular endothelial growth factor polymorphisms and lung cancer risk », *Int. J. Clin. Exp. Med.*, vol. 8, nº 4, p. 6406-6411, 2015.
[150] T. Osadnik *et al.*, « The association of functional polymorphisms in genes encoding growth factors for endothelial cells and smooth muscle cells with the severity of coronary artery disease », *BMC Cardiovasc. Disord.*, vol. 16, p. 218, nov. 2016, doi: 10.1186/s12872-016-0402-4.
[151] W. M. Howell, S. Ali, M. J. Rose-Zerilli, et S. Ye, « VEGF polymorphisms and severity of atherosclerosis », *J. Med. Genet.*, vol. 42, nº 6, p. 485-490, juin 2005, doi: 10.1136/jmg.2004.025734.
[152] J. A. Abraham *et al.*, « Human basic fibroblast growth factor: nucleotide sequence and genomic organization. », *EMBO J.*, vol. 5, nº 10, p. 2523-2528, oct. 1986.
[153] G. Szebenyi et J. F. Fallon, « Fibroblast growth factors as multifunctional signaling factors », *Int. Rev. Cytol.*, vol. 185, p. 45-106, 1999, doi: 10.1016/s0074-7696(08)60149-7.
[154] M. Okada-Ban, J. P. Thiery, et J. Jouanneau, « Fibroblast growth factor-2 », *Int. J. Biochem. Cell Biol.*, vol. 32, nº 3, p. 263-267, mars 2000, doi: 10.1016/s1357-2725(99)00133-8.

[155] K. A. Detillieux, F. Sheikh, E. Kardami, et P. A. Cattini, « Biological activities of fibroblast growth factor-2 in the adult myocardium », *Cardiovasc. Res.*, vol. 57, nº 1, p. 8-19, janv. 2003, doi: 10.1016/s0008-6363(02)00708-3.
[156] X. Qi *et al.*, « (2-Hydroxypropyl)-β-Cyclodextrin Is a New Angiogenic Molecule for Therapeutic Angiogenesis », *PloS One*, vol. 10, nº 5, p. e0125323, 2015, doi: 10.1371/journal.pone.0125323.
[157] F. Sigala *et al.*, « Increased expression of bFGF is associated with carotid atherosclerotic plaques instability engaging the NF-κB pathway », *J. Cell. Mol. Med.*, vol. 14, nº 9, p. 2273-2280, sept. 2010, doi: 10.1111/j.1582-4934.2010.01082.x.
[158] C. I. Coon, S. Fiering, J. Gaudet, C. A. Wyatt, et C. E. Brinckerhoff, « Site controlled transgenic mice validating increased expression from human matrix metalloproteinase (MMP-1) promoter due to a naturally occurring SNP », *Matrix Biol. J. Int. Soc. Matrix Biol.*, vol. 28, nº 7, p. 425-431, sept. 2009, doi: 10.1016/j.matbio.2009.06.003.
[159] M. K. Akboga *et al.*, « Association of serum total bilirubin level with severity of coronary atherosclerosis is linked to systemic inflammation », *Atherosclerosis*, vol. 240, nº 1, p. 110-114, mai 2015, doi: 10.1016/j.atherosclerosis.2015.02.051.
[160] T. Osadnik *et al.*, « The Relationships between Polymorphisms in Genes Encoding the Growth Factors TGF-β1, PDGFB, EGF, bFGF and VEGF-A and the Restenosis Process in Patients with Stable Coronary Artery Disease Treated with Bare Metal Stent », *PLoS ONE*, vol. 11, nº 3, p. e0150500, mars 2016, doi: 10.1371/journal.pone.0150500.
[161] T. Osadnik *et al.*, « The Relationships between Polymorphisms in Genes Encoding the Growth Factors TGF-β1, PDGFB, EGF, bFGF and VEGF-A and the Restenosis Process in Patients with Stable Coronary Artery Disease Treated with Bare Metal Stent », *PloS One*, vol. 11, nº 3, p. e0150500, 2016, doi: 10.1371/journal.pone.0150500.
[162] Y. Higashi, S. Sukhanov, A. Anwar, S.-Y. Shai, et P. Delafontaine, « Aging, Atherosclerosis, and IGF-1 », *J. Gerontol. A. Biol. Sci. Med. Sci.*, vol. 67A, nº 6, p. 626-639, juin 2012, doi: 10.1093/gerona/gls102.
[163] D. Meinsma, P. E. Holthuizen, J. L. Van den Brande, et J. S. Sussenbach, « Specific endonucleolytic cleavage of IGF-II mRNAs », *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, vol. 179, nº 3, p. 1509-1516, sept. 1991, doi: 10.1016/0006-291X(91)91743-V.
[164] T. Shavlakadze, N. Winn, N. Rosenthal, et M. D. Grounds, « Reconciling data from transgenic mice that overexpress IGF-I specifically in skeletal muscle », *Growth Horm. IGF Res.*, vol. 15, nº 1, p. 4-18, févr. 2005, doi: 10.1016/j.ghir.2004.11.001.
[165] L. Gauguin *et al.*, « Alanine Scanning of a Putative Receptor Binding Surface of Insulin-like Growth Factor-I * », *J. Biol. Chem.*, vol. 283, nº 30, p. 20821-20829, juill. 2008, doi: 10.1074/jbc.M802620200.
[166] B. A. Magee, G. K. Shooter, J. C. Wallace, et G. L. Francis, « Insulin-like Growth Factor I and Its Binding Proteins: A Study of the Binding Interface Using B-Domain Analogues », *Biochemistry*, vol. 38, nº 48, p. 15863-15870, nov. 1999, doi: 10.1021/bi9910070.
[167] CARDIoGRAMplusC4D Consortium *et al.*, « Large-scale association analysis identifies new risk loci for coronary artery disease », *Nat. Genet.*, vol. 45, nº 1, p. 25-33, janv. 2013, doi: 10.1038/ng.2480.
[168] N. J. Ollberding *et al.*, « Genetic Variants, Prediagnostic Circulating Levels of Insulin-like Growth Factors, Insulin, and Glucose and the Risk of Colorectal Cancer: The Multiethnic Cohort Study », *Cancer Epidemiol. Biomark. Prev. Publ. Am. Assoc. Cancer Res. Cosponsored Am. Soc. Prev. Oncol.*, vol. 21, nº 5, p. 810-820, mai 2012, doi: 10.1158/1055-9965.EPI-11-1105.

[169] G. Sesti *et al.*, « A polymorphism at IGF1 locus is associated with carotid intima media thickness and endothelium-dependent vasodilatation », *Atherosclerosis*, vol. 232, nº 1, p. 25-30, janv. 2014, doi: 10.1016/j.atherosclerosis.2013.10.024.
[170] J. Massagué, « The transforming growth factor-beta family », *Annu. Rev. Cell Biol.*, vol. 6, p. 597-641, 1990, doi: 10.1146/annurev.cb.06.110190.003121.
[171] K. Koli, J. Saharinen, M. Hyytiäinen, C. Penttinen, et J. Keski-Oja, « Latency, activation, and binding proteins of TGF-beta », *Microsc. Res. Tech.*, vol. 52, nº 4, p. 354-362, févr. 2001, doi: 10.1002/1097-0029(20010215)52:4<354::AID-JEMT1020>3.0.CO;2-G.
[172] R. Derynck et Y. E. Zhang, « Smad-dependent and Smad-independent pathways in TGF-beta family signalling », *Nature*, vol. 425, nº 6958, p. 577-584, oct. 2003, doi: 10.1038/nature02006.
[173] L. Scotto, P. I. Vaduva, R. E. Wager, et R. K. Assoian, « Type beta 1 transforming growth factor gene expression. A corrected mRNA structure reveals a downstream phorbol ester responsive element in human cells. », *J. Biol. Chem.*, vol. 265, nº 4, p. 2203-2208, févr. 1990, doi: 10.1016/S0021-9258(19)39962-4.
[174] R. P. Penttinen, S. Kobayashi, et P. Bornstein, « Transforming growth factor beta increases mRNA for matrix proteins both in the presence and in the absence of changes in mRNA stability », *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, vol. 85, nº 4, p. 1105-1108, févr. 1988, doi: 10.1073/pnas.85.4.1105.
[175] D. J. Grainger, « TGF-beta and atherosclerosis in man », *Cardiovasc. Res.*, vol. 74, nº 2, p. 213-222, mai 2007, doi: 10.1016/j.cardiores.2007.02.022.
[176] D. Kajdaniuk, B. Marek, H. Borgiel-Marek, et B. Kos-Kudła, « Transforming growth factor β1 (TGFβ1) in physiology and pathology », *Endokrynol. Pol.*, vol. 64, nº 5, p. 384-396, 2013, doi: 10.5603/EP.2013.0022.
[177] S. Pooja *et al.*, « Strong impact of TGF-β1 gene polymorphisms on breast cancer risk in Indian women: a case-control and population-based study », *PloS One*, vol. 8, nº 10, p. e75979, 2013, doi: 10.1371/journal.pone.0075979.
[178] J. Szkodzinski *et al.*, « The role of interleukin-6 and transforming growth factor-beta1 in predicting restenosis within stented infarct-related artery », *Int. J. Immunopathol. Pharmacol.*, vol. 22, nº 2, p. 493-500, 2009, doi: 10.1177/039463200902200226.
[179] B. Hudzik *et al.*, « No predictive value of serum interleukin-6 and transforming growth factor-beta1 in identifying patients with a first restenosis, recurrent restenosis or a history of restenosis », *Eur. Cytokine Netw.*, vol. 20, nº 3, p. 135-139, sept. 2009, doi: 10.1684/ecn.2009.0160.
[180] J. M. Fragoso *et al.*, « The T29C (rs1800470) polymorphism of the transforming growth factor-β1 (TGF-β1) gene is associated with restenosis after coronary stenting in Mexican patients », *Exp. Mol. Pathol.*, vol. 98, nº 1, p. 13-17, févr. 2015, doi: 10.1016/j.yexmp.2014.11.007.
[181] R. D. Kenagy, C. E. Hart, W. G. Stetler-Stevenson, et A. W. Clowes, « Primate smooth muscle cell migration from aortic explants is mediated by endogenous platelet-derived growth factor and basic fibroblast growth factor acting through matrix metalloproteinases 2 and 9 », *Circulation*, vol. 96, nº 10, p. 3555-3560, nov. 1997, doi: 10.1161/01.cir.96.10.3555.
[182] A. Greco *et al.*, « Transforming activity of the chimeric sequence formed by the fusion of collagen gene COL1A1 and the platelet derived growth factor b-chain gene in dermatofibrosarcoma protuberans », *Oncogene*, vol. 17, nº 10, p. 1313-1319, sept. 1998, doi: 10.1038/sj.onc.1202051.

[183] C. H. Heldin, A. Ostman, et L. Rönnstrand, « Signal transduction via platelet-derived growth factor receptors », *Biochim. Biophys. Acta*, vol. 1378, nº 1, p. F79-113, août 1998, doi: 10.1016/s0304-419x(98)00015-8.
[184] A. Levitzki, « PDGF receptor kinase inhibitors for the treatment of restenosis », *Cardiovasc. Res.*, vol. 65, nº 3, p. 581-586, févr. 2005, doi: 10.1016/j.cardiores.2004.08.008.
[185] B. Bicanski *et al.*, « PDGF-B gene single-nucleotide polymorphisms are not predictive for disease onset or progression of IgA nephropathy », *Clin. Nephrol.*, vol. 67, nº 2, p. 65-72, févr. 2007, doi: 10.5414/cnp67065.
[186] Writing Group Members *et al.*, « Heart Disease and Stroke Statistics-2016 Update: A Report From the American Heart Association », *Circulation*, vol. 133, nº 4, p. e38-360, janv. 2016, doi: 10.1161/CIR.0000000000000350.
[187] GBD 2017 Causes of Death Collaborators, « Global, regional, and national age-sex-specific mortality for 282 causes of death in 195 countries and territories, 1980-2017: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2017 », *Lancet Lond. Engl.*, vol. 392, nº 10159, p. 1736-1788, nov. 2018, doi: 10.1016/S0140-6736(18)32203-7.
[188] J. T. Neumann, A. Goßling, N. A. Sörensen, S. Blankenberg, C. Magnussen, et D. Westermann, « Temporal trends in incidence and outcome of acute coronary syndrome », *Clin. Res. Cardiol. Off. J. Ger. Card. Soc.*, vol. 109, nº 9, p. 1186-1192, sept. 2020, doi: 10.1007/s00392-020-01612-1.
[189] B. Aliprandi-Costa *et al.*, « Management and outcomes of patients with acute coronary syndromes in Australia and New Zealand, 2000–2007 », *Med. J. Aust.*, vol. 195, nº 3, août 2011, Consulté le: 8 janvier 2023. [En ligne]. Disponible sur: https://www.mja.com.au/journal/2011/195/3/management-and-outcomes-patients-acute-coronary-syndromes-australia-and-new
[190] K. Szummer *et al.*, « Relations between implementation of new treatments and improved outcomes in patients with non-ST-elevation myocardial infarction during the last 20 years: experiences from SWEDEHEART registry 1995 to 2014 », *Eur. Heart J.*, vol. 39, nº 42, p. 3766-3776, nov. 2018, doi: 10.1093/eurheartj/ehy554.
[191] E. Puymirat *et al.*, « Acute Myocardial Infarction: Changes in Patient Characteristics, Management, and 6-Month Outcomes Over a Period of 20 Years in the FAST-MI Program (French Registry of Acute ST-Elevation or Non-ST-Elevation Myocardial Infarction) 1995 to 2015 », *Circulation*, vol. 136, nº 20, p. 1908-1919, nov. 2017, doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.117.030798.
[192] L. Björck, A. Rosengren, K. Bennett, G. Lappas, et S. Capewell, « Modelling the decreasing coronary heart disease mortality in Sweden between 1986 and 2002 », *Eur. Heart J.*, vol. 30, nº 9, p. 1046-1056, mai 2009, doi: 10.1093/eurheartj/ehn554.
[193] GBD 2019 Diseases and Injuries Collaborators, « Global burden of 369 diseases and injuries in 204 countries and territories, 1990-2019: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2019 », *Lancet Lond. Engl.*, vol. 396, nº 10258, p. 1204-1222, oct. 2020, doi: 10.1016/S0140-6736(20)30925-9.
[194] C. W. Tsao *et al.*, « Heart Disease and Stroke Statistics-2022 Update: A Report From the American Heart Association », *Circulation*, vol. 145, nº 8, p. e153-e639, févr. 2022, doi: 10.1161/CIR.0000000000001052.
[195] S. S. Virani *et al.*, « Heart Disease and Stroke Statistics-2021 Update: A Report From the American Heart Association », *Circulation*, vol. 143, nº 8, p. e254-e743, févr. 2021, doi: 10.1161/CIR.0000000000000950.
[196] G. R. Dagenais *et al.*, « Variations in common diseases, hospital admissions, and deaths in middle-aged adults in 21 countries from five continents (PURE): a

prospective cohort study », *Lancet Lond. Engl.*, vol. 395, nº 10226, p. 785-794, mars 2020, doi: 10.1016/S0140-6736(19)32007-0.
[197] Y. Chandrashekhar *et al.*, « Resource and Infrastructure-Appropriate Management of ST-Segment Elevation Myocardial Infarction in Low- and Middle-Income Countries », *Circulation*, vol. 141, nº 24, p. 2004-2025, juin 2020, doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.119.041297.
[198] J.-P. Collet *et al.*, « 2020 ESC Guidelines for the management of acute coronary syndromes in patients presenting without persistent ST-segment elevation », *Eur. Heart J.*, vol. 42, nº 14, p. 1289-1367, avr. 2021, doi: 10.1093/eurheartj/ehaa575.
[199] M. A. Omer *et al.*, « Clinical Characteristics and Outcomes of STEMI Patients With Cardiogenic Shock and Cardiac Arrest », *JACC Cardiovasc. Interv.*, vol. 13, nº 10, p. 1211-1219, mai 2020, doi: 10.1016/j.jcin.2020.04.004.
[200] I. Tabas, G. García-Cardeña, et G. K. Owens, « Recent insights into the cellular biology of atherosclerosis », *J. Cell Biol.*, vol. 209, nº 1, p. 13-22, avr. 2015, doi: 10.1083/jcb.201412052.
[201] A. J. Lusis, « Atherosclerosis », *Nature*, vol. 407, nº 6801, Art. nº 6801, sept. 2000, doi: 10.1038/35025203.
[202] T. Wang et J. Butany, « Pathogenesis of atherosclerosis », *Diagn. Histopathol.*, vol. 23, nº 11, p. 473-478, nov. 2017, doi: 10.1016/j.mpdhp.2017.11.009.
[203] A. Timmis, « Acute coronary syndromes », *BMJ*, vol. 351, p. h5153, oct. 2015, doi: 10.1136/bmj.h5153.
[204] K. Thygesen, J. S. Alpert, A. S. Jaffe, M. L. Simoons, B. R. Chaitman, et H. D. White, « Third Universal Definition of Myocardial Infarction », *Circulation*, vol. 126, nº 16, p. 2020-2035, oct. 2012, doi: 10.1161/CIR.0b013e31826e1058.
[205] P. Bahrmann, J. Rach, S. Desch, G. C. Schuler, et H. Thiele, « Incidence and distribution of occluded culprit arteries and impact of coronary collaterals on outcome in patients with non-ST-segment elevation myocardial infarction and early invasive treatment strategy », *Clin. Res. Cardiol. Off. J. Ger. Card. Soc.*, vol. 100, nº 5, p. 457-467, mai 2011, doi: 10.1007/s00392-010-0269-9.
[206] B. Ibanez *et al.*, « 2017 ESC Guidelines for the management of acute myocardial infarction in patients presenting with ST-segment elevation: The Task Force for the management of acute myocardial infarction in patients presenting with ST-segment elevation of the European Society of Cardiology (ESC) », *Eur. Heart J.*, vol. 39, nº 2, p. 119-177, janv. 2018, doi: 10.1093/eurheartj/ehx393.
[207] « Invasive compared with non-invasive treatment in unstable coronary-artery disease: FRISC II prospective randomised multicentre study. FRagmin and Fast Revascularisation during InStability in Coronary artery disease Investigators », *Lancet Lond. Engl.*, vol. 354, nº 9180, p. 708-715, août 1999.
[208] N. J. Wald et M. R. Law, « A strategy to reduce cardiovascular disease by more than 80% », *BMJ*, vol. 326, nº 7404, p. 1419, juin 2003, doi: 10.1136/bmj.326.7404.1419.
[209] S. G. Rockson, E. M. deGoma, et G. C. Fonarow, « Reinforcing a continuum of care: in-hospital initiation of long-term secondary prevention following acute coronary syndromes », *Cardiovasc. Drugs Ther.*, vol. 21, nº 5, p. 375-388, oct. 2007, doi: 10.1007/s10557-007-6043-1.
[210] S. Lewington, R. Clarke, N. Qizilbash, R. Peto, R. Collins, et Prospective Studies Collaboration, « Age-specific relevance of usual blood pressure to vascular mortality: a meta-analysis of individual data for one million adults in 61 prospective studies », *Lancet Lond. Engl.*, vol. 360, nº 9349, p. 1903-1913, déc. 2002, doi: 10.1016/s0140-6736(02)11911-8.

[211] D. Ettehad *et al.*, « Blood pressure lowering for prevention of cardiovascular disease and death: a systematic review and meta-analysis », *Lancet Lond. Engl.*, vol. 387, nº 10022, p. 957-967, mars 2016, doi: 10.1016/S0140-6736(15)01225-8.
[212] C. P. Cannon *et al.*, « Ezetimibe Added to Statin Therapy after Acute Coronary Syndromes », *N. Engl. J. Med.*, vol. 372, nº 25, p. 2387-2397, juin 2015, doi: 10.1056/NEJMoa1410489.
[213] G. G. Schwartz *et al.*, « Alirocumab and Cardiovascular Outcomes after Acute Coronary Syndrome », *N. Engl. J. Med.*, vol. 379, nº 22, p. 2097-2107, nov. 2018, doi: 10.1056/NEJMoa1801174.
[214] M. S. Sabatine *et al.*, « Evolocumab and Clinical Outcomes in Patients with Cardiovascular Disease », *N. Engl. J. Med.*, vol. 376, nº 18, p. 1713-1722, mai 2017, doi: 10.1056/NEJMoa1615664.
[215] B. Nieswandt, I. Pleines, et M. Bender, « Platelet adhesion and activation mechanisms in arterial thrombosis and ischaemic stroke », *J. Thromb. Haemost. JTH*, vol. 9 Suppl 1, p. 92-104, juill. 2011, doi: 10.1111/j.1538-7836.2011.04361.x.
[216] M. Cattaneo, « P2Y12 receptors: structure and function », *J. Thromb. Haemost. JTH*, vol. 13 Suppl 1, p. S10-16, juin 2015, doi: 10.1111/jth.12952.
[217] S. A. Scott *et al.*, « Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium guidelines for CYP2C19 genotype and clopidogrel therapy: 2013 update », *Clin. Pharmacol. Ther.*, vol. 94, nº 3, p. 317-323, sept. 2013, doi: 10.1038/clpt.2013.105.
[218] J. L. Mega *et al.*, « Cytochrome P450 genetic polymorphisms and the response to prasugrel: relationship to pharmacokinetic, pharmacodynamic, and clinical outcomes », *Circulation*, vol. 119, nº 19, p. 2553-2560, mai 2009, doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.109.851949.
[219] J. J. Nawarskas et S. M. Clark, « Ticagrelor: a novel reversible oral antiplatelet agent », *Cardiol. Rev.*, vol. 19, nº 2, p. 95-100, 2011, doi: 10.1097/CRD.0b013e3182099d86.
[220] J. J. J. VAN Giezen *et al.*, « Ticagrelor binds to human P2Y(12) independently from ADP but antagonizes ADP-induced receptor signaling and platelet aggregation », *J. Thromb. Haemost. JTH*, vol. 7, nº 9, p. 1556-1565, sept. 2009, doi: 10.1111/j.1538-7836.2009.03527.x.
[221] M. T. Holmberg *et al.*, « CYP3A4*22 Impairs the Elimination of Ticagrelor, But Has No Significant Effect on the Bioactivation of Clopidogrel or Prasugrel », *Clin. Pharmacol. Ther.*, vol. 105, nº 2, p. 448-457, févr. 2019, doi: 10.1002/cpt.1177.
[222] L. De Luca, P. G. Steg, D. L. Bhatt, D. Capodanno, et D. J. Angiolillo, « Cangrelor: Clinical Data, Contemporary Use, and Future Perspectives », *J. Am. Heart Assoc.*, vol. 10, nº 13, p. e022125, juill. 2021, doi: 10.1161/JAHA.121.022125.
[223] R. P. Milluzzo, G. A. Franchina, D. Capodanno, et D. J. Angiolillo, « Selatogrel, a novel P2Y12 inhibitor: a review of the pharmacology and clinical development », *Expert Opin. Investig. Drugs*, vol. 29, nº 6, p. 537-546, juin 2020, doi: 10.1080/13543784.2020.1764533.
[224] C. J. Beavers, S. A. Effoe, et P. P. Dobesh, « Selatogrel: A Novel Subcutaneous P2Y12 Inhibitor », *J. Cardiovasc. Pharmacol.*, vol. 79, nº 2, p. 161-167, févr. 2022, doi: 10.1097/FJC.0000000000001079.
[225] M. Kazui *et al.*, « Identification of the human cytochrome P450 enzymes involved in the two oxidative steps in the bioactivation of clopidogrel to its pharmacologically active metabolite », *Drug Metab. Dispos. Biol. Fate Chem.*, vol. 38, nº 1, p. 92-99, janv. 2010, doi: 10.1124/dmd.109.029132.
[226] J. T. Brandt *et al.*, « Common polymorphisms of CYP2C19 and CYP2C9 affect the pharmacokinetic and pharmacodynamic response to clopidogrel but not prasugrel », *J.*

Thromb. Haemost., vol. 5, nº 12, p. 2429-2436, 2007, doi: https://doi.org/10.1111/j.1538-7836.2007.02775.x.
[227] H. Caplain, F. Donat, C. Gaud, et J. Necciari, « Pharmacokinetics of clopidogrel », *Semin. Thromb. Hemost.*, vol. 25 Suppl 2, p. 25-28, 1999.
[228] P. Savi *et al.*, « Identification and biological activity of the active metabolite of clopidogrel », *Thromb. Haemost.*, vol. 84, nº 5, p. 891-896, nov. 2000.
[229] « Clopidogrel Pathway, Pharmacokinetics », PharmGKB. Consulté le: 9 mars 2021. [En ligne]. Disponible sur: https://www.pharmgkb.org/pathway/PA154424674
[230] D. Taubert *et al.*, « Impact of P-glycoprotein on clopidogrel absorption », *Clin. Pharmacol. Ther.*, vol. 80, nº 5, p. 486-501, 2006, doi: 10.1016/j.clpt.2006.07.007.
[231] K. L. Fung et M. M. Gottesman, « A synonymous polymorphism in a common MDR1 (ABCB1) haplotype shapes protein function », *Biochim. Biophys. Acta BBA - Proteins Proteomics*, vol. 1794, nº 5, p. 860-871, mai 2009, doi: 10.1016/j.bbapap.2009.02.014.
[232] S. Hoffmeyer *et al.*, « Functional polymorphisms of the human multidrug-resistance gene: Multiple sequence variations and correlation of one allele with P-glycoprotein expression and activity in vivo », *Proc. Natl. Acad. Sci.*, vol. 97, nº 7, p. 3473-3478, mars 2000, doi: 10.1073/pnas.97.7.3473.
[233] V. Eswaran, H. Harpending, et A. R. Rogers, « Genomics refutes an exclusively African origin of humans », *J. Hum. Evol.*, vol. 49, nº 1, p. 1-18, juill. 2005, doi: 10.1016/j.jhevol.2005.02.006.
[234] A. R. Shuldiner *et al.*, « Association of cytochrome P450 2C19 genotype with the antiplatelet effect and clinical efficacy of clopidogrel therapy », *JAMA*, vol. 302, nº 8, p. 849-857, août 2009, doi: 10.1001/jama.2009.1232.
[235] J. K. Hicks *et al.*, « Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium (CPIC) Guideline for CYP2D6 and CYP2C19 Genotypes and Dosing of Selective Serotonin Reuptake Inhibitors », *Clin. Pharmacol. Ther.*, vol. 98, nº 2, p. 127-134, août 2015, doi: 10.1002/cpt.147.
[236] D. Sibbing *et al.*, « Cytochrome P450 2C19 loss-of-function polymorphism and stent thrombosis following percutaneous coronary intervention », *Eur. Heart J.*, vol. 30, nº 8, p. 916-922, avr. 2009, doi: 10.1093/eurheartj/ehp041.
[237] K. A. Tiroch *et al.*, « Protective effect of the CYP2C19 *17 polymorphism with increased activation of clopidogrel on cardiovascular events », *Am. Heart J.*, vol. 160, nº 3, p. 506-512, sept. 2010, doi: 10.1016/j.ahj.2010.06.039.
[238] D. Sibbing *et al.*, « Cytochrome 2C19*17 allelic variant, platelet aggregation, bleeding events, and stent thrombosis in clopidogrel-treated patients with coronary stent placement », *Circulation*, vol. 121, nº 4, p. 512-518, févr. 2010, doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.109.885194.
[239] C. Varenhorst *et al.*, « Effect of genetic variations on ticagrelor plasma levels and clinical outcomes », *Eur. Heart J.*, vol. 36, nº 29, p. 1901-1912, août 2015, doi: 10.1093/eurheartj/ehv116.
[240] F. Franchi, F. Rollini, et D. J. Angiolillo, « Antithrombotic therapy for patients with STEMI undergoing primary PCI », *Nat. Rev. Cardiol.*, vol. 14, nº 6, p. 361-379, juin 2017, doi: 10.1038/nrcardio.2017.18.
[241] G. S. Ginsburg, M. P. Donahue, et L. K. Newby, « Prospects for personalized cardiovascular medicine: the impact of genomics », *J. Am. Coll. Cardiol.*, vol. 46, nº 9, p. 1615-1627, nov. 2005, doi: 10.1016/j.jacc.2005.06.075.
[242] E. G. Nabel, « Cardiovascular disease », *N. Engl. J. Med.*, vol. 349, nº 1, p. 60-72, juill. 2003, doi: 10.1056/NEJMra035098.

[243] M. Vrablik, L. Tichý, T. Freiberger, V. Blaha, M. Satny, et J. A. Hubacek, « Genetics of Familial Hypercholesterolemia: New Insights », *Front. Genet.*, vol. 11, p. 574474, 2020, doi: 10.3389/fgene.2020.574474.
[244] L. A. Lange *et al.*, « Whole-exome sequencing identifies rare and low-frequency coding variants associated with LDL cholesterol », *Am. J. Hum. Genet.*, vol. 94, nº 2, p. 233-245, févr. 2014, doi: 10.1016/j.ajhg.2014.01.010.
[245] F. A. Al-Allaf *et al.*, « Next generation sequencing to identify novel genetic variants causative of autosomal dominant familial hypercholesterolemia associated with increased risk of coronary heart disease », *Gene*, vol. 565, nº 1, p. 76-84, juill. 2015, doi: 10.1016/j.gene.2015.03.064.
[246] S. Mikhailova, D. Ivanoshchuk, O. Timoshchenko, et E. Shakhtshneider, « Genes Potentially Associated with Familial Hypercholesterolemia », *Biomolecules*, vol. 9, nº 12, p. 807, nov. 2019, doi: 10.3390/biom9120807.
[247] A. Pirillo *et al.*, « Spectrum of mutations in Italian patients with familial hypercholesterolemia: New results from the LIPIGEN study », *Atheroscler. Suppl.*, vol. 29, p. 17-24, oct. 2017, doi: 10.1016/j.atherosclerosissup.2017.07.002.
[248] P. Corral *et al.*, « Unusual genetic variants associated with hypercholesterolemia in Argentina », *Atherosclerosis*, vol. 277, p. 256-261, oct. 2018, doi: 10.1016/j.atherosclerosis.2018.06.009.
[249] Q. Wang, « Molecular genetics of coronary artery disease », *Curr. Opin. Cardiol.*, vol. 20, nº 3, p. 182-188, mai 2005, doi: 10.1097/01.hco.0000160373.77190.f1.
[250] Y. Song, M. J. Stampfer, et S. Liu, « Meta-analysis: apolipoprotein E genotypes and risk for coronary heart disease », *Ann. Intern. Med.*, vol. 141, nº 2, p. 137-147, juill. 2004, doi: 10.7326/0003-4819-141-2-200407200-00013.
[251] Z. Ye *et al.*, « Seven haemostatic gene polymorphisms in coronary disease: meta-analysis of 66,155 cases and 91,307 controls », *Lancet Lond. Engl.*, vol. 367, nº 9511, p. 651-658, févr. 2006, doi: 10.1016/S0140-6736(06)68263-9.
[252] Y. Yamada, « Identification of genetic factors and development of genetic risk diagnosis systems for cardiovascular diseases and stroke », *Circ. J. Off. J. Jpn. Circ. Soc.*, vol. 70, nº 10, p. 1240-1248, oct. 2006, doi: 10.1253/circj.70.1240.
[253] P. H. Reitsma et F. R. Rosendaal, « Past and future of genetic research in thrombosis », *J. Thromb. Haemost. JTH*, vol. 5 Suppl 1, p. 264-269, juill. 2007, doi: 10.1111/j.1538-7836.2007.02502.x.
[254] E. J. Topol *et al.*, « Single nucleotide polymorphisms in multiple novel thrombospondin genes may be associated with familial premature myocardial infarction », *Circulation*, vol. 104, nº 22, p. 2641-2644, nov. 2001, doi: 10.1161/hc4701.100910.
[255] Y. Yamada *et al.*, « Prediction of the risk of myocardial infarction from polymorphisms in candidate genes », *N. Engl. J. Med.*, vol. 347, nº 24, p. 1916-1923, déc. 2002, doi: 10.1056/NEJMoa021445.
[256] J. J. McCarthy *et al.*, « Large scale association analysis for identification of genes underlying premature coronary heart disease: cumulative perspective from analysis of 111 candidate genes », *J. Med. Genet.*, vol. 41, nº 5, p. 334-341, mai 2004, doi: 10.1136/jmg.2003.016584.
[257] IBC 50K CAD Consortium, « Large-scale gene-centric analysis identifies novel variants for coronary artery disease », *PLoS Genet.*, vol. 7, nº 9, p. e1002260, sept. 2011, doi: 10.1371/journal.pgen.1002260.
[258] K. Ozaki *et al.*, « Functional SNPs in the lymphotoxin-alpha gene that are associated with susceptibility to myocardial infarction », *Nat. Genet.*, vol. 32, nº 4, p. 650-654, déc. 2002, doi: 10.1038/ng1047.

[259] H. Schunkert *et al.*, « Large-scale association analysis identifies 13 new susceptibility loci for coronary artery disease », *Nat. Genet.*, vol. 43, nº 4, p. 333-338, mars 2011, doi: 10.1038/ng.784.
[260] M. Nikpay *et al.*, « A comprehensive 1,000 Genomes-based genome-wide association meta-analysis of coronary artery disease », *Nat. Genet.*, vol. 47, nº 10, p. 1121-1130, oct. 2015, doi: 10.1038/ng.3396.
[261] P. van der Harst et N. Verweij, « Identification of 64 Novel Genetic Loci Provides an Expanded View on the Genetic Architecture of Coronary Artery Disease », *Circ. Res.*, vol. 122, nº 3, p. 433-443, févr. 2018, doi: 10.1161/CIRCRESAHA.117.312086.
[262] J. M. M. Howson *et al.*, « Fifteen new risk loci for coronary artery disease highlight arterial-wall-specific mechanisms », *Nat. Genet.*, vol. 49, nº 7, p. 1113-1119, juill. 2017, doi: 10.1038/ng.3874.
[263] C. P. Nelson *et al.*, « Association analyses based on false discovery rate implicate new loci for coronary artery disease », *Nat. Genet.*, vol. 49, nº 9, p. 1385-1391, sept. 2017, doi: 10.1038/ng.3913.
[264] X. Lu *et al.*, « Exome chip meta-analysis identifies novel loci and East Asian-specific coding variants that contribute to lipid levels and coronary artery disease », *Nat. Genet.*, vol. 49, nº 12, p. 1722-1730, déc. 2017, doi: 10.1038/ng.3978.
[265] S. Koyama *et al.*, « Population-specific and trans-ancestry genome-wide analyses identify distinct and shared genetic risk loci for coronary artery disease », *Nat. Genet.*, vol. 52, nº 11, p. 1169-1177, nov. 2020, doi: 10.1038/s41588-020-0705-3.
[266] K. Miyazawa et K. Ito, « Genetic Analysis for Coronary Artery Disease Toward Diverse Populations », *Front. Genet.*, vol. 12, p. 766485, nov. 2021, doi: 10.3389/fgene.2021.766485.
[267] L. G. Biesecker et R. C. Green, « Diagnostic Clinical Genome and Exome Sequencing », http://dx.doi.org/10.1056/NEJMra1312543. Consulté le: 22 avril 2020. [En ligne]. Disponible sur: https://www.nejm.org/doi/10.1056/NEJMra1312543
[268] G. R. Oliver, S. N. Hart, et E. W. Klee, « Bioinformatics for Clinical Next Generation Sequencing », *Clin. Chem.*, vol. 61, nº 1, p. 124-135, janv. 2015, doi: 10.1373/clinchem.2014.224360.
[269] P. Igaz et A. Patocs, Éd., *Genetics of Endocrine Diseases and Syndromes*. in Experientia Supplementum. Springer International Publishing, 2019. doi: 10.1007/978-3-030-25905-1.
[270] « A map of human genome variation from population scale sequencing », *Nature*, vol. 467, nº 7319, p. 1061-1073, oct. 2010, doi: 10.1038/nature09534.
[271] J. Shea *et al.*, « Comparing strategies to fine-map the association of common SNPs at chromosome 9p21 with type 2 diabetes and myocardial infarction », *Nat. Genet.*, vol. 43, nº 8, Art. nº 8, août 2011, doi: 10.1038/ng.871.
[272] A. V. Khera *et al.*, « Genetic Risk, Adherence to a Healthy Lifestyle, and Coronary Disease », *N. Engl. J. Med.*, vol. 375, nº 24, p. 2349-2358, déc. 2016, doi: 10.1056/NEJMoa1605086.
[273] M. Inouye *et al.*, « Genomic Risk Prediction of Coronary Artery Disease in 480,000 Adults: Implications for Primary Prevention », *J. Am. Coll. Cardiol.*, vol. 72, nº 16, p. 1883-1893, oct. 2018, doi: 10.1016/j.jacc.2018.07.079.
[274] Y. Okada *et al.*, « Genetics of rheumatoid arthritis contributes to biology and drug discovery », *Nature*, vol. 506, nº 7488, p. 376-381, févr. 2014, doi: 10.1038/nature12873.
[275] K. Musunuru *et al.*, « Exome sequencing, ANGPTL3 mutations, and familial combined hypolipidemia », *N. Engl. J. Med.*, vol. 363, nº 23, p. 2220-2227, déc. 2010, doi: 10.1056/NEJMoa1002926.

[276] F. E. Dewey *et al.*, « Genetic and Pharmacologic Inactivation of ANGPTL3 and Cardiovascular Disease », *N. Engl. J. Med.*, vol. 377, nº 3, p. 211-221, juill. 2017, doi: 10.1056/NEJMoa1612790.
[277] M. J. Graham *et al.*, « Cardiovascular and Metabolic Effects of ANGPTL3 Antisense Oligonucleotides », *N. Engl. J. Med.*, vol. 377, nº 3, p. 222-232, juill. 2017, doi: 10.1056/NEJMoa1701329.
[278] J. L. Mega *et al.*, « Genetic risk, coronary heart disease events, and the clinical benefit of statin therapy: an analysis of primary and secondary prevention trials », *Lancet Lond. Engl.*, vol. 385, nº 9984, p. 2264-2271, juin 2015, doi: 10.1016/S0140-6736(14)61730-X.
[279] H. Tada *et al.*, « Risk prediction by genetic risk scores for coronary heart disease is independent of self-reported family history », *Eur. Heart J.*, vol. 37, nº 6, p. 561-567, févr. 2016, doi: 10.1093/eurheartj/ehv462.
[280] K. Beaney, F. Drenos, et S. E. Humphries, « How close are we to implementing a genetic risk score for coronary heart disease? », *Expert Rev. Mol. Diagn.*, vol. 17, nº 10, p. 905-915, oct. 2017, doi: 10.1080/14737159.2017.1368388.
[281] U. Malapelle *et al.*, « Ion Torrent next-generation sequencing for routine identification of clinically relevant mutations in colorectal cancer patients », *J. Clin. Pathol.*, vol. 68, nº 1, p. 64-68, janv. 2015, doi: 10.1136/jclinpath-2014-202691.
[282] E. R. Mardis, « Next-generation sequencing platforms », *Annu. Rev. Anal. Chem. Palo Alto Calif*, vol. 6, p. 287-303, 2013, doi: 10.1146/annurev-anchem-062012-092628.
[283] S. R. Head *et al.*, « Library construction for next-generation sequencing: Overviews and challenges », *BioTechniques*, vol. 56, nº 2, p. 61-passim, févr. 2014, doi: 10.2144/000114133.
[284] J. M. Rothberg *et al.*, « An integrated semiconductor device enabling non-optical genome sequencing », *Nature*, vol. 475, nº 7356, Art. nº 7356, juill. 2011, doi: 10.1038/nature10242.
[285] G.-Q. Shen, K. G. Abdullah, et Q. K. Wang, « The TaqMan Method for SNP Genotyping », in *Single Nucleotide Polymorphisms: Methods and Protocols*, A. A. Komar, Éd., in Methods in Molecular Biology™. , Totowa, NJ: Humana Press, 2009, p. 293-306. doi: 10.1007/978-1-60327-411-1_19.
[286] J. G. Duan *et al.*, « Sex Differences in Epidemiology and Risk Factors of Acute Coronary Syndrome in Chinese Patients with Type 2 Diabetes: A Long-Term Prospective Cohort Study », *PLoS ONE*, vol. 10, nº 4, p. e0122031, avr. 2015, doi: 10.1371/journal.pone.0122031.
[287] F. A. Cader, S. Banerjee, et M. Gulati, « Sex Differences in Acute Coronary Syndromes: A Global Perspective », *J. Cardiovasc. Dev. Dis.*, vol. 9, nº 8, p. 239, juill. 2022, doi: 10.3390/jcdd9080239.
[288] T. R. Sakkers *et al.*, « Sex differences in the genetic and molecular mechanisms of coronary artery disease », *Atherosclerosis*, vol. 384, p. 117279, nov. 2023, doi: 10.1016/j.atherosclerosis.2023.117279.
[289] A. N. Long et S. Dagogo-Jack, « Comorbidities of Diabetes and Hypertension: Mechanisms and Approach to Target Organ Protection », *J. Clin. Hypertens.*, vol. 13, nº 4, p. 244-251, avr. 2011, doi: 10.1111/j.1751-7176.2011.00434.x.
[290] K. Mc Namara, H. Alzubaidi, et J. K. Jackson, « Cardiovascular disease as a leading cause of death: how are pharmacists getting involved? », *Integr. Pharm. Res. Pract.*, vol. 8, p. 1-11, févr. 2019, doi: 10.2147/IPRP.S133088.
[291] H. Shah, A. Altaf, M. Salahuddin, M. Ullah Jan, et A. Khan, « Cardiovascular risk factors of hypertension, smoking and obesity: Emerging concerns among Pathan and

Persian young adults? », *Med. J. Islam. Repub. Iran*, vol. 32, p. 129, déc. 2018, doi: 10.14196/mjiri.32.129.
[292] H. Shukla, J. L. Mason, et A. Sabyah, « Identifying genetic markers associated with susceptibility to cardiovascular diseases », *Future Sci. OA*, vol. 5, nº 1, p. FSO350, oct. 2018, doi: 10.4155/fsoa-2018-0031.
[293] K. Liu *et al.*, « Polymorphisms and Gene-Gene Interaction in AGER/IL6 Pathway Might Be Associated with Diabetic Ischemic Heart Disease », *J. Pers. Med.*, vol. 12, nº 3, p. 392, mars 2022, doi: 10.3390/jpm12030392.
[294] K. Huang *et al.*, « Effects of CDKN2B-AS1 polymorphisms on the susceptibility to coronary heart disease », *Mol. Genet. Genomic Med.*, vol. 7, nº 11, p. e955, sept. 2019, doi: 10.1002/mgg3.955.
[295] N. Kaur, J. Singh, et S. Reddy, « ANRIL rs1333049 C/G polymorphism and coronary artery disease in a North Indian population - Gender and age specific associations », *Genet. Mol. Biol.*, vol. 43, nº 1, p. e20190024, mars 2020, doi: 10.1590/1678-4685-GMB-2019-0024.
[296] S. Blanco Sobrino *et al.*, « 9p21 Locus Polymorphisms: Risk and Severity Factors of Coronary Artery Disease in Venezuelan Patients », *Int J Cardiovasc Sci Impr*, p. 434-443, 2022.
[297] M. Tibaut *et al.*, « Markers of Atherosclerosis: Part 2 – Genetic and Imaging Markers », *Heart Lung Circ.*, vol. 28, nº 5, p. 678-689, mai 2019, doi: 10.1016/j.hlc.2018.09.006.
[298] Y. Yamada, « Molecular genetics of coronary artery disease and ischemic stroke », *Pers. Med. Universe*, vol. 4, p. 4-12, juill. 2015, doi: 10.1016/j.pmu.2015.03.002.
[299] A. N. Cheema *et al.*, « Association Study of Coronary Artery Disease-Associated Genome-Wide Significant SNPs with Coronary Stenosis in Pakistani Population », *Dis. Markers*, vol. 2020, p. e9738567, juin 2020, doi: 10.1155/2020/9738567.
[300] L. N. AL-Eitan, B. Z. Elsaqa, A. Y. Almasri, H. A. Aman, R. H. Khasawneh, et M. A. Alghamdi, « Influence of PSRC1, CELSR2, and SORT1 Gene Polymorphisms on the Variability of Warfarin Dosage and Susceptibility to Cardiovascular Disease », *Pharmacogenomics Pers. Med.*, vol. 13, p. 619-632, nov. 2020, doi: 10.2147/PGPM.S274246.
[301] D. J. Grainger, « Transforming growth factor beta and atherosclerosis: so far, so good for the protective cytokine hypothesis », *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, vol. 24, nº 3, p. 399-404, mars 2004, doi: 10.1161/01.ATV.0000114567.76772.33.
[302] M. Ruiz-Ortega, J. Rodríguez-Vita, E. Sanchez-Lopez, G. Carvajal, et J. Egido, « TGF-beta signaling in vascular fibrosis », *Cardiovasc. Res.*, vol. 74, nº 2, p. 196-206, mai 2007, doi: 10.1016/j.cardiores.2007.02.008.
[303] Ö. S. Ser *et al.*, « The comparison of serum TGF-beta levels and associated polymorphisms in patients with coronary artery ectasia and normal coronary artery », *Egypt. Heart J.*, vol. 73, p. 32, mars 2021, doi: 10.1186/s43044-021-00153-w.
[304] D. Nurgazieva *et al.*, « TGF-β1, but not bone morphogenetic proteins, activates Smad1/5 pathway in primary human macrophages and induces expression of proatherogenic genes », *J. Immunol. Baltim. Md 1950*, vol. 194, nº 2, p. 709-718, janv. 2015, doi: 10.4049/jimmunol.1300272.
[305] J. M. Fragoso *et al.*, « The T29C (rs1800470) polymorphism of the transforming growth factor-β1 (TGF-β1) gene is associated with restenosis after coronary stenting in Mexican patients », *Exp. Mol. Pathol.*, vol. 98, nº 1, p. 13-17, févr. 2015, doi: 10.1016/j.yexmp.2014.11.007.

[306] D. Malinowski, K. Safranow, et A. Pawlik, « TGF-β1 and TGFβR2 Gene Polymorphisms in Patients with Unstable Angina », *Biomedicines*, vol. 11, nº 1, p. 155, janv. 2023, doi: 10.3390/biomedicines11010155.
[307] Y. Chen, P. T. Dawes, J. C. Packham, et D. L. Mattey, « Interaction between smoking and functional polymorphism in the TGFB1 gene is associated with ischaemic heart disease and myocardial infarction in patients with rheumatoid arthritis: a cross-sectional study », *Arthritis Res. Ther.*, vol. 14, nº 2, p. R81, avr. 2012, doi: 10.1186/ar3804.
[308] J. Xu *et al.*, « Association of 5 Well-Defined Polymorphisms in the Gene Encoding Transforming Growth Factor-β1 With Coronary Artery Disease Among Chinese Patients With Hypertension », *Angiology*, vol. 66, nº 7, p. 652-658, août 2015, doi: 10.1177/0003319714547946.
[309] M. Yang *et al.*, « Polymorphisms of TGFβ-1 and TGFBR2 in relation to coronary artery disease in a Chinese population », *Clin. Biochem.*, vol. 49, nº 12, p. 873-878, août 2016, doi: 10.1016/j.clinbiochem.2016.05.022.
[310] D. R. Morris, J. V. Moxon, E. Biros, S. M. Krishna, et J. Golledge, « Meta-analysis of the association between transforming growth factor-beta polymorphisms and complications of coronary heart disease », *PloS One*, vol. 7, nº 5, p. e37878, 2012, doi: 10.1371/journal.pone.0037878.
[311] J. Chen *et al.*, « VEGF amplifies transcription through ETS1 acetylation to enable angiogenesis », *Nat. Commun.*, vol. 8, nº 1, p. 383, août 2017, doi: 10.1038/s41467-017-00405-x.
[312] X. Du *et al.*, « Adenosine A2B receptor stimulates angiogenesis by inducing VEGF and eNOS in human microvascular endothelial cells », *Exp. Biol. Med. Maywood NJ*, vol. 240, nº 11, p. 1472-1479, nov. 2015, doi: 10.1177/1535370215584939.
[313] D. Skrypnik, A. Mostowska, P. P. Jagodziński, et P. Bogdański, « Association of rs699947 (−2578 C/A) and rs2010963 (−634 G/C) Single Nucleotide Polymorphisms of the VEGF Gene, VEGF-A and Leptin Serum Level, and Cardiovascular Risk in Patients with Excess Body Mass: A Case–Control Study », *J. Clin. Med.*, vol. 9, nº 2, p. 469, févr. 2020, doi: 10.3390/jcm9020469.
[314] B. R. Palmer *et al.*, « Vascular endothelial growth factor-A promoter polymorphisms, circulating VEGF-A and survival in acute coronary syndromes », *PLOS ONE*, vol. 16, nº 7, p. e0254206, juill. 2021, doi: 10.1371/journal.pone.0254206.
[315] Q. T. Cui, Y. Li, C. H. Duan, W. Zhang, et X. L. Guo, « Further evidence for the contribution of the vascular endothelial growth factor gene in coronary artery disease susceptibility », *Gene*, vol. 521, nº 2, p. 217-221, juin 2013, doi: 10.1016/j.gene.2013.03.091.
[316] W.-Q. Ma, Y. Wang, X.-Q. Han, Y. Zhu, et N.-F. Liu, « Association of genetic polymorphisms in vascular endothelial growth factor with susceptibility to coronary artery disease: a meta–analysis », *BMC Med. Genet.*, vol. 19, nº 1, p. 108, juill. 2018, doi: 10.1186/s12881-018-0628-3.
[317] P. M. Biselli, A. R. Guerzoni, M. F. de Godoy, E. C. Pavarino-Bertelli, et E. M. Goloni-Bertollo, « Vascular endothelial growth factor genetic variability and coronary artery disease in Brazilian population », *Heart Vessels*, vol. 23, nº 6, p. 371-375, nov. 2008, doi: 10.1007/s00380-008-1057-6.
[318] L. Li, Y. Pan, L. Dai, B. Liu, et D. Zhang, « Association of Genetic Polymorphisms on Vascular Endothelial Growth Factor and its Receptor Genes with Susceptibility to Coronary Heart Disease », *Med. Sci. Monit. Int. Med. J. Exp. Clin. Res.*, vol. 22, p. 31-40, janv. 2016, doi: 10.12659/MSM.895163.

[319] K. W. Huang, I. H. Wang, P. Fu, H. Krum, L. A. Bach, et B. H. Wang, « Insulin-like growth factor-1 directly affects cardiac cellular remodelling via distinct pathways », *Int. J. Cardiol. Heart Vasc.*, vol. 36, p. 100852, août 2021, doi: 10.1016/j.ijcha.2021.100852.

[320] P. Burchardt *et al.*, « Are elevated levels of IGF-1 caused by coronary arteriesoclerosis?: Molecular and clinical analysis », *Protein J.*, vol. 29, nº 8, p. 538-544, nov. 2010, doi: 10.1007/s10930-010-9288-7.

[321] T. Osadnik *et al.*, « Functional polymorphism rs710218 in the gene coding GLUT1 protein is associated with in-stent restenosis », *Biomark. Med.*, vol. 9, nº 8, p. 743-750, 2015, doi: 10.2217/bmm.15.36.

[322] A. Levitzki, « PDGF receptor kinase inhibitors for the treatment of restenosis », *Cardiovasc. Res.*, vol. 65, nº 3, p. 581-586, févr. 2005, doi: 10.1016/j.cardiores.2004.08.008.

[323] Y. Lu, H. Liu, B. Dong, J. Yang, L. Kou, et Q. Qin, « Correlation between platelet-derived growth factor-B gene polymorphism and coronary heart disease », *J. Clin. Lab. Anal.*, vol. 36, nº 10, p. e24683, 2022, doi: 10.1002/jcla.24683.

[324] T. Wróbel, G. Mazur, J. Dzietczenia, K. Gębura, K. Kuliczkowski, et K. Bogunia-Kubik, « VEGF and bFGF gene polymorphisms in patients with non-Hodgkin's lymphoma », *BioMed Res. Int.*, vol. 2013, p. 159813, 2013, doi: 10.1155/2013/159813.

[325] M. Beránek, S. Tschöplová, K. Kanková, V. Kuhrová, et J. Vácha, « Genetic variation in the promoter region of the basic fibroblast growth factor gene », *Hum. Immunol.*, vol. 64, nº 3, p. 374-377, mars 2003, doi: 10.1016/s0198-8859(02)00820-0.

[326] R. J. Laham *et al.*, « Intracoronary basic fibroblast growth factor (FGF-2) in patients with severe ischemic heart disease: results of a Phase I open-label dose escalation study », *J. Am. Coll. Cardiol.*, vol. 36, nº 7, p. 2132-2139, déc. 2000, doi: 10.1016/S0735-1097(00)00988-8.

[327] M. Kollum, I. Hoefer, R. Schreiber, C. Bode, et C. Hehrlein, « Systemic application of anti-ICAM-1 monoclonal antibodies to prevent restenosis in rabbits: an anti-inflammatory strategy », *Coron. Artery Dis.*, vol. 18, nº 2, p. 117-123, mars 2007, doi: 10.1097/MCA.0b013e328011c084.

[328] T. S. Tracy *et al.*, « Interindividual Variability in Cytochrome P450–Mediated Drug Metabolism », *Drug Metab. Dispos.*, vol. 44, nº 3, p. 343-351, mars 2016, doi: 10.1124/dmd.115.067900.

[329] U. M. Zanger et M. Schwab, « Cytochrome P450 enzymes in drug metabolism: Regulation of gene expression, enzyme activities, and impact of genetic variation », *Pharmacol. Ther.*, vol. 138, nº 1, p. 103-141, avr. 2013, doi: 10.1016/j.pharmthera.2012.12.007.

[330] C. F. Samer, K. I. Lorenzini, V. Rollason, Y. Daali, et J. A. Desmeules, « Applications of CYP450 Testing in the Clinical Setting », *Mol. Diagn. Ther.*, vol. 17, nº 3, p. 165-184, juin 2013, doi: 10.1007/s40291-013-0028-5.

[331] D. A. Sychev *et al.*, « Comparison of CYP2C9, CYP2C19, CYP2D6, ABCB1, and SLCO1B1 gene-polymorphism frequency in Russian and Nanai populations », *Pharmacogenomics Pers. Med.*, vol. 10, p. 93-99, mars 2017, doi: 10.2147/PGPM.S129665.

[332] X. Fan, H. Zhang, Z. Wen, X. Zheng, Y. Yang, et J. Yang, « Effects of CYP2C19, CYP2C9 and CYP3A4 gene polymorphisms on plasma voriconazole levels in Chinese pediatric patients », *Pharmacogenet. Genomics*, vol. 32, nº 4, p. 152-158, juin 2022, doi: 10.1097/FPC.0000000000000464.

[333] J. L. Mega *et al.*, « Genetic Variants in ABCB1, CYP2C19, and Cardiovascular Outcomes Following Treatment with Clopidogrel and Prasugrel », *Lancet*, vol. 376, nº 9749, p. 1312-1319, oct. 2010, doi: 10.1016/S0140-6736(10)61273-1.
[334] K. E. Caudle *et al.*, « Standardizing terms for clinical pharmacogenetic test results: consensus terms from the Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium (CPIC) », *Genet. Med.*, vol. 19, nº 2, Art. nº 2, févr. 2017, doi: 10.1038/gim.2016.87.
[335] S. C. Sim et M. Ingelman-Sundberg, « The Human Cytochrome P450 (CYP) Allele Nomenclature website: a peer-reviewed database of CYP variants and their associated effects », *Hum. Genomics*, vol. 4, nº 4, p. 278-281, avr. 2010, doi: 10.1186/1479-7364-4-4-278.
[336] M. Saiz-Rodríguez *et al.*, « Influence of CYP450 Enzymes, CES1, PON1, ABCB1, and P2RY12 Polymorphisms on Clopidogrel Response in Patients Subjected to a Percutaneous Neurointervention », *Clin. Ther.*, vol. 41, nº 6, p. 1199-1212.e2, juin 2019, doi: 10.1016/j.clinthera.2019.04.037.
[337] M. Saiz-Rodríguez *et al.*, « Polymorphisms in CYP1A2, CYP2C9 and ABCB1 affect agomelatine pharmacokinetics », *J. Psychopharmacol. (Oxf.)*, vol. 33, nº 4, p. 522-531, avr. 2019, doi: 10.1177/0269881119827959.
[338] T. Watanabe *et al.*, « Functional characterization of 40 CYP2B6 allelic variants by assessing efavirenz 8-hydroxylation », *Biochem. Pharmacol.*, vol. 156, p. 420-430, oct. 2018, doi: 10.1016/j.bcp.2018.09.010.
[339] C. Xu, E. T. Ogburn, Y. Guo, et Z. Desta, « Effects of the CYP2B6*6 Allele on Catalytic Properties and Inhibition of CYP2B6 In Vitro: Implication for the Mechanism of Reduced Efavirenz Metabolism and Other CYP2B6 Substrates In Vivo », *Drug Metab. Dispos.*, vol. 40, nº 4, p. 717-725, avr. 2012, doi: 10.1124/dmd.111.042416.
[340] J. L. Mega, S. L. Close, et S. D. Wiviott, « Cytochrome P-450 Polymorphisms and Response to Clopidogrel », *J. Vasc. Surg.*, vol. 49, nº 4, p. 1083, avr. 2009, doi: 10.1016/j.jvs.2009.02.023.
[341] S. Sreedharan *et al.*, « Association between CYP2C9 polymorphisms and ischemic stroke following endovascular neurointervention », *J. Stroke Cerebrovasc. Dis.*, vol. 29, nº 8, p. 104901, août 2020, doi: 10.1016/j.jstrokecerebrovasdis.2020.104901.
[342] X. Yi *et al.*, « Association of Cytochrome P450 Genetic Variants with Clopidogrel Resistance and Outcomes in Acute Ischemic Stroke », *J. Atheroscler. Thromb.*, vol. 23, nº 10, p. 1188-1200, oct. 2016, doi: 10.5551/jat.33290.
[343] S. Namazi, E. Sahebi, N. Azarpira, J. Rostami-Yalmeh, J. Kojuri, et A. Khalili, « Association of ABCB1 Gene Polymorphisms and Clopidogrel Responsiveness in Iranian Patients undergoing Percutaneous Coronary Intervention », *Iran. J. Pharm. Res.*, vol. 19, nº 2, juin 2020, doi: 10.22037/ijpr.2020.1101083.
[344] J. P. Lewis *et al.*, « Pharmacogenomic polygenic response score predicts ischaemic events and cardiovascular mortality in clopidogrel-treated patients », *Eur. Heart J. - Cardiovasc. Pharmacother.*, vol. 6, nº 4, p. 203-210, juill. 2020, doi: 10.1093/ehjcvp/pvz045.
[345] P. A. Gurbel, M. J. Antonino, et U. S. Tantry, « Recent developments in clopidogrel pharmacology and their relation to clinical outcomes », *Expert Opin. Drug Metab. Toxicol.*, vol. 5, nº 8, p. 989-1004, août 2009, doi: 10.1517/17425250903107772.
[346] M. Biswas, S. Rahaman, T. K. Biswas, et B. Ibrahim, « Effects of the ABCB1 C3435T single nucleotide polymorphism on major adverse cardiovascular events in acute coronary syndrome or coronary artery disease patients undergoing percutaneous coronary intervention and treated with clopidogrel: A systematic review and meta-

analysis », *Expert Opin. Drug Saf.*, vol. 19, nº 12, p. 1605-1616, déc. 2020, doi: 10.1080/14740338.2020.1836152.

[347] J. L. Mega *et al.*, « Genetic variants in ABCB1 and CYP2C19 and cardiovascular outcomes after treatment with clopidogrel and prasugrel in the TRITON–TIMI 38 trial: a pharmacogenetic analysis », *The Lancet*, vol. 376, nº 9749, p. 1312-1319, oct. 2010, doi: 10.1016/S0140-6736(10)61273-1.

[348] M. T. Holmberg *et al.*, « *CYP3A4*22* Impairs the Elimination of Ticagrelor, But Has No Significant Effect on the Bioactivation of Clopidogrel or Prasugrel », *Clin. Pharmacol. Ther.*, vol. 105, nº 2, p. 448-457, févr. 2019, doi: 10.1002/cpt.1177.

[349] N. F. Ford, « The Metabolism of Clopidogrel: CYP2C19 Is a Minor Pathway », *J. Clin. Pharmacol.*, vol. 56, nº 12, p. 1474-1483, déc. 2016, doi: 10.1002/jcph.769.

[350] D. Stokanovic *et al.*, « P-Glycoprotein Polymorphism C3435T Is Associated with Dose-Adjusted Clopidogrel and 2-Oxo-Clopidogrel Concentration », *Pharmacology*, vol. 97, nº 3-4, p. 101-106, 2016, doi: 10.1159/000442712.

[351] H. H. Idrissi, W. Hmimech, N. E. Khorb, H. Akoudad, R. Habbal, et S. Nadifi, « Association of the C3435T Multi-Drug Resistance Gene-1 (MDR-1) Polymorphism with Clopidogrel Resistance among Moroccan Acute Coronary Syndromes (ACS) Patients », *J. Thromb. Circ. Open Access*, vol. 02, nº 04, 2016, doi: 10.4172/2572-9462.1000115.

[352] X. Wang *et al.*, « Modified clopidogrel loading dose according to platelet reactivity monitoring in patients carrying ABCB1 variant alleles in patients with clopidogrel resistance », *Eur. J. Intern. Med.*, vol. 23, nº 1, p. 48-53, janv. 2012, doi: 10.1016/j.ejim.2011.07.016.

Annexes

Annexe 1: Fiche de recueil des données des patients

FICHE DE RECUEIL DES DONNEES DE L'ETUDE :

Biomarqueurs de risque génétique et de la réponse au traitement dans Le syndrome coronarien aiguaux

---

IDENTITÉ PATIENT ou ÉTIQUETTE	**MÉDECIN PRESCRIPTEUR**
Code Identifiant : ……...…….. Date de naissance : ……. Téléphone: ……	Nom et prénom : ……..... Téléphone : …… Service : ……..... Hôpital: …… Email : …….…….....

FICHE GENERALITES – CARACTERISTIQUES PATIENTS

SEXE : ☐ M ☐ F DATE de NAISSANCE : ...../…../….. VILLE NAISSANCE :

Origine ethnique :

Statut matrimonial :

Niveau socioéconomique :

Résidence : ☐ Urbain ☐ Rural ☐ Suburbain

Poids : ….. Taille : ..... IMC : ….

FACTEURS DE RISQUE CARDIOVASCULAIRE

	1 oui	2 non
Diabète ---------- -------- .	☐	☐
Tabagisme----------	☐	☐
HTA ----------	☐	☐
Hypercholestérolémie----------	☐	☐
Hypertriglycéridémie----------	☐	☐
Dyslipidémie----------	☐	☐

RENSEIGNEMENT CLINIQUES

Angor stable ☐	SCA ST- ☐	SCA ST+ ☐
STA Tn+ ☐	AOMI ☐	Lyse ☐
ATL ☐	Trt conventionnel ☐	ACFA ☐
ACD familial ☐	ACD personale ☐	Score GRACE :

BILAN BIOLOGIQUE

Globule rouge :	Globule blanc :	Plaquettes :
GPT :	GOT :	Créatinine sérique :
TP :	TCA :	Fibrinogène :
Glycémie :	Troponine Ic :	Hémoglobine :

TRAITEMENT ASSOCIE

Aspirine (préciser la posologie) ☐

Statine (préciser laquelle et la posologie) ☐

IPP (préciser laquelle et la posologie) ☐

Tirofiban ☐ **Enoxaparine** ☐

IEC ☐ **β-boqueur** ☐

Acénocoumarl ☐

RESULTAT DU TEST Verify-now

- Dose de charge de 300 mg de clopidogrel plavix® :

Date : Heure :

- Teste Verify-now après 300 mg de clopidogrel plavix®

Date : Heure :

PRU : % d'inhibition :

Annexe 2 : Concentrations des ADN utilisées pour la préparation des librairies

ID du patient	Concentration (ng/µL)	ID du patient	Concentration (ng/µL)
13	22,2	70	38,7
14	12,3	71	36,8
16	11,4	M1	39,2
17	18	M2	3,67
19	22,3	M3	23,9
21	14,3	M4	16,3
23	17,5	M5	10,6
25	22,5	M6	51,4
26	52	M7	61,7
27	47,4	M8	24,2
29	55	M9	71,6
30	48,2	M10	11,4
32	43,7	M11	30,5
33	52	M12	37,6
35	33,9	M13	13,7
36	13,5	M14	34,8
38	18,2	M15	54
43	34,9	M16	58
44	35,3	M17	51
46	49	M18	38,5
47	48,9	M19	55
50	59	M20	47
51	188	M21	57
53	190	M22	36
54	264	M23	235
55	46,9	M24	28,6
56	600	M25	11,1
57	151	M26	23,5
58	45,1	M27	23,4
59	104	M28	51,2
61	105	M29	80
63	36,9	M30	255

Annexe 3 : Exemple de fichier CSV contenant les donnes de la premier Plaque PCR IonCode™ (du IonCode_0101 au IonCode_0108)

CSV Version 2.0							
Sample Name	PCR Plate Position	Barcodekit	Barcode	Type	Nucleotide Type	Sample Source	Panel Pool Type
M1	A	IonCode Barcodes 1-32	IonCode_0101	Sample	DNA	Blood	Single Pool
M2	B	IonCode Barcodes 1-32	IonCode_0102	Sample	DNA	Blood	Single Pool
M3	C	IonCode Barcodes 1-32	IonCode_0103	Sample	DNA	Blood	Single Pool
M4	D	IonCode Barcodes 1-32	IonCode_0104	Sample	DNA	Blood	Single Pool
M5	E	IonCode Barcodes 1-32	IonCode_0105	Sample	DNA	Blood	Single Pool
M6	F	IonCode Barcodes 1-32	IonCode_0106	Sample	DNA	Blood	Single Pool
M7	G	IonCode Barcodes 1-32	IonCode_0107	Sample	DNA	Blood	Single Pool
M8	H	IonCode Barcodes 1-32	IonCode_0108	Sample	DNA	Blood	Single Pool

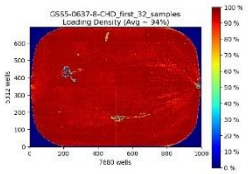
Annexe 4 : Rapport du Run pour les premiers 32 échantillons

Run Summary

3.72 G Total Bases | **124** Key Signal

94% ISP Loading

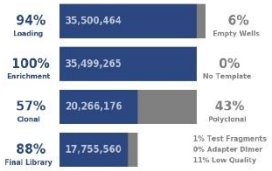
ISP Density



17,755,560 Total Reads

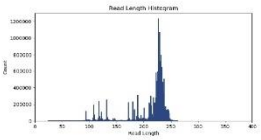
50% Usable Reads

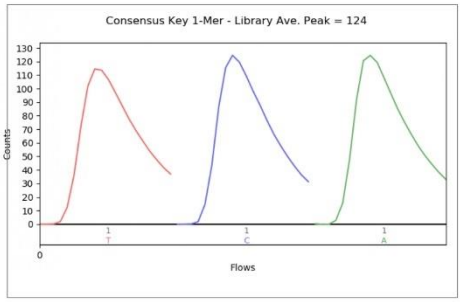
ISP Summary



209 bp Mean | **227 bp** Median | **227 bp** Mode

Read Length

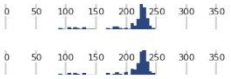
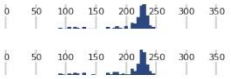
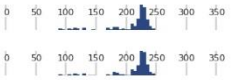
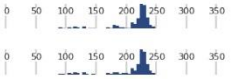
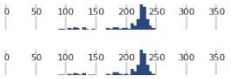
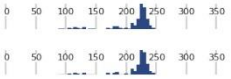
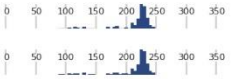
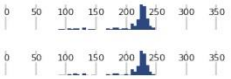
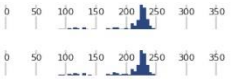
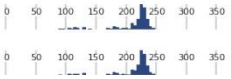
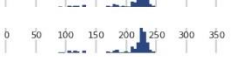




Addressable Wells	**37,849,615**	
With ISPs	35,500,464	93.8%
Live	35,499,265	100.0%
Test Fragment	163,117	00.5%
Library	35,336,148	99.5%
Library ISPs	**35,336,148**	
Filtered: Polyclonal	15,233,089	43.1%
Filtered: Low Quality	2,288,924	06.5%
Filtered: Adapter Dimer	58,575	00.2%
Final Library ISPs	**17,755,560**	**50.2%**

Barcode Name	Sample	Bases	$\geq Q20$	Reads	Mean Read Length	Read Length Histogram
No barcode	none	75,792,825	69,040,007	349,845	216 bp	
IonCode_0101	36	109,675,742	102,265,858	514,551	213 bp	
IonCode_0102	53	107,749,875	100,815,823	514,417	209 bp	
IonCode_0103	56	109,552,633	102,570,420	522,900	209 bp	
IonCode_0104	30	107,875,144	100,795,472	511,523	210 bp	
IonCode_0105	32	102,796,213	95,999,771	487,580	210 bp	
IonCode_0106	29	102,755,003	95,581,495	488,817	210 bp	
IonCode_0107	54	106,602,135	99,444,073	506,273	210 bp	

iontorrent by Thermo Fisher Scientific

IonCode_0108	50	93,757,092	87,168,397	449,767	208 bp	
IonCode_0109	58	111,795,991	104,254,944	536,678	208 bp	
IonCode_0110	59	114,673,585	106,560,776	551,134	208 bp	
IonCode_0111	61	119,056,895	110,720,941	572,183	208 bp	
IonCode_0112	63	119,083,864	111,234,078	569,849	208 bp	
IonCode_0113	71	121,168,014	112,934,056	581,326	208 bp	
IonCode_0114	70	113,217,792	105,655,927	542,849	208 bp	
IonCode_0115	57	115,868,991	108,031,349	555,332	208 bp	
IonCode_0116	55	119,482,708	111,348,875	572,356	208 bp	
IonCode_0117	26	112,125,511	104,521,687	540,316	207 bp	
IonCode_0118	35	103,298,427	95,933,024	497,056	207 bp	
IonCode_0119	38	100,978,836	94,450,778	484,871	208 bp	
IonCode_0120	43	112,280,995	104,960,496	535,993	209 bp	
IonCode_0121	44	116,494,220	108,661,825	557,576	208 bp	
IonCode_0122	46	110,114,728	102,759,510	529,405	207 bp	
IonCode_0123	47	114,796,949	107,019,920	550,637	208 bp	
IonCode_0124	51	108,413,625	100,839,474	514,479	210 bp	
IonCode_0125	16	114,714,114	106,749,602	546,907	209 bp	
IonCode_0126	17	132,447,554	123,801,288	634,190	208 bp	
IonCode_0127	19	127,100,775	119,164,995	603,038	210 bp	
IonCode_0128	21	128,068,603	119,864,328	615,052	208 bp	
IonCode_0129	23	123,833,547	114,984,131	594,965	208 bp	
IonCode_0130	25	117,259,380	109,254,912	564,395	207 bp	
IonCode_0131	27	127,341,505	118,587,112	609,852	208 bp	
IonCode_0132	33	114,927,769	107,364,897	549,448	209 bp	

iontorrent
by Thermo Fisher Scientific

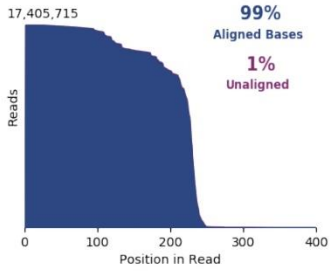
Test Fragment	Reads	Percent 50AQ17	Read Length Histogram
TF_1	**23,036**	**96**	

iontorrent
by Thermo Fisher Scientific

Alignment Summary *(aligned to Homo sapiens)*

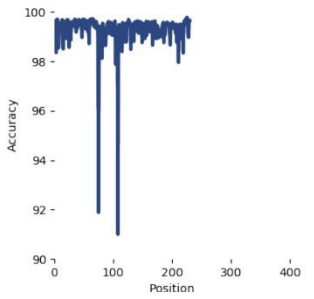
3.62 G
Total Alignment Bases

1.2X
Average Coverage Depth of Reference



	Count	%
Total Reads	17,405,715	
Aligned Reads	17,392,601	99.9%
Unaligned Reads	13,114	0.1%

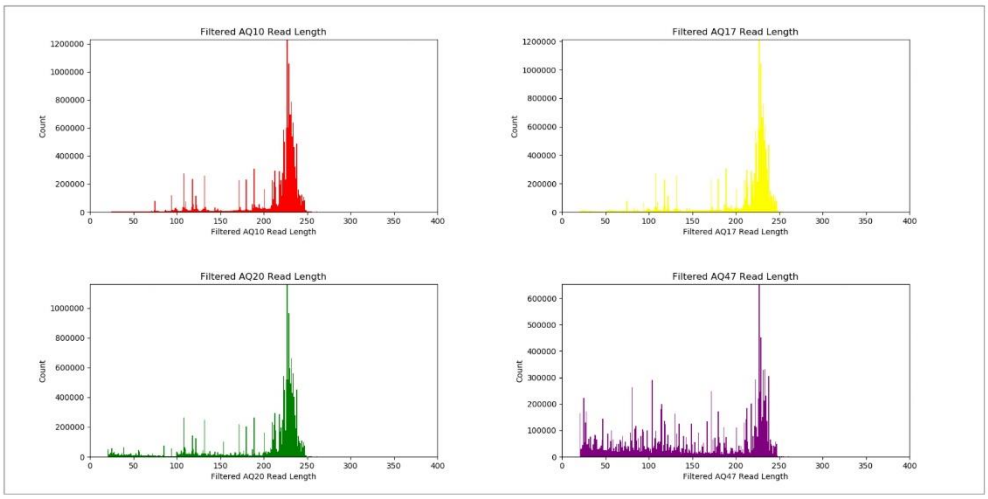
99.3%
Mean Raw Accuracy 1x



Alignment Quality

	AQ17	AQ20	Perfect
Total Number of Bases [Mbp]	3.5 G	3.26 G	2.29 G
Mean Length [bp]	205	197	149
Longest Alignment [bp]	358	358	355
Mean Coverage Depth	1.1	1.1	0.7

iontorrent
by Thermo Fisher Scientific


Filtered AQ10 Read Length
Count
Filtered AQ10 Read Length
Filtered AQ17 Read Length
Count
Filtered AQ17 Read Length
Filtered AQ20 Read Length
Count
Filtered AQ20 Read Length
Filtered AQ47 Read Length
Count
Filtered AQ47 Read Length

coverageAnalysis

Library type: AmpliSeq DNA
Target regions: IAD237274_181_Designed

Barcode Name	Sample	Mapped Reads	On Target	Mean Depth	Uniformity
IonCode_0101	36	514,137	99.92%	10,913	96.79%
IonCode_0102	53	514,015	99.93%	10,727	97.84%
IonCode_0103	56	522,567	99.94%	10,912	96.91%
IonCode_0104	30	511,172	99.92%	10,732	96.81%
IonCode_0105	32	487,270	99.94%	10,226	97.03%
IonCode_0106	29	488,499	99.94%	10,226	98.30%
IonCode_0107	54	505,840	99.93%	10,620	98.48%
IonCode_0108	50	449,179	99.90%	9,261	98.62%
IonCode_0109	58	536,179	99.92%	11,142	99.11%
IonCode_0110	59	550,590	99.91%	11,412	99.80%
IonCode_0111	61	571,668	99.91%	11,879	98.66%
IonCode_0112	63	569,471	99.94%	11,886	98.93%
IonCode_0113	71	580,840	99.92%	12,095	99.80%
IonCode_0114	70	542,410	99.93%	11,301	98.70%
IonCode_0115	57	554,888	99.92%	11,559	99.62%
IonCode_0116	55	571,797	99.91%	11,919	96.79%
IonCode_0117	26	539,861	99.91%	11,197	97.01%
IonCode_0118	35	496,814	99.93%	10,297	98.05%
IonCode_0119	38	484,533	99.93%	10,089	97.86%
IonCode_0120	43	535,674	99.94%	11,209	99.43%
IonCode_0121	44	557,129	99.93%	11,629	98.74%
IonCode_0122	46	529,015	99.92%	10,997	98.85%
IonCode_0123	47	550,218	99.92%	11,447	98.70%
IonCode_0124	51	514,234	99.95%	10,811	98.59%
IonCode_0125	16	546,498	99.92%	11,438	99.66%
IonCode_0126	17	633,817	99.93%	13,229	99.98%
IonCode_0127	19	602,701	99.94%	12,698	99.76%
IonCode_0128	21	614,681	99.94%	12,794	99.82%
IonCode_0129	23	594,465	99.92%	12,345	98.93%
IonCode_0130	25	563,958	99.93%	11,712	99.80%
IonCode_0131	27	609,410	99.92%	12,693	[illegible]
[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]	[illegible]

ion torrent by Thermo Fisher Scientific


1
5
items per page
1 - 32 of 32 items

Analysis Details

Run Name	R_2023_07_29_10_52_54_user_GSS5-0637-8-CHD_first_32_samples
Run Date	July 29, 2023, 10:54 a.m.
Run Flows	550
Projects	CHD
Samples	25, 26, 27, 21, 23, 46, 47, 44, 43, 71, 70, 38, 59, 58, 17, 16, 55, 32, 57, 30, 51, 36, 53, 19, 54, 33, 50, 35, 56, 29, 61, 63
Reference	
Instrument	GSS5-0637
Operation Mode	Customer mode
Flow Order	TACGTACGTCTGAGCATCGATCGATGTACAGC
Library Key	TCAG
TF Key	ATCG
Chip Barcode	DAHL03446
Chip Check	Passed
Chip Type	530
Chip Data	tiled
Chip Lot Number	Q29M05
Chip Wafer	21
Barcode Set	IonCode Barcodes 1-32
Analysis Name	Auto_user_GSS5-0637-8-CHD_first_32_samples_160
Analysis Date	July 30, 2023, 2:09 a.m.
Analysis Flows	0
runID	XT0CS
BeadFind Args	justBeadFind –args-json /opt/ion/config/args_530_beadfind.json
Analysis Args	Analysis –args-json /opt/ion/config/args_530_analysis.json
Pre-BaseCaller	BaseCaller –trim-qual-cutoff 15 –barcode-filter-minreads 10 –phasing-residual-filter=2.0 –wells-normalization on
Calibration Args	Calibration –num-calibration-regions 1,1
BaseCaller Args	BaseCaller –trim-qual-cutoff 15 –barcode-filter-minreads 10 –phasing-residual-filter=2.0 –num-unfiltered 1000 –barcode-filter-postpone 1 –qual-filter true –qual-filter-slope 0.040 –qual-filter-offset 1.0 –wells-normalization on
Alignment Args	tmap mapall -q 50000 ... stage1 map4
IonStats Args	ionstats alignment
Analysis Parameters	default

Chef Summary

Chef Template Prep Information:

Chef Last Updated	July 29, 2023, 4:42 p.m.
Chef Instrument Name	242472148
Chef Operation Mode	Customer Mode
Sample Position	1
Tip Rack Barcode	4B80617B6
Chip Type 1	530v1
Chip Type 2	S500
Chip Expiration 1	None
Chip Expiration 2	None
Templating Kit Type	Ion 510
amp; Ion 520	amp; Ion 530 Kit-Chef
Chef Flexible Workflow	
Reagent Expiration	230513
Reagent Lot Number	2466576
Reagent Part Number	A34018C
Reagent Cartridge Serial Number	None
Solution Lot Number	2346583
Solution Part Number	A27754C
Templating Protocol Planned	(use instrument default)
Solution Cartridge Serial Number	None
Solution Expiration	220831
Templating Protocol Executed	(use instrument default)
Chef Script Version	1002
Chef Package Version	IC.5.14.0
Start Time	July 29, 2023, 3:02 a.m.
Completion Time	July 29, 2023, 4:41 p.m.

S5 Consumables Summary

Chip Type	530v1
Chip Barcode	DAHL03446

Product Description	Part Number	Lot Number	Exp. Date	Remaining Uses
Ion S5 Cleaning Solution	100031096	2442804	2023/11/30	4
Ion S5 Sequencing Reagent	INS1012841B	2388583	2023/01/31	1
Ion S5 Wash Solution	100031091B	2485085	2023/05/31	1

Software Version

Torrent_Suite	5.16.1
host	TsVm
ion-analysis	5.16.6-1
ion-dbreports	5.16.28-1
ion-gpu	5.16.1-1
ion-pipeline	5.16.14-1
ion-torrentpy	5.16.6-1
ion-torrentr	5.16.6-1
S5 Script	0.1.32
LiveView	2762
DataCollect	3976
OIA	51231
OS	4
Graphics	134
Ion_Chef	IC.5.14.0

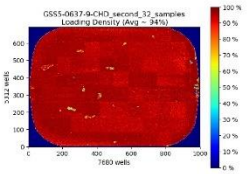
Annexe 5 : Rapport du Run pour les deuxièmes 32 échantillons

Run Summary

4.02 G Total Bases | **129** Key Signal

94% ISP Loading

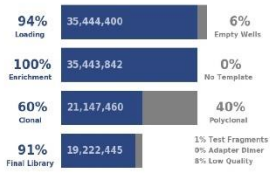
ISP Density



19,222,445 Total Reads

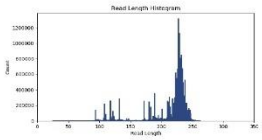
54% Usable Reads

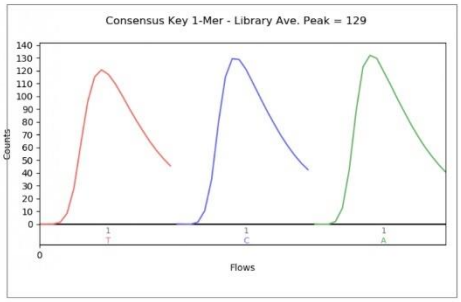
ISP Summary



209 bp Mean | **227 bp** Median | **227 bp** Mode

Read Length



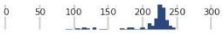
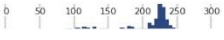
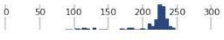
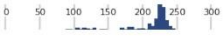
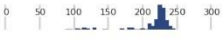


Addressable Wells	**37,849,615**	
With ISPs	35,444,400	93.6%
Live	35,443,842	100.0%
Test Fragment	158,657	00.4%
Library	35,285,185	99.6%

Library ISPs	**35,285,185**	
Filtered: Polyclonal	14,296,382	40.5%
Filtered: Low Quality	1,707,191	04.8%
Filtered: Adapter Dimer	59,167	00.2%
Final Library ISPs	**19,222,445**	**54.5%**

Barcode Name	Sample	Bases	$\geq Q20$	Reads	Mean Read Length	Read Length Histogram
No barcode	none	80,443,424	74,099,792	368,756	218 bp	
IonCode_0101	M1	134,469,671	126,129,061	642,892	209 bp	
IonCode_0102	M2	141,588,633	133,207,186	676,505	209 bp	
IonCode_0103	M3	134,277,470	126,487,059	639,351	210 bp	
IonCode_0104	M4	136,787,100	128,684,229	656,710	208 bp	
IonCode_0105	M5	127,100,765	119,625,309	606,394	209 bp	
IonCode_0106	M6	123,174,597	115,169,984	588,377	209 bp	
IonCode_0107	M7	122,205,945	114,706,144	587,859	207 bp	

ion torrent by Thermo Fisher Scientific

IonCode_0108	M8	130,525,447	122,380,162	623,611	209 bp	
IonCode_0109	M9	123,755,967	116,015,708	591,051	209 bp	
IonCode_0110	M10	125,464,093	117,117,973	603,990	207 bp	
IonCode_0111	M11	117,928,397	110,308,378	570,264	206 bp	
IonCode_0112	M12	114,774,692	107,864,734	549,582	208 bp	
IonCode_0113	M13	126,288,259	118,292,396	609,513	207 bp	
IonCode_0114	M14	127,174,913	119,105,097	609,753	208 bp	
IonCode_0115	M15	102,717,944	96,357,726	488,437	210 bp	
IonCode_0116	M16	119,689,132	112,201,003	573,844	208 bp	
IonCode_0117	M17	132,903,349	124,529,832	633,942	209 bp	
IonCode_0118	M18	103,942,458	96,942,966	498,472	208 bp	
IonCode_0119	M19	120,034,643	112,896,001	578,061	207 bp	
IonCode_0120	M20	133,269,709	125,313,877	637,955	208 bp	
IonCode_0121	M21	113,330,367	106,387,845	540,682	209 bp	
IonCode_0122	M22	121,457,950	114,048,092	585,384	207 bp	
IonCode_0123	13	90,873,720	85,212,578	433,931	209 bp	
IonCode_0124	14	98,888,278	92,528,258	468,150	211 bp	
IonCode_0125	M23	128,309,201	120,267,534	609,988	210 bp	
IonCode_0126	M24	132,688,585	124,725,112	635,525	208 bp	
IonCode_0127	M25	133,017,850	125,309,229	632,744	210 bp	
IonCode_0128	M26	137,528,786	129,320,697	656,306	209 bp	
IonCode_0129	M27	119,012,367	111,131,140	569,519	208 bp	
IonCode_0130	M28	125,504,157	117,613,416	599,415	209 bp	
IonCode_0131	M29	124,140,061	116,455,201	591,704	209 bp	
IonCode_0132	M30	117,943,676	110,888,696	563,778	209 bp	

iontorrent
by Thermo Fisher Scientific

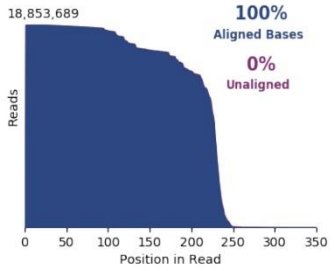
Test Fragment	Reads	Percent 50AQ17	Read Length Histogram
TF_1	**26,854**	**96**	

iontorrent
by Thermo Fisher Scientific

Alignment Summary *(aligned to Homo sapiens)*

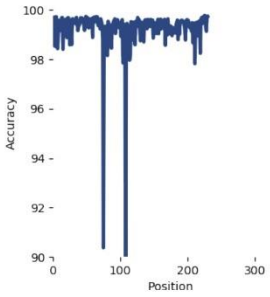
3.92 G
Total Alignment Bases

1.3X
Average Coverage Depth of Reference



	Count	%
Total Reads	18,853,689	
Aligned Reads	18,841,842	99.9%
Unaligned Reads	11,847	0.1%

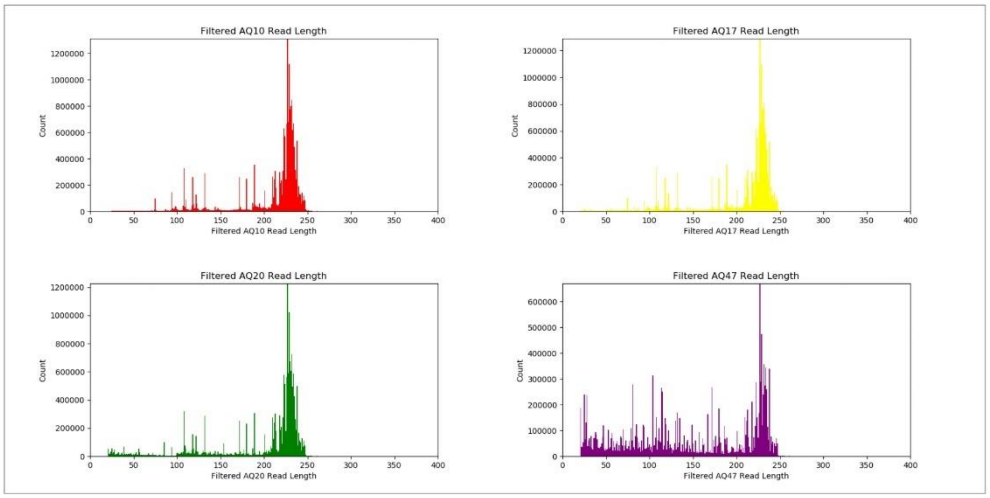
99.3%
Mean Raw Accuracy 1x



Alignment Quality

	AQ17	AQ20	Perfect
Total Number of Bases [Mbp]	3.78 G	3.53 G	2.48 G
Mean Length [bp]	204	197	148
Longest Alignment [bp]	347	336	334
Mean Coverage Depth	1.2	1.1	0.8

iontorrent
by Thermo Fisher Scientific



iontorrent
by Thermo Fisher Scientific

coverageAnalysis

Library type: AmpliSeq DNA
Target regions: IAD237274_181_Designed

Barcode Name	Sample	Mapped Reads	On Target	Mean Depth	Uniformity
IonCode_0101	M1	642,464	99.65%	13,376	97.35%
IonCode_0102	M2	676,045	99.94%	14,125	97.09%
IonCode_0103	M3	639,042	99.32%	13,330	96.55%
IonCode_0104	M4	656,365	99.64%	13,617	96.85%
IonCode_0105	M5	606,029	99.76%	12,661	96.31%
IonCode_0106	M6	588,012	99.78%	12,264	98.50%
IonCode_0107	M7	587,423	99.77%	12,172	98.49%
IonCode_0108	M8	623,095	99.85%	13,009	98.93%
IonCode_0109	M9	590,658	99.93%	12,353	98.54%
IonCode_0110	M10	603,478	99.92%	12,497	98.85%
IonCode_0111	M11	569,788	99.37%	11,713	98.88%
IonCode_0112	M12	549,269	99.72%	11,442	99.08%
IonCode_0113	M13	608,998	99.75%	12,549	98.40%
IonCode_0114	M14	609,330	99.93%	12,664	98.41%
IonCode_0115	M15	488,138	99.94%	10,258	96.79%
IonCode_0116	M16	573,360	99.92%	11,948	96.60%
IonCode_0117	M17	633,469	99.92%	13,263	96.76%
IonCode_0118	M18	498,286	99.91%	10,362	98.24%
IonCode_0119	M19	577,734	99.88%	11,981	98.73%
IonCode_0120	M20	637,643	99.95%	13,297	99.95%
IonCode_0121	M21	540,354	99.93%	11,316	98.07%
IonCode_0122	M22	584,990	99.93%	12,121	98.67%
IonCode_0123	13	433,694	99.94%	9,074	97.93%
IonCode_0124	14	467,983	99.94%	9,866	98.23%
IonCode_0125	M23	609,615	99.94%	12,800	99.35%
IonCode_0126	M24	635,170	99.94%	13,241	99.84%
IonCode_0127	M25	632,438	99.95%	13,287	99.34%
IonCode_0128	M26	655,991	99.92%	13,730	98.42%
IonCode_0129	M27	569,166	99.92%	11,877	98.04%
IonCode_0130	M28	599,021	99.92%	12,529	98.21%
IonCode_0131	M29	591,290	99.94%	12,398	97.08%
IonCode_0132	M30	562,504	99.94%	11,779	98.82%

iontorrent by Thermo Fisher Scientific



IonCode_0132	M30	563,504	99.94 %	11,778	96.80 %

1 5 Items per page 1 - 32 of 32 Items

ion torrent by Thermo Fisher Scientific

Analysis Details

Run Name	R_2023_08_03_07_02_47_user_GSS5-0637-9-CHD_second_32_samples
Run Date	Aug. 3, 2023, 7:04 a.m.
Run Flows	500
Projects	CHD
Samples	M27, M20, M21, M25, M30, M5, M4, M7, M6, M1, M3, M2, M9, M8, M28, M29, M24, M26, M22, M23, 13, 14, M11, M10, M13, M12, M15, M14, M17, M16, M19, M18
Reference	
Instrument	GSS5-0637
Operation Mode	Customer mode
Flow Order	TACGTACGTCTGAGCATCGATCGATGTACAGC
Library Key	TCAG
TF Key	ATCG
Chip Barcode	DAHL03424
Chip Check	Passed
Chip Type	530
Chip Data	tiled
Chip Lot Number	Q29M05
Chip Wafer	21
Barcode Set	IonCode Barcodes 1-32
Analysis Name	Auto_user_GSS5-0637-9-CHD_second_32_samples_165
Analysis Date	Aug. 3, 2023, 9:56 p.m.
Analysis Flows	0
runID	SFNV5
BeadFind Args	justBeadFind –args-json /opt/ion/config/args_530_beadfind.json
Analysis Args	Analysis –args-json /opt/ion/config/args_530_analysis.json
Pre-BaseCaller	BaseCaller –trim-qual-cutoff 15 –barcode-filter-minreads 10 –phasing-residual-filter=2.0 –wells-normalization on
Calibration Args	Calibration –num-calibration-regions 1,1
BaseCaller Args	BaseCaller –trim-qual-cutoff 15 –barcode-filter-minreads 10 –phasing-residual-filter=2.0 –num-unfiltered 1000 –barcode-filter-postpone 1 –qual-filter true –qual-filter-slope 0.040 –qual-filter-offset 1.0 –wells-normalization on
Alignment Args	tmap mapall -q 50000 ... stage1 map4
IonStats Args	ionstats alignment
Analysis Parameters	default

Chef Summary

Chef Template Prep Information:

Chef Last Updated	Aug. 3, 2023, 12:02 p.m.
Chef Instrument Name	242472148
Chef Operation Mode	Customer Mode
Sample Position	1
Tip Rack Barcode	4B9100792
Chip Type 1	530v1
Chip Type 2	S500
Chip Expiration 1	None
Chip Expiration 2	None
Templating Kit Type	Ion 510
amp; Ion 520	amp; Ion 530 Kit-Chef
Chef Flexible Workflow	
Reagent Expiration	230513
Reagent Lot Number	2466576
Reagent Part Number	A34018C
Reagent Cartridge Serial Number	None
Solution Lot Number	2346583
Solution Part Number	A27754C
Templating Protocol Planned	(use instrument default)
Solution Cartridge Serial Number	None
Solution Expiration	220831
Templating Protocol Executed	(use instrument default)
Chef Script Version	1002
Chef Package Version	IC.5.14.0
Start Time	Aug. 2, 2023, 8:22 p.m.
Completion Time	Aug. 3, 2023, 12:02 p.m.

S5 Consumables Summary

Chip Type	530v1
Chip Barcode	DAHL03424

Product Description	Part Number	Lot Number	Exp. Date	Remaining Uses
Ion S5 Cleaning Solution	100031096	2442804	2023/11/30	3
Ion S5 Sequencing Reagent	INS1012841B	2346713	2022/10/31	1
Ion S5 Wash Solution	100031091B	2485085	2023/05/31	1

Software Version

Torrent_Suite	5.16.1
host	TsVm
ion-analysis	5.16.6-1
ion-dbreports	5.16.28-1
ion-gpu	5.16.1-1
ion-pipeline	5.16.14-1
ion-torrentpy	5.16.6-1
ion-torrentr	5.16.6-1
S5 Script	0.1.32
LiveView	2762
DataCollect	3976
OIA	51231
OS	4
Graphics	134
Ion_Chef	IC.5.14.0

Annexe 6 : Variation génétique dans des gènes associés aux maladies cardiovasculaires : Fréquences alléliques dans la population de référence

dbSNP	Gene Symbol	Assembly Location	NCB Assembly Build	SNP Type	Source	Global	EAS	SAS	AFR	EUR	AMR
rs308395	FGF2	ch. 1: 11796321	GRCh38	Transition Substitution;Mis-sense Mutation;Intragenic	1000 Genome	0.25(T)	0.3(T)	0.12(T)	0.09(T)	0.37(T)	0.47(T)
rs35767	IGF1	ch. 19: 44908684	GRCh38	Transition Substitution;Mis-sense Mutation;Intragenic	1000 Genome	0.15(C)	0.09(C)	0.09(C)	0.27(C)	0.16(C)	0.1(C)
rs2285094	PDGFB	ch. 19: 44908822	GRCh38	Mis-sense Mutation;Transition Substitution;Intragenic	1000 Genome	0.08(T)	0.1(T)	0.04(T)	0.1(T)	0.06(T)	0.05(T)
rs1800470	TGFB1	ch. 6: 31575254	GRCh38	Intron;Transition Substitution;Intragenic	1000 Genome	0.09(A)	0.06(A)	0.05(A)	0.12(A)	0.13(A)	0.07(A)
rs699947	VEGFA	ch. 1: 55039974	GRCh38	Mis-sense Mutation;Transversion Substitution;Intragenic	1000 Genome	0.01(T)	0(T)	0(T)	0(T)	0.02(T)	0.02(T)

Annexe 7 : programme de PCR en temps réel

Step	Temp.	Duration	Cycles
AmpliTaq Gold®, UP, Enzyme Activation	95°C	10 minutes	HOLD
Denaturation	95°C	15 seconds	50
Annealing/ Extension	60°C	90 seconds	

Annexe 8 : Corrélations des signaux de fluorescence

Fluorescence Increase	Indication
VIC dye fluorescence only	Homozygosity for allele 1
6FAM dye fluorescence only	Homozygosity for allele 2
Fluorescence signals for both dyes	Heterozygosity for allele 1-allele 2

Annexe 9: Séquences nucléotidiques des régions cibles : emplacement des amorces encadrant les variants ABCB1 c.3435T>C, CYP2C19*2 (681 G>A), CYP2C19*3 (636 G>A) et CYP2C19*17

NM_000769.2 polymorphic region of (CYP2C19)

- **CYP2C19*17** rs12248560(c.-806 C>A / C>T)

  Sense: 5'- GACCAGGAGGTCAAGAAGCC-3'

  Anti-sense: 5'- ACAGCAGCCTAAACATGAAATAGC-3'

AGGGATATGAGGTGTGAGAATTCTCTCTAAATGGGGTTAGAATCCCTGTTAAAAATGACCAGTGAAACAT
TGTGCAATTGTGTCTTAACATAACTTACTTTTTCTTAATAAGAGAACTGGAAATAACCTCATTAGGAAAT
TTAGAACAAATACGATGATATCTTTAAAGAAAATGGCTTTGTGTAAGTATTGTCGTTAGTGATCTAGTAA
TGTGTATCTTTCTGGTTGTATTTAGACCTTCAACTCAAATGTCAGCTCCCGTTAAGGTCTATACATTGTG
GTGGTTTTGTGCTGTGGGTCCATTTAGTGATTTCCCTACCTCCCATCCTCTATTAGATTCACAACTGTTG
TTCTGCCCATAATTTCCTATGCTTGCTTTGCATTGTTACATTTTTTTTTGAAAATCAGAAAGCAAAATCA
ATATAAAGCAGCCATGTCTGGAGGAGACCAGGAGGTCAAGAAGCCTTAGTTTCTCAAGCCCTTAGCACCA
AATTCTCTGAGATCAGCTCTTCCTTCAGTTACACTGAGCGTTTCCCCTCTGCAGTGATGGAGAAGGGAGA
ACTCTTATTTTTTCTCATGAGCATCTCTGGGGCTGTTTTCCTTAGATAAATAAGTGGTTCTATTTAATGT
GAAGCCTGTTTTATGAACAGGATGAATGTGGTATATATTCAGAATAACTAATGTTTGGAAGTTGTTTTGT
TTTGCTAAAACAAAGTTTTAGCAAACGATTTTTTTTTTCAAATTTGTGTCTTCTGTTCTCAAAGCATCTC
TGATGTAAGAGATAATGCGCCACGATGGGCATCAGAAGACCTCAGCTCAAATCCCAGTTCTGCCAGCTAT
GAGCTGTGTGGCACCAACAGGTGTCCTGTTCTCCCAGGGTCTCCCTTTTCCCATTTGAAATATAAAAAAT
AACAATTCCTGCCTTCACGTGTTTTTTTAGGGGGTTAAATGGTAAAGGTGTTTATATCTGCTAAGGTAAT
TTACTTGATATATGTTTGGTTATTGAAGATATATGAGTTATGTTAGCTATTTCATGTTTAGGCTGCTGTA
TTTTTAGTAGGCTATATTAAATAGAGGATTTCATTATAAAGGACAAAGTCTCCTAATCTTCGATATAGGA
TTGACATACTTTTTAAATATACAAGGCATAGAATATGGCCATTTCCGTTAAATCATAAATTCCCAACTGG
TTATTAATCTAAGAATTCAGAATTTTAAGTAATTGTTTTTGCATCAGATTGTTTACTTCAGTGCTCTCAA
TTATGACGGTGCATTGGAACCACTTGGGTTAACATTTTTTTGTTTTTATTACCAATACCTAGGCTTCAAC

- **CYP2C19*3** rs4986893 (636 G>A)

  Sense: 5'-CCCTGTGATCCCACTTTCAT-3'

  Anti-sense: 5'-ATGGCTGTCTAGGCAAGACT-3'

CCTAGTCTCTCTAGTTCCTCTCTACTGGTTCAATACATGATTCTTTGAGCTATTTGTTGTAATATAAAAA
GCTTTGAAATCCCCAACTATTCTCACCCTTTCTATCTCAGTGCTTTGTTGTCTACAGACTTTGCAGACTG
ATGTGATTCCCTCTGAAACTTGAATTATTTGGTTTCTAAAAAAGTCTCTTTTTTTCTTTCCAAAGTAAAA
GACAAATAGGCCGGGAATGTAAATTTAGCATTTGAGCAACCATTATTTAACCAGCTAGGCTGTAATTGTT
AATTCGAGATTAATGTAAAAGTGATGTGTTGATTTTATGCATGCCAAACTCTTTTTTGCTTTTAAGGGAA
TTCATAGGTAAGATATTACTTAAAATTTCTAAACTATTATTATCTGTTAACAAATATGAAGTGTTTTATA
TCTAATGTTTACTCATATTTTAAAATTGTTTCCAATCATTTAGCTTCACCCTGTGATCCCACTTTCATCC
TGGGCTGTGCTCCCTGCAATGTGATCTGCTCCATTATTTTCCAGAAACGTTTCGATTATAAAGATCAGCA
ATTTCTTAACTTGATGGAAAAATTGAATGAAAACATCAGGATTGTAAGCACCCCCTGGATCCAGGTAAGG
CCAAGTTTTTTGCTTCCTGAGAAACCACTTACAGTCTTTTTTTCTGGGAAATCCAAAATTCTATATTGAC
CAAGCCCTGAAGTACATTTTTGAATACTACAGTCTTGCCTAGACAGCCATGGGGTGAATATCTGGAAAAG
ATGGCAAAGTTCTTTATTTTATGCACAGGAAATGAATATCCCAATATAGATCAGGCTTCTAAGCCCATTA
GCTCCCTGATCAGTGTTTTTTCCACTAAACTCCAAAGCCCTGTTTCTATAAAGTACTTTGGTGACAGCCC
CAAAGCGTGCTTATATCACTCCATGGACATCCAGGCACTTTGGAGTCTTCCATTACTCACAAGGCTTGTC
CTTCAATTCACACTTTGTCATATTGTGTGACAGAAATATCCTAATCTAAAAGACATTATCTCCTTCAAGG
ACAGAGAATATTTGGAACCACAGAAGCTGCCAAGAAACACTGAATAGGGCAGAGGTGTTTGATGTCTCAG

- **CYP2C19*2** rs4244285 (681 G>A)

  Sense : 5'-CAACCAGAGCTTGGCATATT-3'

  Anti-sense : 5'-TACGCAAGCAGTCACATAAC-3'

AAACAGACATCACACTTTTACCCTGTGCTGAATTGGCATGTTTTATACTCTGCCTAAATAATAATTGTAT
GATTTTACAGAAGTCATTTAACTGCTCTGGTGCACAGTTGGAATTTGAAGTATCTTTGAGCCCCTCCCAC
TTCTAAAATACTAATTCAATTTCAGAGGCTGCTTGATAGAAATCAATATAGCAGGGACTATCTTTGTAGT
ATCAATCAGGTTGTGCAAACTCTTTTAACCTATGCTATCATCTCCAAAATGTTAATGTAGTAATTCATAC
CATCTTATATTTCAAGATTGTAGAGAAGAATTGTTGTAAAAAGTAAGAGAATTAATATAAAGATGCTTTT
ATACTATCAAAAGCAGGTATAAGTCTAGGAAATGATTATCATCTTTGATTCTCTTGTCAGAATTTTCTTT
CTCAAATCTTGTATAATCAGAGAATTACTACACATGTACAATAAAAATTTCCCCATCAAGATATACAATA
TATTTTATTTATATTTATAGTTTTAAATTACAACCAGAGCTTGGCATATTGTATCTATACCTTTATTAAA
TGCTTTTAATTTAATAAATTATTGTTTTCTCTTAGATATGCAATAATTTTCCCACTATCATTGATTATTT
CCCGGGAACCCATAACAAATTACTTAAAAACCTTGCTTTTATGGAAAGTGATATTTTGGAGAAAGTAAAA
GAACACCAAGAATCGATGGACATCAACAACCCTCGGGACTTTATTGATTGCTTCCTGATCAAAATGGAGA
AGGTAAAATGTTAACAAAAGCTTAGTTATGTGACTGCTTGCGTATTTGTGATTCATTGACTAGTTTTGTG
TTTACTACGGATGTTTAACAGGTCAAGGAGTAATGCTTGAGAAGCATATTTAAGTTTTTATTGTATGCAT
GAATATCCAGTAAGCATCATAGAAAATGTAAAATTAAATTGTTAAATAATTAGAATACATAGAAGAAATT
GTTTAGATAAATATAATCTATCTGAACAATAAGGATGTCAGGATAGGAAAAGCTCTGTTCTGCAGCTTCC
AGTGAGATCAGCACAGGAGGAACTTAAATTTAAAAGAAAATAAAAAACATCTCCATCAAAAAGTGAGTGA
AGGATATGAACAGACACTTTTCAAAAGAAGTCATTGGAGAAATGCAAATAAAAACAACAATGAGATACCA

NM_000927.4: polymorphic region of ABCB1

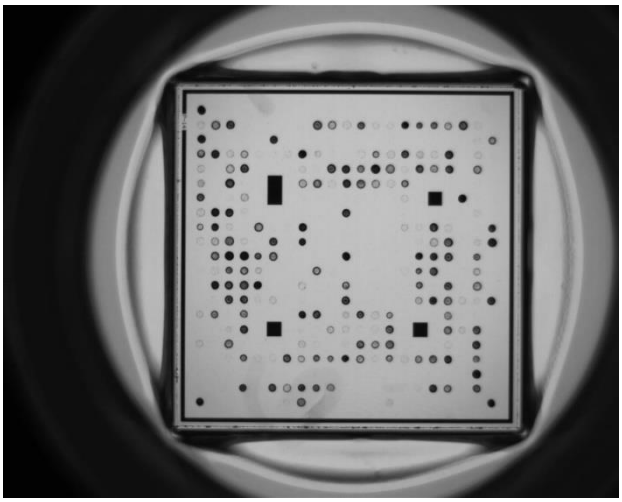
- c.3435T>C (rs1045642)

  5'-AAGTGTGCTGGTCCTGAAGTT-3' sense

  5'-AAGGGTGTGATTTGGTTGC-3' antisense

ATTTATGACTTTACACTTCTGGAGGTCAGAAGTCTAAAATAGGTCTCAGTGGGCTCATATCAAGTGTCAG
GAGGGCTGTGTTCCTTCTAGAGGCTCCAAAGGATGATCTGTTTTCTTGCTTGTGGCCCCTTCCTCCATTT
TCAAAACCAGCAGTGGCTGGTTGAGTCTTTCTCACACTGCATTTGCTGATACTCTTCTCCCTCCTTCTTC
TTCAGTTAAGAGCCCTTATGATTACATTAGTTTCACCAAGATAATTCAGGATAATCTTATTTTACAGTCA
GCTGATTAGCAACCTTACATCTACTACTTTAGTTTCTTTTTGCCATGTAACATAACACATTCACAGGATC
CAGGGATTAGGACACAGATGTCTTGTGGGAGAGGGAACATTATTCTGCCTACCACATGCATACATCAGAA
ACCATGGTTGAAACACAGGAAACATGACAGTTCCTCAAGGCATACAATTATGACCTTGTTGGGTTAACCT
TCACTATCCAAATTTTAATCACACAAACTTTTCCTTAATCTCACAGTAACTTGGCAGTTTCAGTGTAAGA
AATAATGATGTTAATTGTGCTACATTCAAAGTGTGCTGGTCCTGAAGTTGATCTGTGAACTCTTGTTTTC
AGCTGCTTGATGGCAAAGAAATAAAGCGACTGAATGTTCAGTGGCTCCGAGCACACCTGGGCATCGTGTC
CCAGGAGCCCATCCTGTTTGACTGCAGCATTGCTGAGAACATTGCCTATGGAGACAACAGCCGGGTGGTG
TCACAGGAAGAGATTGTGAGGGCAGCAAAGGAGGCCAACATACATGCCTTCATCGAGTCACTGCCTAATG
TAAGTCTCTCTTCAAATAAACAGCCTGGGAGCATGTGGCAGCCTCTCTGGCCTATAGTTTGATTTATAAG
GGGCTGGTCTCCCAGAAGTGAAGAGAAATTAGCAACCAAATCACACCCTTACCTGTATACAAGCATCTGG
CCACACTTCCTGTTTGGGTTAGTTGTTACCTTTACCTGATCACCTGACCCTCCTTGTGAGGAAGGGATGA
AAGTGTTCGACCACTTCAGGTTTAGGAGAGAGGAACATTTCTGGGATAGGAGAACTGGAACAATTGTCTT
GATCCAAAGCTATAGGCTTGAGGCTCCACCTTTGTCAGCCTTAGGGGTAAGTACAATATCTGGAAAGCCT
TTCACTTTAAGTCCAAGTACAGAGTCTGGGTCCCCACCTGCACATGCTGCTTCTGGCCTGCTGAGGAAGT
AGGCATGACTGTCTCTCCCCATGTCTCTCCCCTATTTCTCTTCCTTCTTCCTCCTTGCAGCTCTCTCCCA
AGCCTCAAAACTCACTGTGGAGTCAGTCCAGTCCAGAGGGCTGAACCCATGCCAGAAAGAGTGCTCTCTC

Annexe 10 : Image de la puce du patient numéro 33 capturer par le lecteur des images GenoChip CYP+



Annexe 11: Rapport des résultats du test GenoChip CYP+

CYP+ genotyping test

Physician	Sample	Patient information
33	Report date: 12/11/2019	Patient ID: 33

Results

	Mutation	Result
CYP2D6	2549delA	No signal
	1846G>A	No signal
	Gene Deletion	No signal
	1707delT	No signal
	2935A>C	No signal
	1758G>T	No signal
	2615_2617delAAG	No signal
	100C>T	No signal
	883G>C	No signal
	1023C>T	No signal
	3183G>A	No signal
	2988G>A	No signal
	Gene Duplication	No signal

Interpretation

	Allel	Result
CYP2D6	*3	No signal
	*4	No signal
	*5	No signal
	*6	No signal
	*7	No signal
	*8	No signal
	*9	No signal
	*10	No signal
	*11	No signal
	*17	No signal
	*29	No signal
	*41	No signal
	*xN	No signal

CYP2D6 Genotype: NA

In case that none of the above is detected the allele is defined as functional (CYP2D6*1). Other rare alleles might be present, which are not covered by this method.

The conventional classification system defines patients as poor metaboliser if two non-functional alleles (e.g. CYP2D6*3/*7) are present; as intermediate metaboliser if one non-functional and one allele with reduced activity (e.g. CYP2D6*6/*41) are present or if two alleles with reduced activity (e.g. CYP2D6*17/*29) are present; as extensive metaboliser if at least one functional allele is present (e.g. CYP2D6*1/*4 or CYP2D6*1/*1) and as ultrarapid metaboliser, if at least three copies of a functional allele (e.g. CYP2D6*1/*1xN) are present (classification according to Rebsamen et al., The Pharmacogenomics Journal, 2009, 9:34-41).

CYP+ genotyping test

Results and interpretation of additional markers

Analysed genes	Allel	Result	Genotype
CYP1A1	*2A (3798T>C)	Wildtype	CYP1A1*1/*1
CYP1A2	*1C (-3860G>A)	Wildtype	CYP1A2*1/*1F
	*1F (-163C>A)	Mutation heterozygous	
CYP2B6	516G>T	Mutation heterozygous	---
	785A>G	Mutation heterozygous	
CYP2C9	*2 (430C>T)	Wildtype	CYP2C9*1/*1
	*3 (1075A>C)	Wildtype	
CYP2C19	*2 (681G>A)	Wildtype	CYP2C19*1/*17
	*3 (636G>A)	Wildtype	
	*17 (-806C>T)	Mutation heterozygous	
CYP3A4	*1B (-392A>G)	Wildtype	CYP3A4*1/*1
	*22 (15389C>T)	Wildtype	
CYP3A5	*2 (27289C>A)	Wildtype	CYP3A5*3/*3
	*3 (6986A>G)	Mutation homozygous	
VKORC1	-1639G>A	Mutation homozygous	---

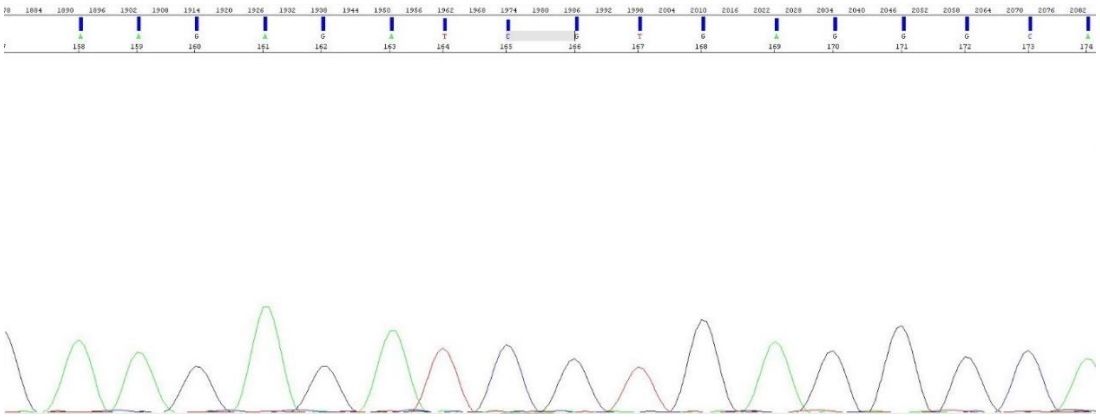
Caution! The final therapeutic decision is always on behalf of the attending physician.

Authorised Signature

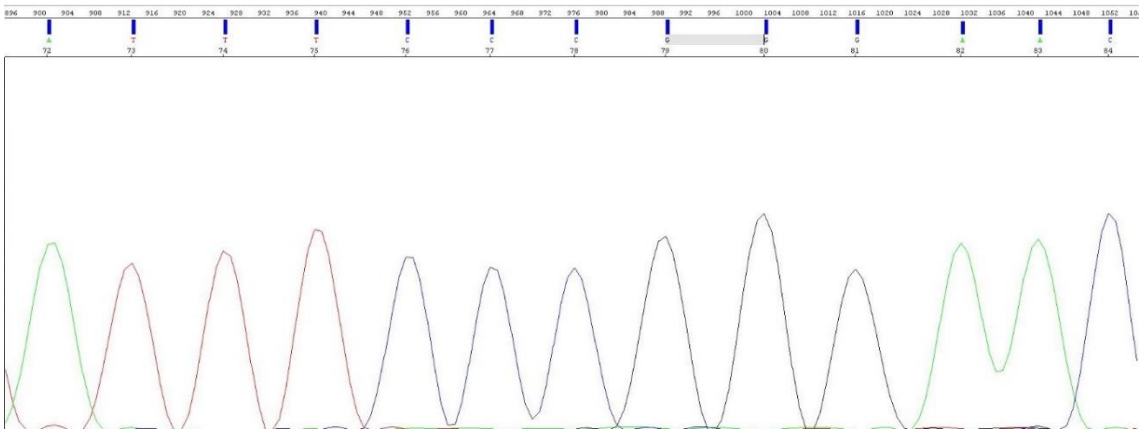
_____

Annexe 12 : électrophérogrammes des mutations

ABCB1 c.3435T>C homozygote



CYP2C19*2 (681 G>A)



CYP2C19*3 (636 G>A)

