UNIL | Université de Lausanne
Faculté de biologie
et de médecine

Centre hospitalier
universitaire vaudois

Mémoire de Maîtrise en médecine No 855

Homocystéine plasmatique totale : établissement des valeurs de référence à partir d'une cohorte lausannoise

Etudiante
Meron Yohannes Hunegaw

Tuteur
Dr. Olivier Boulat (médecin chef)
Service de Biomédecine, CHUV

Expert
Prof. Pedro Manuel Marques-Vidal
Service de de médecine interne, CHUV

Lausanne, décembre 2016

Table des matières

RÉSUMÉ 3

INTRODUCTION 5

QUE SONT LES VALEURS DE RÉFÉRENCE ? 5
QU'EST CE QUE L'HOMOCYSTÉINE ? 5
COMMENT MESURER L'HOMOCYSTÉINE PLASMATIQUE TOTALE (THCY) ? 6
QUELS SONT LES FACTEURS INFLUENÇANT LA CONCENTRATION DE L'HOMOCYSTÉINE PLASMATIQUE TOTALE ? 7
APPORT EN VITAMINES ET RÉDUCTION DE LA CONCENTRATION PLASMATIQUE DE THCY ? 9
QUELLE EST LA VALEUR SEUIL LIMITE DE THCY ACTUELLEMENT UTILISÉE ? 10
QUEL EST L'OBJECTIF DE CE TRAVAIL ? 10

MATERIELS ET METHODOLOGIE 11

POPULATION 11
POPULATION DE RÉFÉRENCE 11
STATISTIQUES 12
PRÉLÈVEMENTS 12
MESURE DE L'HOMOCYSTÉINE AU LABORATOIRE 13

RESULTATS 14

DESCRIPTION DES RÉSULTATS 16
TABLEAU 3 : RÉSUMÉ DES RÉSULTATS DE THCY DE LA POPULATION DE RÉFÉRENCE 17

DISCUSSION 19

RÉSUMÉ DES RÉSULTATS 19
VALIDATION EXTERNE 19
VALIDATION INTERNE 23

CONCLUSION 24

ABREVIATIONS 25

REMERCIEMENTS 25

BIBLIOGRAPHIE 25

RÉFÉRENCES LIENS INTERNETS: 28

Résumé

INTRODUCTION :

Les valeurs de référence sont extraites d'une population saine et sont définies par l'intervalle de référence compris entre le percentile 2,5 et 97,5 contenant le 95% central.

L'homocystéine est un métabolite des acides aminés soufrés : la méthionine et la cystéine. Le métabolisme de l'homocystéine nécessite la vitamine B12, B6 et les folates. Dans le plasma la molécule est soit sous forme libre ou liée aux protéines plasmatiques, oxydée (disulfides) ou réduite. Le dosage de l'homocystéinémie totale comprend l'ensemble de ces formes.

L'homocystéinémie dépend des déterminants génétiques, biologiques et environnementaux. Elle est élevée et associée à des évènements cardiovasculaires et thromboemboliques. La détermination d'une valeur de référence de l'homocystéine plasmatique totale dans la population de chaque région, peut, de ce fait, être avantageuse. La supplémentation en folates et en vitamine B12 est associée à une réduction du niveau de l'homocystéinémie, ce qui n'est cependant pas nécessairement corrélée à une réduction des évènements cardiovasculaires ou thromboemboliques.

Ce travail est une étude rétrospective dont le but est de déterminer des valeurs de références de l'homocystéine plasmatique totale à partir d'une cohorte lausannoise non supplémentée en folates.

MATÉRIEL ET MÉTHODOLOGIE :

Afin de sélectionner une population de référence à partir de la base de donnée de la cohorte lausannoise, les personnes avec les variables suivantes ont été exclues : *a)* filtration glomérulaire eGFR < 60 ml/min/1,73m^2 *b)* diabète sucré *c)* prise d'antidiabétiques *d*) prise d'antihypertenseurs *e)* antécédent d'infarctus du myocarde *f)* dosages manquants de l'homocystéine.

Les logiciels statistiques suivants ont été utilisés : version 14.1 du logiciel Stata (Stata corp, College Station, TX ; USA), SPSS statistics (IBM corp ; USA).

Les dosages de l'homocystéine plasmatique totale ont été effectués au laboratoire de chimie clinque du CHUV par chromatographie en phase liquide à haute performance (HPLC).

A partir de ces données, nous avons comparé la distribution de l'homocystéine plasmatique totale ainsi qu'extrait des intervalles de référence tout en tenant compte des différentes variables

RÉSULTATS :

Selon les critères d'exclusions de notre étude, 5069 personnes ont été éligibles de la cohorte lausannoise (N=6733). La distribution de l'homocystéine totale dans notre population est asymétrique avec un intervalle de référence chez les femmes de **5,2 – 15,6 µmol/L** et **de 6,3 mol/L – 19,8 µmol/L** chez les hommes, tout âge confondu. En plus du genre, nous avons séparé la population en fonction de l'âge. Nous obtenons un taux d'homocystéine totale chez les personnes < 65 ans entre **5,1 – 14,8 µmol/L** pour les femmes (N=2451) et entre **6,2 – 19,6 µmol/L** pour les hommes (N=2169). De même manière, pour les personnes ≥ 65 ans, nous obtenons un intervalle de référence entre **6,3 – 17,6 µmol/L** chez les

femmes (N=258) et **7,2 – 31,5 µmol/L** chez les hommes (N=191).

La limite supérieure de l'intervalle de référence est augmentée dans les conditions suivantes : sexe masculin, âge ≥ 65 ans, obésité abdominale, hypertension artérielle, dyslipidémie (HDL diminué, LDL augmenté, triglycérides augmenté), sédentarité, ménopause, consommation d'alcool importante et très importante.

CONCLUSION :

Dans une population de référence constituée d'individus issus de la population CoLaus, âgés de 35 à 75 ans, sans insuffisance rénale, ni diabète, ni hypertension et sans antécédents de maladies cardiovasculaires, l'intervalle de référence (p2.5 – p97.5) de l'homocystéine totale plasmatique est **5,5 - 17,5 µmol/L**. Une différence statistiquement significative est observable entre les femmes (**5,1 – 14,8 µmol/L)** et les hommes (**6,2 – 19,6 µmol/L)** de moins de 65 ans.

Conformément aux données de la littérature, nous avons observé une association entre l'homocystéine totale plasmatique et les variables suivantes : l'âge, le genre, le BMI, la tension artérielle, la dyslipidémie, l'activité physique, la ménopause ainsi que la consommation d'alcool. Ces variables sont nécessaires pour une bonne interprétation de la concentration d'homocystéine plasmatique totale.

Une sérieuse limitation de notre travail est l'absence de données concernant le statut vitaminique des individus de référence (vitamine B12 et folates). Un déficit vitaminique pourrait raisonnablement expliquer l'élévation du percentile 97,5 dans la population de plus de 65 ans avec fonction rénale conservée, tant chez les femmes **(17,6 µmol/L)** que chez les hommes **(31,5 µmol/L).** La valeur de la limite supérieure de l'intervalle de référence des hommes de plus de 65 ans étant au-delà de la valeur seuil généralement admise comme hyperhomocystéinémie intermédiaire, il ne parait pas judicieux d'adopter une telle limite dans la pratique médicale.

Notre travail démontre le fait que l'utilisation de la valeur seuil du laboratoire (15 µmol/l) comme limite supérieure de l'intervalle de référence reste compatible avec l'intervalle de référence trouvée dans notre population de référence, tout genre confondu (**17.5 µmol/l**). Augmenter la limite de référence de 2.5 µmol/l n'aurait cependant pas de sens du point de vue santé publique, tous les facteurs de risque cardiovasculaires (surpoids, sédentarité, bilan lipidique, …) conduisant à une augmentation de la limite supérieure de l'intervalle de référence.
Notre travail illustre donc une fois de plus la difficulté de choisir entre valeurs seuils et intervalles de référence pour l'interprétation (classification) des données par le laboratoire.

Malgré une limite supérieure de l'intervalle de référence élevée, nous proposons de ne pas modifier la valeur seuil utilisée par le laboratoire, sachant qu'une des causes principales d'une augmentation de l'homocystéine plasmatique totale, en l'absence d'insuffisance rénale, est une hypovitaminose (B12 et folates). Une hyperhomocystéinémie s'amenuisant après substitution permet de mettre cette augmentation sur le compte d'un déficit fonctionnel de l'une ou l'autre de ces vitamines.

INTRODUCTION

Que sont les valeurs de référence ?

Le concept de la valeur de référence a été développé afin de remplacer la notion de « normalité » dans un contexte où une importante quantité de série de mesures ont commencé à être réalisées par les laboratoires(1).

L'établissement de valeurs de référence, par des moyens statistiques, nécessite le recrutement d'une population de référence, correspondant à un large échantillon d'une population saine. La sélection minutieuse d'une population de référence saine est primordiale pour la détermination de la variabilité biologique, correspondant à la variabilité intra- et interindividuelle. Les valeurs de référence sont spécifiques à la population à partir de laquelle elles sont estimées ainsi qu'aux méthodes de mesures utilisées(1). Elles sont définies par un intervalle de référence, lui-même généralement déterminé par l'écart entre les percentiles (p) 2,5 et 97,5, contenant le 95% central de la population de référence.

Qu'est ce que l'homocystéine ?

L'homocystéine (Hcy) est un intermédiaire du métabolisme des acides aminés soufrés, méthionine et cystéine (voir Fig.1 ci-dessous). Hcy est un produit du métabolisme de la méthionine(2).

L'Hcy intracellulaire est soit reméthylée en méthionine, soit transulfurée, soit exportée des cellules. La première réaction de reméthylation est catalysée par 5MTHF-Hcy metyltransferase (méthionine synthétase : MS) qui requière la vitamine B12 comme cofacteur. Cette dernière réaction est couplée à la conversion de 5MTHF (5-méthyltétrahydrofolate) en THF (tétrahydrofolate), ce qui est le point de convergence entre la voie du métabolisme de folate et de la voie de reméthylation de Hcy(2). Une autre voie alternative de reméthylation de Hcy dans le foie est celle catalysée par la betaine-Hcy méthytransferase, la betaine servant de donneur de méthyl(2).

Les enzymes de la voie de transsulfuration dépendent de la vitamine B6. La cystathionine-ß-synthase (CBS), catalysant la condensation de Hcy avec la sérine pour former la cystathionine(2). Cette réaction est irréversible dans les conditions physiologiques, et forme le point d'engagement de Hcy dans la voie de la transsulfuration(2). Plus tard, la cystathionine est clivée en cystéine et en α-ketobutyrate, réactions catalysées par une autre enzyme vitamine B6 dépendante (α-cysthionase).

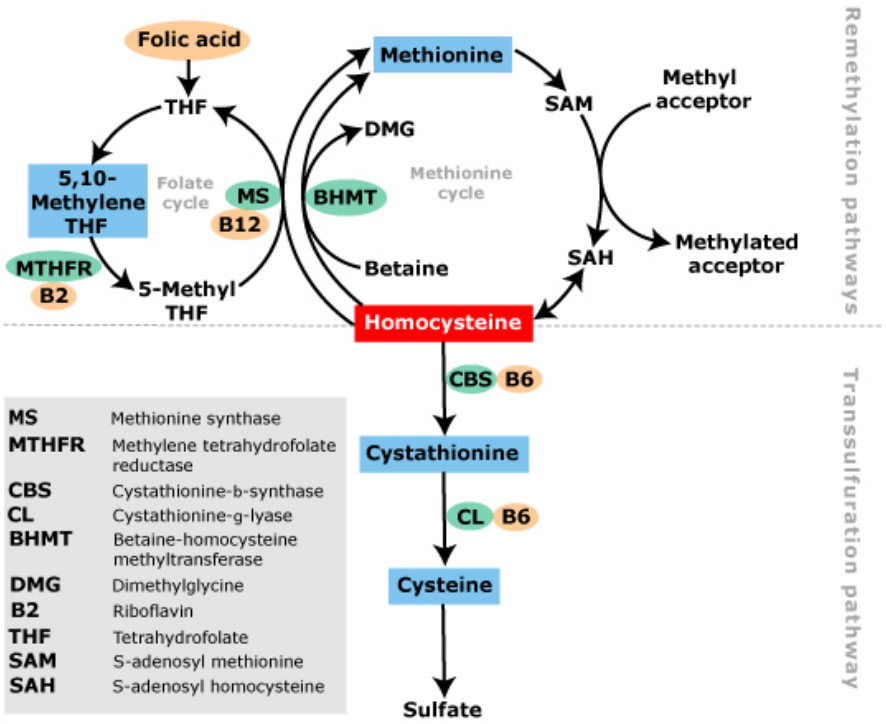


Figure 1: voie métabolique de l'homocystéine (49)

Comment mesurer l'homocystéine plasmatique totale (tHcy) ?

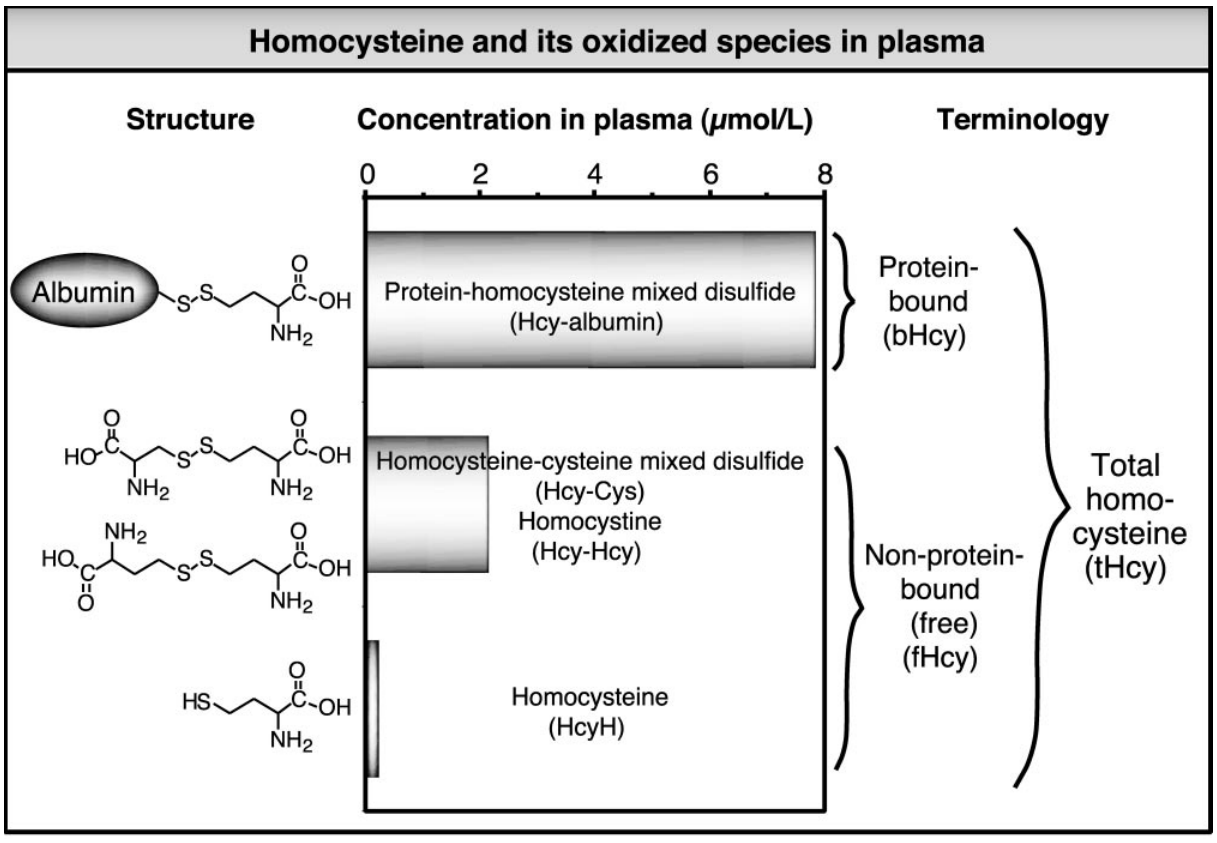


Figure 2: les différentes formes de l'homocystéine plasmatique totale(3)

L'Hcy se trouve sous forme libre ou liée aux protéines dans le sang, sous forme oxydée (disulfides) ou réduite (voir Fig. 2). Le dosage plasmatique de l'homocystéine totale prend en compte toutes ces formes(2).

Des méthodes de détermination des différents formes de l'homocystéine totale plasmatique (tHcy) se font depuis les années 1980 par différentes techniques de chromatographie(2,4), celle utilisée dans cette étude est la chromatographie en phase liquide à haute performance (HPLC). D'autres méthodes de dosage utilisent des techniques enzymatiques, radio-enzymatiques ou immuno-enzymatiques(4).

Quels sont les facteurs influençant la concentration de l'homocystéine plasmatique totale ?

FACTEURS PHYSIOLOGIQUES INFUENÇANT LA CONCENTRATION PLASMATIQUE DE THCY :

La concentration tHcy est influencée par les déterminants biologiques, génétiques et environnementaux(5,6). Le niveau tHcy plasmatique est plus élevé chez les hommes. L'âge, l'insuffisance rénale ainsi que l'hypothyroïdie ont un effet sur son élévation(6).

Le mode de vie a un impact significatif sur le niveau de tHcy. En effet, le niveau de tHcy est un marqueur sensible reflétant indirectement le taux vitaminique (vitamine B12 et folates) dans les cellules(6,7), c'est-à-dire que l'apport nutritionnel en ces vitamines se corrèle à la diminution de la concentration tHcy. L'activité physique diminue également le niveau de tHcy(8), contrairement à la consommation chronique d'alcool et du tabac(9). L'impact du style de vie est plus important chez les femmes que les hommes(6).

Certains médicaments, comme les antagonistes des folates (Méthotrexate), de la vitamine B12 ou B6, les médicaments antiépileptiques, les contraceptifs et certaines thérapies hormonales(6,10) ou encore les amino-thiols (acetylcystéine, penicillamine) augmentent le niveau de tHcy, tandis que les thérapies hormonales chez les femmes ménopausées le diminue(10,11).

Du côté génétique, la cause la plus commune d'hyperhomocystéinémie congénitale(6) est le déficit en CBS chez les homozygotes, mutation présente chez les hétérozygotes à une fréquence <1% dans la population générale. D'autres causes génétiques plus rares existent, comme un défaut de MTHFR(6).

FACTEURS PHYSIOPATHOLOGIQUES INFLUENÇANT LA CONCENTRATION PALSMATIQUE DE THCY :

Actuellement, de nombreuses études objectivent une élévation de taux de l'homocystéine dans les populations atteintes de pathologies fréquentes, telles que les maladies cardiovasculaires ou thromboemboliques, concluant ainsi à une association(12). Le niveau tHcy élevé est décrit en tant que facteur de risque cardiovasculaire (FRCV) indépendant(6,13–17). Toutefois les conclusions sont encore controversées à ce sujet. En effet, certaines études associent la tHcy en tant que facteur prédictif indépendant d'évènement arthérosclérotique(6,17), d'autres montrent une forte association avec les maladies thromboemboliques(18) mais d'autres études encore ne retrouvent pas ces associations(19). les FRCV conventionnels in niveau de tHcy. L'augmentation de l'homocystéinémie est corrélée avec

l'augmentation de LDL-cholestérol et la diminution de HDL-cholestérol(6,8,17). Une corrélation positive proportionnelle entre le nombre de cigarettes fumées et une forte augmentation de tHcy plasmatique est rapportée, par une étude norvégienne, de la région de Hordaland. Cette corrélation est particulièrement forte chez les femmes(8).

Selon l'étude « The European Concerted Action Project »(16), l'élévation de tHcy est un FRCV tout comme la fumée, la dyslipidémie, le diabète sucré et l'hypertension(17). *Arnesen et al.* (13) ont mené une étude qui précise la corrélation entre la tHcy et les facteurs de risques cardiovasculaires, ceci en stratifiant la tHcy en fonction de la valeur prédictive d'évènements cardiovasculaires. Ainsi la tHcy élevée a une valeur prédictive inférieure au cholestérol total, au HDL-cholestérol et au tabac mais supérieure au diabète, à la tension artérielle systolique et aux triglycérides(13). De plus, la tHcy élevée agit comme un facteur synergique aux FRCV conventionnels (fumée, diabète, hypertension, dyslipidémie, sédentarité)(6,16,17). Une étude réalisée chez des patients hyperlipidémiques souligne l'augmentation de risque de maladies arthérosclérotique lors d'une association avec une tHcy élevée. Par conséquent, elle recommande le dosage de tHcy plasmatique chez cette population à risque, dans le but d'utiliser des moyens de réduction du taux de tHcy dans le cas d'hyperhomocystéinémie(17).

L'impact du diabète sur le tHcy est un sujet controversé, alors que certaines études ne trouvent aucune association ou signalent une corrélation inverse(6), *C. Chrysohoou et al.* (20) met en évidence l'augmentation du niveau de tHcy avec le diabète. La méta-analyse de *Refsum et al*.(6) évalue deux cas de figure et constate que les diabétiques avec une fonction rénale normale ont la tHcy normale ou diminuée, due à l'hyperfiltation glomérulaire, alors que les diabétiques avec une altération de la fonction rénale ont une tHcy élevée.

Selon l'étude de *O. Nygård et al*. (21), la tHcy élevée est un facteur prédicteur modifiable de la mortalité, ceci indépendamment de l'âge, du genre, de la consommation de tabac, de la tension artérielle ou de la créatinémie. Cette étude, réalisée sur des patients avec une maladie coronarienne confirmée, a investigué l'association entre la tHcy élevée et la mortalité. Elle montre une mortalité plus importante 24,7% chez les patients avec un niveau de tHcy élevé (≥15 µmol/L) par rapport à ceux avec un niveau de tHcy normal (< 9µmol/L), mortalité à 3,6 %.

TABLEAU 1 : RÉSUMÉ DES FACTEURS INFLUENÇANT THCY

Variables	**tHcy**
Âge élevé	⇑
Homme	⇑
Femme	⇓
Insuffisance rénale	⇑
Hypertension	⇑
Diabète sucré	⇑⇓ ø
Hypothyroïdie	⇑
Folates, vitamine B12/B6	⇓
LDL augmenté, HDL diminué	⇑
Activité physique	⇓
Tabac, alcool	⇑
Médicaments : - Antagoniste des folates (Méthotrexate) - Antagoniste de la vit B12/B6 - Médicaments antiépileptiques - Contraceptifs - Certaine thérapie hormonale - Amino-thiols	⇑
Hormonothérapie (femme ménopausées)	⇓
Génétique - Déficit congénital CBS - Défaut de MTHFR	⇑

⇑ : tHcy augmentée, ⇓ : tHcy diminuée et ø pas d'association

Apport en vitamines et réduction de la concentration plasmatique de tHcy ?

La supplémentation en folates associée à de la vitamine B12 ou B6 est le moyen, le plus fréquemment utilisé, permettant de réduire la concentration de tHcy(17). Bien que des récentes études aient objectivées une réduction de la concentration de tHcy par la supplémentation en folates et vitamine B12, chez les personnes ayant un niveau de tHcy élevé, la diminution de cette dernière n'a pas d'effet sur la réduction des évènements cardiovasculaires(12,16,22). Selon *Bønaa et al.* (12), chez les patients avec des antécédents d'évènements cardiovasculaires, la réduction du niveau de tHcy ne les protège pas d'autres évènements cardiovasculaires. La supplémentation par B6 seule ne semble pas avoir un effet significatif sur la réduction du niveau de tHcy(23).

Différents moyens d'actions ont été introduits afin de diminuer la concentration de tHcy au niveau

populationnel. Les Etats-Unis et le Canada ont introduit une fortification de la farine et des céréales en folates(12,24), ceci afin de diminuer les évènements cardiovasculaires chez la population générale. Les résultats actuels montrent, comme conséquence de cette mise en place, une baisse du niveau de tHcy et des défauts congénitaux du tube neural(25). En Suisse, seules les personnes à risques, reçoivent des suppléments en folates(26). Les apports nutritionnels et les supplémentations étant différents d'un pays à l'autre, il est nécessaire que chaque pays détermine son intervalle de référence de tHcy pour sa population(3).

Quelle est la valeur seuil limite de tHcy actuellement utilisée ?

Lorsque le dosage de tHcy est effectué par la technique de HPLC, la majorité des laboratoires utilise 15 µmol/L comme valeur limite supérieure de l'intervalle de référence d'homocystéinémie élevée, ceci indépendamment de l'âge, du sexe ou d'autres paramètres biologique(27,28). Selon le CDC « Center of Disease Control and Prevention », l'hyperhomocystéinémie modérée est entre 16 à 30 µmol/L, intermédiaire entre 30 à 100 µmol et sévère supérieure à 100 µmol/L(29).

Quel est l'objectif de ce travail ?

L'objectif de ce travail est d'étudier rétrospectivement la distribution de tHcy et d'établir les intervalles de références pertinents, ceci à partir d'une population de référence issue de la cohorte lausannoise (CoLaus) non supplémentée en folates. S'ils se révèlent pertinents, les intervalles de référence ainsi déterminés remplaceront celui utilisé par le laboratoire de chimie clinique du CHUV.

MATERIELS ET METHODOLOGIE

Population

La population étudiée est celle de la cohorte lausannoise CoLaus (50) étude populationnelle dont le but est d'investiguer l'épidémiologie et la génétique des déterminants des facteurs de risques cardiovasculaires et du syndrome métabolique. La population provient de la ville de Lausanne qui comprend 117'161 personnes dont 79'420 ont la nationalité suisse. Les critères d'inclusion pour la CoLaus étaient : a) un consentement par écrit b) un âge compris entre 35 à 75 ans c) une personne d'origine caucasienne, définie comme personne dont deux grands-parents sont nés dans une liste stricte de pays. Le recrutement de la population a été faite entre 2003 et 2006, et au total 6733 participants ont été sélectionnés(30). (Voir la méthodologie détaillée de la CoLaus)

Les valeurs limites de différentes variables tel que le BMI, la tension artérielle, le bilan lipidique, la consommation d'alcool et la pratique de l'activité physique ont été tirées de la méthodologie de la CoLaus(30).

Afin d'avoir accès à la base de donnée de CoLaus une demande au comité scientifique de la cohorte a été effectuée.

Population de référence

Une population de référence a été sélectionnée à partir de la population CoLaus. En se basant en premier lieu sur la littérature plusieurs variables spécifiques ont été choisies. Les variables suivantes ayant une covariance ou dépendance significative avec l'homocystéinémie ont été exclues (voir figure 3) :

a) filtration glomérulaire eGFR < 60 ml/min/1,73m^2

b) diabète

c) antidiabétiques

d) antihypertenseurs

e) antécédent d'infarctus du myocarde.

Les variables tels que le BMI, le périmètre abdominal élevé, les femmes ménopausées ont été inclues, au vu d'une réduction de la population de référence à uniquement 1791 personnes.

Les mesures manquantes de tHcy ont été également exclus dans un deuxième temps.

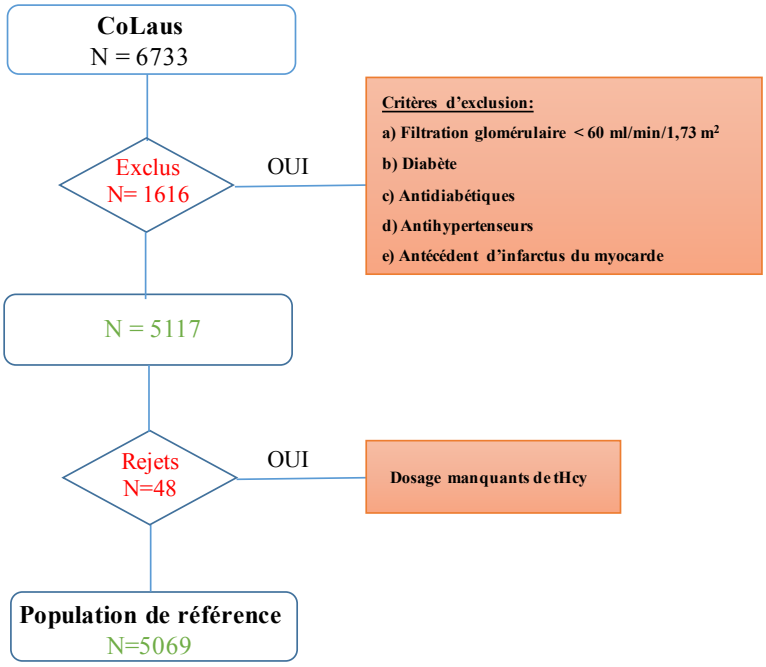


Figure 3: schéma décrivant de la sélection d'une population de référence à partir de la cohorte lausannoise.

Statistiques

En premier temps, afin de déterminer les variables ayant une corrélation ou une dépendance, l'analyse statistique a été effectuée avec le logiciel SPSS statistics (IBM corp ; USA). Les tests statistiques utilisés sont les suivants : ANOVA, le Khi^2 de Pearson et le coefficient de Pearson. Les différences ont été considérées comme significatives lorsque $p < 0,05$.

En deuxième temps pour la détermination des intervalles de références, l'analyse statistique a été réalisée avec la version 14.1 du logiciel Stata (Stata corp, College Station, TX ; USA). Les résultats ont été exprimés en moyenne, écart-type, et percentiles 2.5, 5, 25, 50 (médiane), 75, 95 et 97.5. Les comparaisons entre groupes ont été analysées avec le test non paramétrique de Kruskal-Wallis. Le degré de significativité a été établi pour un test bilatéral avec $p<0.05$.

Prélèvements

Le sang est prélevé à jeun dans un tube d'EDTA et transmis directement au laboratoire du CHUV, où il est centrifugé à 2710 g à température de 4° C pendant 15 minutes pour obtenir le plasma. Ce dernier est ensuite analysé le jour même ou conservé à -20° C jusqu'à l'analyse.

Mesure de l'homocystéine au laboratoire

Les dosages de tHcy ont été effectués au laboratoire de chimie clinique du CHUV. La réduction des thiols et le découplage de l'homocystéine et disulfides des protéines plasmatiques sont effectués à l'aide de Tris(2-carboxyéthyl) phosphine. Après déprotéinisation à l'aide de d'acide perchlorique (PCA), les thiols sont dérivatisés avec l'acide 7-Fluorobenzofurazane-4-sulfonique (SBD-F). Les dérivés SBD-F sont séparés par HPLC et l'homocystéine totale est mesurée par détection fluorimétrique.

La qualité des dosages est attestée par des contrôles de qualité internes et externes. Le laboratoire est accrédité selon la norme ISO 15189.

RESULTATS

TABLEAU 2: DISTRIBUTION DE THCY DANS LA POPULATION COLAUS ET DE RÉFÉRENCE

		Population totale (CoLaus)	Population de référence
Effectif total		6733	5117
Dosage de tHcy manquants		58	48
Femme		3544 (52,6 %)	2709 (53,4 %)
Homme		3184 (47,4 %)	2360 (46,6 %)
<65 ans		5688 (85,2 %)	4620 (91,1 %)
≥65 ans		987 (14,8 %)	449 (8,9 %)
Âge moyen (ans)		52,6	50,2
tHcy (µmol/L)	**Percentile 2,5**	5,6	5,5
	Percentile 50	9,5	9,2
	Percentile 97,5	19,1	17,5
	Moyenne	10,25	9,8
	Minimum	3,2	3,2
	Maximum	131,4	67,1

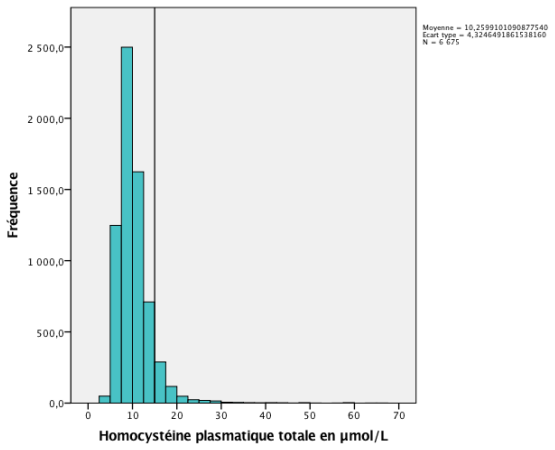
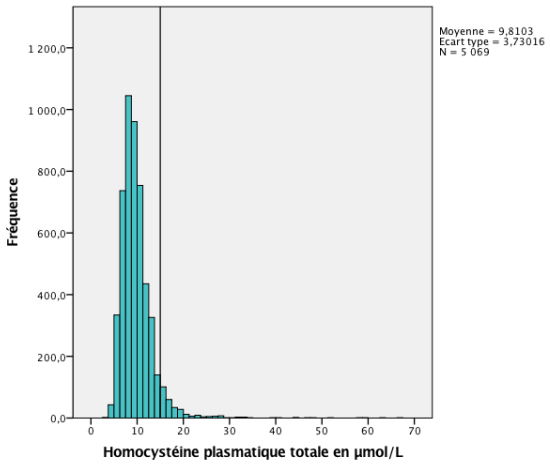
Figure 4 : Distribution de tHcy dans la population source (CoLaus)	Commentaires
	La distribution de tHcy est asymétrique et déviée de la normale. Les percentiles 2.5 et 97.5 de tHcy sont respectivement **5,6 et 19,1 µmol/L (médiane : 9,5 µmol/L, moyenne : 10,25 µmol/L, min – max : 3,2 - 131,4 µmol/L).** 58 mesures de tHcy étant manquantes, ces valeurs sont tirées de 6675 personnes faisant partie de la CoLaus (52,6% femmes) avec un âge moyen de 52,6 ans. La ligne verticale indique la valeur seuil actuellement utilisée (15 µmol/l)

Figure 5 : Distribution de tHcy dans la population de référence.	Commentaires
	La distribution de tHcy est asymétrique. Le percentile 2.5 et 97.5 de tHcy sont respectivement **de 5,5 et 17,5 µmol/L (médiane : 9,2 µmol/L, moyenne : 9,8 µmol/L, min - max : 3,2 - 67,1 µmol/L).** Les valeurs sont extraites de la population de référence sélectionnée selon les critères précédemment décrits, constituée de 5069 sujets (53,4 % femmes) avec un âge moyen de 50,2 ans. La ligne verticale indique la valeur seuil actuellement utilisée (15 µmol/l)

Description des résultats

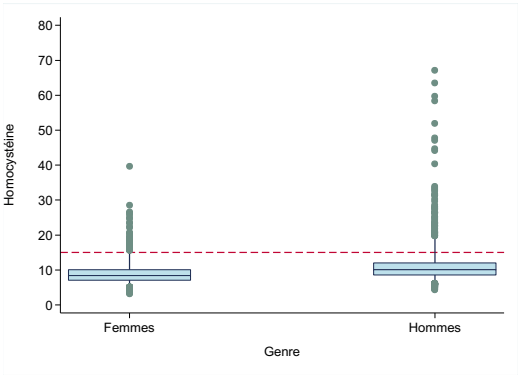
Figure 6: distribution de tHcy selon le genre avec les outliers (les valeurs extrêmes)	Commentaires
	L'intervalle de référence de tHcy chez les femmes est **entre 5,2 - 15,6 µmol/L (médiane : 8,4 µmol/L).** Chez les hommes, il est entre **6,3 - 19,8 µmol/L (médiane : 10,1 µmol/L).** L'intervalle de référence est estimé par l'intervalle entre les percentiles 2,5 et 97,5. Il est significativement différent selon le genre. La représentation des résultats est sous forme de boite à moustache *(box-plot)* avec une valeur limite *(cut-off)* de tHcy à 15 µmol/L. La ligne centrale représente la médiane (percentile 50), la partie inférieure de la boite le 1er quartile (percentile 25) et la partie supérieure le 3ème quartile (percentile 75). La limite inférieure et supérieure de la moustache représente respectivement le percentile 2,5 et 97,5. Les valeurs extrêmes sont représentées par des points.

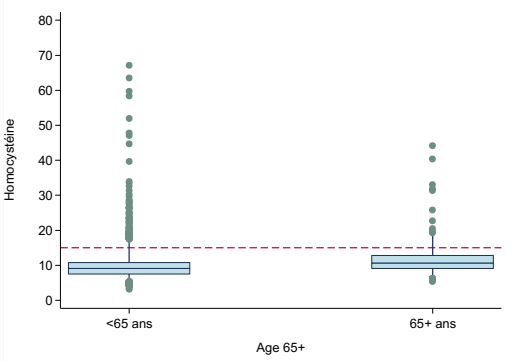
Figure 7 : distribution de tHcy selon l'âge avec les outliers	Commentaires
	Les personnes de 35 à 64 ans (N=4620 ; 91,1%) ont un intervalle de référence (p2,5 - p97,5) compris entre **5,4 - 17,4 µmol/L (médiane : 9,1 µmol/L)**, tandis que celles qui ont > 65 ans (N=449 ; 8,9%) ou ont un intervalle entre **6,5 - 19,1 µmol/L (médiane : 10,6 µmol/L).** L'intervalle de référence est significativement différente selon un âge < ou ≥ 65 ans

Tableau 3 : résumé des résultats de tHcy de la population de référence

				Percentiles de tHcy						
	N	Moy	ET	2.5	5	25	50	75	95	97.5	P-value *
Total	5069	9.8	3.7	5.5	5.9	7.6	9.2	11	15.4	17.5	
Genre											<0.001
Femmes	2709	8.9	2.8	5.2	5.6	7.1	8.4	10.1	13.6	15.6	
Hommes	2360	10.9	4.4	6.3	6.9	8.6	10.1	12	16.8	19.8	
Classe d'âge											<0.001
<65 ans	4620	9.6	3.7	5.4	5.9	7.5	9.1	10.8	15	17.4	
≥65 ans	449	11.4	4	6.5	6.9	9.1	10.6	12.8	17.1	19.1	
Catégories de poids											<0.001
<18	90	10.1	3.6	5.9	6.4	7.7	9.4	11.7	16.4	19.9	
[18-25[	2679	9.6	3.6	5.4	5.8	7.5	9	10.7	15.3	17.7	
[25-30[	1771	10	3.9	5.7	6.1	7.9	9.4	11.3	15.4	17.5	
[30+	527	10	3.9	5.7	6.2	7.7	9.2	11.2	16	17.4	
Obésité abdominale											0.039
Non	3915	9.8	3.8	5.4	5.9	7.6	9.1	11	15.2	17.7	
Oui	1148	10	3.6	5.8	6.1	7.7	9.3	11.2	15.6	17.4	
Hypertension											<0.001
Non	4020	9.5	3.5	5.4	5.9	7.5	9	10.8	14.8	16.9	
Oui	546	10.8	4.5	5.8	6.4	8.4	10	12	17.2	20.8	
HDL cholestérol											<0.001
≥1 mmol/L	4935	9.8	3.7	5.5	5.9	7.6	9.2	11	15.4	17.4	
<1 mmol/L	134	10.7	3.9	6.1	6.2	8.3	9.9	12.2	17.5	22.3	
LDL cholestérol											<0.001
<4.4 mmol/L	4347	9.7	3.8	5.4	5.9	7.5	9.1	10.9	15.2	17.4	
≥4.4 mmol/L	659	10.4	3.3	6.2	6.6	8.4	9.7	11.8	16.1	18.4	
Triglycérides											<0.001
<2.2 mmol/L	4537	9.7	3.7	5.4	5.9	7.6	9.1	10.9	15.2	17.3	
≥2.2 mmol/L	532	10.6	4	5.7	6.1	8.3	10.1	12.1	16.9	20.2	
Activité physique											<0.001
Sédentaire	1688	10	4.3	5.4	5.8	7.6	9.2	11.2	16.5	19.1	
Régulière	3236	9.7	3.5	5.5	6.1	7.7	9.2	11	14.8	16.9	
Intense	72	8.3	2.3	4.9	5.2	6.5	8	9.5	13.2	15.4	
Contraception §											0.778
Non	1859	8.3	2.5	5	5.4	6.6	7.9	9.3	12.5	14.4	
Oui	262	8.3	2.5	4.9	5.1	6.6	7.8	9.8	12.9	15	
Ménopause §											<0.001
Non	1451	8.3	2.5	5	5.3	6.6	7.8	9.4	12.6	14.6	
Oui	1233	9.6	2.9	5.8	6.2	7.8	9.2	10.9	14.3	16.3	
Consommation alcool											<0.001
Absente	1394	9.4	3.7	5.1	5.7	7.3	8.8	10.6	14.4	16.9	
1-13 unités	2824	9.7	3.4	5.6	6	7.6	9.1	10.9	15	17	
14-34 unités	767	10.9	4.6	6.1	6.5	8.5	10.1	12.1	17	19.8	
35+ unités	84	11.9	4.4	5.7	6.8	9.2	10.5	14.1	22.2	23	

Moy=moyenne ; ET=écart-type. * test non paramétrique de Kruskal-Wallis. § femmes uniquement

Le tableau 3 ci-dessus résume les observations effectuées concernant tHcy dans la population de référence. Obésité abdominale = périmètre abdominal à ≥80 cm chez la femme et ≥ 94 cm l'homme(31)**. Hypertension = pression artérielle systolique ≥140 et diastolique ≥ 90 mmHg**(30)**. Activité physique : sédentaire= aucune activité physique, régulière = 1 ou 2 activité par semaine, intense > 3 activités par semaine. Consommation alcool : absente = pas de consommation, modérée= 1-13 unités, importante = 14-34 unités, très importante ≥ 35 unités les 7 jours précédents la consultation**(32)**.**

Remarque tableau 3 : les effectifs totaux des variables suivant : BMI, périmètre abdominal, tension artérielle, LDL, activité physique, prise de contraceptifs, ménopause, varient car les données les

concernant manquent dans la base de données de CoLaus.

Influence du genre : la limite supérieure de l'intervalle de référence (percentile 97,5) est significativement supérieure chez l'homme comparée à la femme tout âge confondus. Cette différence est d'autant plus importante lorsqu'on compare les hommes et femmes d'âge ≥ 65 ans. Ainsi les intervalles de références chez les personnes < 65 ans se situent entre **5,1 – 14,8 µmol/L** chez les femmes (N=2451) et entre **6,2 – 19,6 µmol/L** chez les hommes (N=2169). Chez les personnes ≥ 65 ans, les intervalles de références sont chez les femmes (N=258) entre **6,3 – 17,6 µmol/L** et chez les hommes (N=191**) 7,2 – 31,5 µmol/L**. Il est à noter que l'effectif des personnes âgés ≥ 65 ans est plus bas.

Influence de l'âge : le niveau de tHcy augmente significativement avec l'âge, en effet le percentile 97,5 des personnes d'âge ≥ 65 ans est supérieur comparé aux personnes d'âge < 65 ans.

Influence du BMI : il n'y a pas une grande différence dans la population de référence concernant l'intervalle de référence de tHcy selon le BMI. Néanmoins une légère augmentation de la limite supérieure de l'intervalle de référence est à noter pour les BMI < 18 et >25 kg/m^2.

Influence du périmètre abdominal : le percentile 97,5 de tHcy est légèrement supérieur chez les personnes avec un périmètre abdominal élevé.

Influence de l'hypertension : le percentile 97,5 de tHcy est significativement élevé (+3,4 µmol/L) chez les personnes hypertendues comparées aux personnes normotendues.

Influence du bilan lipidique : les sujets qui ont une concentration d'HDL diminuée, d'LDL augmentée et triglycérides augmentée, les intervalles de référence sont significativement élevés comparés aux personnes avec un niveau d'HDL et de LDL et triglycérides normal.

Influence de l'activité physique : les personnes sédentaires ont leur limite supérieure de l'intervalle de référence significativement plus élevée en comparaison aux autres groupes.

Influence de la contraception : la différence entre les intervalles de référence des femmes sous mesures de contraception comparées à celles sans pilules contraceptives n'est statistiquement pas significative.

Influence de la ménopause : le percentile 97,5 de tHcy est supérieur chez les femmes post-ménopausées en comparaison avec celles qui sont en pré-ménopause.

Influence de la consommation alcool : les groupes avec une consommation d'alcool importante et très importante comparés au groupe sans consommation ont le percentile 97,5 de tHcy significativement supérieur. Le groupe avec une consommation d'alcool modérée n'a par contre peu de différence du groupe sans consommation.

DISCUSSION

Résumé des résultats

La population de la CoLaus diffère de la population de référence sur plusieurs points. La moyenne d'âge y est supérieure de 2,4 années et la proportion de personnes ≥ 65 ans y est deux fois plus élevée (voir tableau 2). La distribution de tHcy est asymétrique dans les deux populations. L'intervalle de référence est estimé comme étant l'intervalle entre p2,5 et p97,5. Le 95 % central (cet intervalle) de tHcy de la CoLaus est compris entre de **5,6 à 19,1 µmol/L** et celui de la population de référence est **5,5 à 17,5 µmol/L**, âge et genre confondu.

Nous avons séparé la population de référence en fonction de l'âge et du genre. Nous obtenons un intervalle de référence chez les personnes < 65 ans entre **5,1 – 14,8 µmol/L** pour les femmes (N=2451) et entre **6,2 – 19,6** µmol/L pour les hommes (N=2169). De même manière, pour les personnes ≥ 65 ans, nous obtenons un intervalle de référence entre **6,3 – 17,6 µmol/L** chez les femmes (N=258) et **7,2 – 31,5 µmol/L** chez les hommes (N=191). Chez les personnes âgées ≥ 65 ans, il est intéressant de noter que les limites supérieures de l'intervalle de référence dépassent le seuil de l'homocystéinémie intermédiaire (>15 µmol/L) tant que chez les hommes que les femmes.

Le niveau de tHcy varie selon les catégories suivantes : l'âge, le genre, le BMI, la tension artérielle, le bilan lipidique, le niveau de l'activité physique ainsi que le niveau de la consommation d'alcool. Ainsi la concentration de tHcy est augmentée chez les hommes, les personnes ≥65 ans, BMI <18 et > 25 kg/m^2, les personnes avec une obésité abdominale, les personnes hypertendues, les personnes avec dyslipidémies (HDL diminué, LDL et triglycérides augmentés), les personnes sédentaires, les personnes consommant de manière importante et très importante de l'alcool et les femmes ménopausées. Nous allons voir que nos résultats corrèlent avec des données de littérature. (Définition des variables cf. légende du tableau 3)

Validation externe

L'étude épidémiologique Hordaland(33) établit un intervalle de référence (p2,5 – p97,5) pour la tranche d'âge de 40 et 42 ans entre **5,6 à 17,6 µmol/L** pour les femmes et **6,9 à 20,9 µmol/L** pour les hommes. En sélectionnant des sujets non fumeurs avec une consommation de café basse ou modérée (< 5 tasses de café par jour) et un apport en de folates élevés, l'intervalle de référence diminue à **5,0 à 12,6 µmol/L** pour les femmes et **6,2 à 14,5 µmol/L** pour les hommes. La limite supérieure de l'intervalle de référence est de **2 µmol/L inférieure** chez les femmes et de **1,1 µmol/L** chez les hommes l'étude présente. Les différences les résultats entre notre étude et celle de la Hordaland sont explicable par le non appariement

de l'âge entres les deux études, à la différence d'ethnie et d'alimentation ainsi que par la les méthodes de sélections de la population de référence et de la méthode mesures des laboratoires.

Selon une étude indienne(27), l'intervalle de référence (p2,5 – p97,5) de tHcy est entre **6,5 à 16,38** µmol/L tout âge confondu, entre **6,55 à 16,27** µmol/L pour les femmes et **6,42 à 16,5** µmol/L pour les hommes. La valeur supérieure de l'intervalle de référence est **de 0,95 µmol/L** inférieure chez les femmes et **3,3 µmol/L** supérieure chez les hommes dans notre étude (voir tableau 4, ci dessous). Une dépendance de tHcy à l'environnement et à la génétique pourrait expliquer ces différences. Le taux de tHcy est plus élevé chez les hommes dans les deux études citées ci-dessus.

TABLEAU 4 : RÉSUMÉ DES INTERVALLES DE RÉFÉRENCES

Nom de l'étude	Population	N =	Âge (ans)	Intervalle de référence en µmol/L (p2,5-p97,5)	Médiane µmol/L (p50)	Commentaires	Référence
Etude en cours	Total	**5069**	35-75	5,5 – 17,5	9,2		
	Femme	**2451**	35-64	5,1- 14,8	8,2		
		258	65-75	6,3 – 17,6	10,1		
	Homme	**2169**	35-64	6,2-19,6	10,0		
		191	65-75	7,2 – 31,5	12,3		
Hordaland Homocystein Study	Femme	**4905**	40-42	5,6 – 17,6	8,9	Population totale	(33)
	Homme	**4260**		6,9 – 20,9	10,5		
	Femme*	**500**	40-42	5,0 – 12,6	7,8	Non fumeurs, consommation de café basse ou modérée (< 5 tasse de café) et apport en folates élevé	
	Homme*	**210**	40-42	6,2 – 14,5	9,6		
Indian Population	Total	**1288**	20-81	6,5 – 16,38	11,5		(27)
	Femme	**652**		6,55 – 16,27	11,4		
	Homme	**636**		6,42 – 16,5	11,67		

Remarque : *femme ou homme non fumeur, avec une consommation de café basse ou modéré et un apport en folates élevé.

COMAPRAISON DES FACTEURS INFLUENÇANT LE NIVEAU DE THCY

L'élévation de tHcy en fonction **l'âge** est confirmée par l'étude de *W. Herrmann et al.* (34), justifiant ce constat par le statut vitaminique. Les personnes âgées sont plus souvent sujettes à des déficits vitaminiques se manifestant à des concentrations hautes de vitamine B12(34). L'augmentation de tHcy étant un marqueur sensible du déficit de vitamine B12, le niveau de tHcy pourrait être utilisé comme moyen de détection des déficits vitaminiques en stade cellulaire (avant l'apparition d'hypovitaminose

dans le sang), sub-clinique ou clinique, comme suggéré par la revue de *C.J. Boushey et al.* (35). Dans notre études, les personnes âgées ≥ 65 ans tout genre confondu, dépassent le seuil de l'hyperhomocystéinémie intermédiaires (>15 µmol/L), résultat pouvant être explicable par une une hypovitaminose en B12 ou folate comme décrit ci-dessus.

La différence entre les sexes obtenue dans nos résultats est constatée par la majorité des études(6,8,36), à l'exception l'étude pédiatrique grecque (*D. Papandreou et al.)* (37). Cette dernière ne relève en effet pas de différence de niveau de tHcy entre les filles et les garçons avant la puberté. Ceci laisse à penser que les hormones sexuelles peuvent jouer un rôle dans la régulation de l'homocystéinémie.

Les femmes en post-ménopause ont un niveau de tHcy plus élevé que les femmes en pré-ménopause. L'observation est confirmée par l'étude de « The Third National Health and Nutrition Examination (NHANES) »(38) et *S. Shah et al.* (39). Selon *S. Mahabir et al.* (40), chez les femmes en post-ménopause, l'augmentation du tissu adipeux, associée à la diminution de la vitamine B12 et des folates, est responsable de l'élévation du niveau de tHcy. Les auteurs mentionnent trois mécanismes pour expliquer ce constat :

1) augmentation cellulaire de prise de folates

2) augmentation de la rétention cellulaire folates

3) augmentation d'excrétion rénale de folates.

L'étude « The Third NHANES »(7) met également en évidence un niveau de tHcy plus bas chez les femmes en pré-ménopause (17 à 54 ans) comparé aux hommes du même âge, ainsi qu'une concentration tHcy plus basse chez les femmes enceintes comparé aux femmes n'étant pas enceintes et n'utilisant pas de moyen contraceptif.

Il n'y pas de corrélation statistiquement significative entre la prise des mesures de contraception et le niveau tHcy dans notre étude.

Notre étude, constate une réduction de tHcy par **l'activité physique,** constat similaire à une majorité d'autres études sur le taux de tHcy (36,41–44),. D'après *O. Nygård et al.* (8) et *M. Hellgren et al.* (41), la diminution du niveau de tHcy observées chez les personnes pratiquant une activité physique est explicable par une supplémentation importante en vitamine. De plus, l'activité physique par une augmentation du catabolisme de méthionine associée à une augmentation de la disponibilité de la vitamine B12, selon *M. Hellgren et al.* (41)*, D. König et al.*(43), *C.M.C. Nascimento et al.* (44) *P.D. Loprinzi*(45), permet de diminuer le niveau de tHcy (voir figure 1).

L'autre hypothèse, selon *O. Nygård et al.* (8), est la réduction des risques cardiovasculaires grâce à

l'activité physique se traduit par une réduction de tHcy. L'activité physique agit sur certains FRCV, notamment le LDL-cholestérol, les triglycérides, la tension artérielle et la glycémie, en les diminuant. Selon *W.L.Haskell*(46) et *P.D. Loprinzi*(45), l'augmentation des muscles squelettiques et de la lipoprotéine lipase des tissus adipeux expliquent la réduction des lipides par l'activité physique. La pression sanguine diminue à travers une adaptation du système rénine-angiotensine-aldostérone d'après *R.H. Fagard*(47). Aucune étude n'a pu investigué l'impact de la réduction de ces variables sur la réduction du niveau de la tHcy .

La dyslipidémie, **l'obésité et l'obésité abdominale** augmentent le niveau tHcy. *O. Nygård et al.* (8) trouvent une corrélation positive entre LDL-cholestérol et tHcy, corrélation confirmée par *C. Chrysohoou et al.* (20) ainsi *D. Papandreou et al.* (37), ainsi qu'une corrélation positive pour un BMI haut (BMI >25 km/m^2). Il est intéressant de noter qu'une corrélation inverse existe également pour un BMI bas (BMI < 18 kg/m^2). Cependant, *Lussier-Cacan et al.* (48) nient toute association entre le tHcy et le BMI, le glucose et la lipoprotéine lipase.

Une corrélation positive entre **la tension artérielle** et le niveau de tHcy est observée dans la présente étude. Ceci est confirmé par l'étude « The European Concerted Action Project » (17), qui a prouvé un lien fort entre l'hypertension et l'élévation tHcy, de même que *O. Nygård et al.* (8), *D. Papandreou et al.* (37) ainsi que *C. Chrysohoou et al.* (20).

La consommation d'alcool importante ou très importante augmente, dans notre étude, le niveau de tHcy, alors qu'une consommation modérée (définition cf. légende du tableau 3) n'élève que très légèrement le niveau de tHcy. L'étude populationnelle finlandaise (*Voutilainen et al.* (15)) ne trouve pas d'association entre ces deux mesures, tandis que l'étude comparative (*Cravo et al.* (9))réalisée sur 32 personnes avec un alcoolisme chronique et 31 sujets non buveurs a montré un niveau de tHcy doublé chez les buveurs. Cette dernière étude montre également la corrélation du niveau de tHcy au type d'alcool consommé : les consommateurs de bière avaient en effet un niveau de tHcy plus bas que les consommateur de spiritueux ou vins(9). *C. Chrysohoou et al.* (20) remarquent une association exponentielle entre une consommation importante d'alcool, c'est-à-dire une consommation dépassant 40g d'alcool par jour, et une concentration de tHcy supérieure 14 µmol/L. Les résultats des études suggèrent que, l'alcool interférant avec le métabolisme de la vitamine B6 et des folates, il réduit l'activité de la voie de la transsulfuration et de la reméthylation(9), élevant ainsi le niveau de tHcy.

Validation interne

BIAIS DE SÉLECTION DE LA COLAUS :

La population de la cohorte est certes proche de la population lausannoise, mais un biais de sélection est inévitable. En effet, la cohorte contient une population caucasienne entre 35 et 75 ans et ayant signé un consentement. D'après la statistique populationnelle du canton de Vaud (51) la population du canton de Vaud contenait en 2015 33,1 % de population résidente permanente étrangère. Selon les données de l'Office Fédérale de la statistique (52) la répartition des populations non caucasiennes dans la population totale suisse est la suivante : 4,1 % originaire d'Africaine, 3,4 % originaire d'Amérique, 7,0 % de l'Asie, Océanie ou apatrides. Même en l'absence de données spécifiques à Lausanne, nous pouvons aisément comprendre le biais de sélection que représente cette sélection de population caucasienne. De plus, 329'811 personnes (43,3%) du canton de Vaud avaient moins que 35 ans et 57'933 personnes (7,6 %) avait plus de 75 ans de la population vaudoise. En additionnant ces deux groupes exclus de notre étude, nous observons que plus de 50% de la population n'est pas considérée, du moins directement, dans les résultats présentés dans ce travail, ce qui rend l'étude difficilement transposable.

BIAIS DE SÉLECTION DE CETTE ÉTUDE :

Pour obtenir une population « saine », nous avons initialement dû exclure 4942 personnes de la CoLaus (N total=6733 personnes), avec un nombre final de 1791 personnes incluses. Afin d'obtenir une population plus large nous avons modifié nos critères initiaux et accepté les personnes avec un BMI <18 kg/m^2 et >25 kg/m^2, une obésité abdominale, les femmes ménopausées et celles prenant des contraceptifs.

Une large étude populationnelle intégrant la population pédiatrique et gériatrique avec un statut vitaminique précis pourrait permettre d'établir des valeurs de référence transposables à la population lausannoise.

CONCLUSION

Dans une population de référence constituée d'individus issus de la population CoLaus, âgés de 35 à 75 ans, sans insuffisance rénale, ni diabète, ni hypertension et sans antécédents de maladies cardiovasculaires, l'intervalle de référence (p2.5 – p97.5) de l'homocystéine totale plasmatique est **5,5 - 17,5 µmol/L**. Une différence statistiquement significative est observable entre les femmes (**5,1 – 14,8 µmol/L)** et les hommes (**6,2 – 19,6 µmol/L)** de moins de 65 ans.

Conformément aux données de la littérature, nous avons observé une association entre l'homocystéine totale plasmatique et les variables suivantes : l'âge, le genre, le BMI, la tension artérielle, la dyslipidémie, l'activité physique, la ménopause ainsi que la consommation d'alcool. Ces variables sont nécessaires pour une bonne interprétation de la concentration d'homocystéine plasmatique totale.

Une sérieuse limitation de notre travail est l'absence de données concernant le statut vitaminique des individus de référence (vitamine B12 et folates). Un déficit vitaminique pourrait raisonnablement expliquer l'élévation du percentile 97,5 dans la population de plus de 65 ans avec fonction rénale conservée, tant chez les femmes (**17,6 µmol/L)** que chez les hommes **(31,5 µmol/L).** La valeur de la limite supérieure de l'intervalle de référence des hommes de plus de 65 ans étant au-delà de la valeur seuil généralement admise comme hyperhomocystéinémie intermédiaire, il ne parait pas judicieux d'adopter une telle limite dans la pratique médicale.

Notre travail démontre le fait que l'utilisation de la valeur seuil du laboratoire (15 µmol/l) comme limite supérieure de l'intervalle de référence reste compatible avec l'intervalle de référence trouvée dans notre population de référence, tout genre confondu (**17.5 µmol/l**). Augmenter la limite de référence de 2.5 µmol/l n'aurait cependant pas de sens du point de vue santé publique, tous les facteurs de risque cardiovasculaires (surpoids, sédentarité, bilan lipidique, …) conduisant à une augmentation de la limite supérieure de l'intervalle de référence.

Notre travail illustre donc une fois de plus la difficulté de choisir entre valeurs seuils et intervalles de référence pour l'interprétation (classification) des données par le laboratoire.

Malgré une limite supérieure de l'intervalle de référence élevée, nous proposons de ne pas modifier la valeur seuil utilisée par le laboratoire, sachant qu'une des causes principales d'une augmentation de l'homocystéine plasmatique totale, en l'absence d'insuffisance rénale, est une hypovitaminose (B12 et folates). Une hyperhomocystéinémie s'amenuisant après substitution permet de mettre cette augmentation sur le compte d'un déficit fonctionnel de l'une ou l'autre de ces vitamines.

ABREVIATIONS

p : percentile

Hcy : homocystéine

SAH : S-adénosylhomocystéine

SAM : S-adénosylméthionine

MS : méthionine synthétase

5MTHF : 5-métyltétrahydrofolate

THF : tétrahydrofolate

MS : méthionine synthétase

CBS : cystathionine-ß-synthase

tHcy : homocystéine totale = homocystéinémie plasmatique totale

MTHFR : méthylène tétrahydrofolate réductase

HPLC : chromatographie en phase liquide à haute performance

FRCV : facteurs de risque cardiovasculaires

CoLaus : cohorte lausannoise

BMI : Body Masse Index (Indice de la masse corporelle)

NHANES : National Health and Nutrition Examination

REMERCIEMENTS

Je remercie les personnes qui m'ont aidée à effectuer ce travail de maitrise. Je remercie particulièrement mon tuteur, le Dr. Olivier Boulat pour le suivi et la collaboration tout au long du travail, de même que, mon expert, le Professeur Pedro Manuel Marques-Vidal pour sa disponibilité et son aide pour les statistiques.

BIBLIOGRAPHIE

1. Siest G, Henny J, Gräsbeck R, Wilding P, Petitclerc C, Queraltó JM, et al. The theory of reference values: An unfinished symphony. Clin Chem Lab Med. 2013;51(1):47–64.

2. Ueland PM, Refsum H, Stabler SP, Malinow MR, Andersson a, Allen RH. Total homocysteine in plasma or serum: methods and clinical applications. Clin Chem. 1993;39(9):1764–79.

3. Refsum H, Smith AD, Ueland PM, Nexo E, Clarke R, McPartlin J, et al. Facts and Recommendations about Total Homocysteine Determinations: An Expert Opinion. Clin Chem. 2004;50(1):3–32.

4. Shipchandler MT, Moore EG. Rapid, fully automated measurement of plasma homocysteine in with the Abbott IMx® analyzer. Clin Chem 1995;41(7):991-994.

5. Tur M-D, De Maistre E, Franck P, Rolland M-O, Fremont S, Lecompte T, et al. Diagnostic tardif d'homocystinurie par déficit majeur en cystathionine β synthase. La Rev Médecine Interne [Internet]. 2004;25(2):150–3.

6. Cooper GR, Pfeiffer CM. Homocysteine and Cardiovascular Disease Risk. 2002;(1):31–62.

7. Selhub J. Serum Total Homocysteine Concentrations in the Third National Health and Nutrition Examination Survey (1991–1994): Population Reference Ranges and Contribution of Vitamin Status to High Serum Concentrations. Ann Intern Med [Internet]. 1999;131(5):331.

8. Nygård O, Vollset SE, Refsum H, Stensvold I, Tverdal A, Nordrehaug JE, et al. Total Plasma Homocysteine and Cardiovascular Risk Profile. Jama [Internet]. 1995;274(19):1526.

9. Cravo ML, Gloria LM, Selhub J, Nadeau MR, Camilo ME, Resende MP, et al. Hyperhomocysteinemia in chronic alcoholism : correlation with folate , vitamin B-i 2 , and vitamin B-6 status13. Am J Clinial Nutr. 1996;63:220–4.

10. Vandermooren MJ, Wouters MGAJ, Blom HJ, Schellekens LA, Eskes TKAB, Rolland R. Hormone Replacement Therapy May Reduce High Serum Homocysteine in Postmenopausal Women. Eur J Clin Invest [Internet]. 1994;24(11):733–6.

11. Refsum H, Ueland PM. Clinical significance of pharmacological modulation of homocysteine metabolism. Trends Pharmacol Sci. 1990;11(10):411–6.

12. Bønaa KH, Njølstad I, Ueland PM, Schirmer H, Tverdal A, Steigen T, et al. Homocysteine lowering and cardiovascular events after acute myocardial infarction. N Engl J Med [Internet]. 2006;354(15):1578–88.

13. Arnesen E, Refsum H, Bonaa K. Serum total homocysteine and coronary heart disease. Int J Epidemiol. 1995;24(4):704–9.

14. Wu LL, Wu J, Hunt SC, James BC, Vincent GM, Williams RR, et al. Plasma homocyst(e)ine as a risk factor for early familial coronary artery disease. Clin Chem [Internet]. 1994;40(4):552–61.

15. Voutilainen S, Virtanen JK, Rissanen TH, Alfthan G, Laukkanen J, Nyyssönen K, et al. Serum folate and homocysteine and the incidence of acute coronary events : the Kuopio Ischaemic Heart Disease Risk Factor Study 1 – 3. 2004;(1):1088–96.

16. Graham IM, Daly LE, Refsum HM, Robinson K, Brattstr LE, Ueland PM, et al. Plasma Homocysteine for Vascular Disease. JAMA. 1997;277(22):1775–81.

17. Glueck CJ, Shaw P, Lang JE, Tracy T, Sieve-Smith L, Wang Y. Evidence that homocysteine is an independent risk factor for atherosclerosis in hyperlipidemic patients. Am J Cardiol. 1995;75(2):132–6.

18. Brattström L, Lindgren a. Hyperhomocysteinemia as a risk factor for stroke. Neurol Res. 1992;14(May):81–4.

19. Prandoni P, Bilora F, Marchiori A, Bernardi E, Petrobelli F, Lensing AW, et al. An association between atherosclerosis and venous thrombosis. N Engl J Med [Internet]. 2003;348(15):1435–41.

20. Chrysohoou C, Panagiotakos DB, Pitsavos C, Zeimbekis A, Zampelas A. The associations between smoking , physical activity , dietary habits and plasma homocysteine levels in cardiovascular disease-free people : the " ATTICA " study. 2004;117–23.

21. Nygård O, Nordrehaug JE, Refsum H, Farstad M, Ueland PM, Vollset SE. Plasma homocysteine levels and mortality in patients with coronary artery disease. N Engl J Med 1997;337:230–6.

22. Wijekoon EP, Brosnan ME, Brosnan JT. Homocysteine metabolism. Biochemistry of Atherosclerosis. 2006. p. 329–57.

23. Trialists HL. Dose-dependent effects of folic acid on blood concentrations of homocysteine : a meta-analysis of the randomized trials 1 – 3. 2005;(Cvd):806–12.

24. Ray JG. Folic acid food fortification in Canada. Nutr Rev. 2004;62(6 Pt 2):S35–9.

25. Eichholzer M, Tönz O, Zimmermann R. Folic acid: a public-health challenge. Lancet. 2006;367(9519):1352–61.

26. Risch M, Meier DW, Sakem B, Medina Escobar P, Risch C, Nydegger U, et al. Vitamin B12 and folate levels in healthy Swiss senior citizens: a prospective study evaluating reference intervals and decision limits. BMC Geriatr [Internet]. 2015;15:82.

27. Lahiri KD, Datta H, Das HN. Reference interval determination of total plasma homocysteine in an Indian population. Indian J Clin Biochem. 2014;29(1):74–8.

28. Lebreton A, Bonneau C, Bouvier D, Albert A, Ughetto S, Mulliez A, et al. Dosage de l'homocystéine plasmatique, comparaison de deux méthodes : CLHP versus immunonéphélémétrie. Immuno-Analyse Biol Spec. 2009;24(3):155–9.

29. Toxicology I, Branch N. Total Homocysteine (tHcy) Plasma Abbott Homocysteine (HCY) Assay.

30. Firmann M, Mayor V, Vidal PM, Bochud M, Pécoud A, Hayoz D, et al. The CoLaus study: a population-based study to investigate the epidemiology and genetic determinants of cardiovascular risk factors and metabolic syndrome. BMC Cardiovasc Disord. 2008;8:6.

31. Lean ME, Han TS, Morrison CE. Waist circumference as a measure for indicating need for weight management. BMJ. 1995;311(6998):158–61.

32. Waeber G, Vollenweider P, Rodondi N. Association entre consommation d ' alcool et facteurs de risque cardio - vasculaire : une étude sur la population lausannoise. 2010;7–10.

33. Nygård O, Refsum H, Ueland PM, Vollset SE. Major lifestyle determinants of plasma total homocysteine distribution: The Hordaland Homocysteine Study. Am J Clin Nutr. 1998;67(2):263–70.

34. Herrmann W, Schorr H, Bodis M, Knapp JP, Müller A, Stein G, et al. Role of homocysteine, cystathionine and methylmalonic acid measurement for diagnosis of vitamin deficiency in high-aged subjects. Eur J Clin Invest. 2000;30(12):1083–9.

35. Allen RH, Lindenbaum J, Stabler SP. High prevalence of cobalamin deficiency in the elderly. Transactions of the American Clinical and Climatological Association. 1996;107:37.

36. Koutoubi S, Huffman FG. Serum total homocysteine levels, folate, and B-vitamins intake and coronary heart disease risk factors among tri-ethnic college students. Ethnicity & disease. 2004 Dec 1;14(1):64-72.

37. Papandreou D, Mavromichalis I, Makedou a, Rousso I, Arvanitidou M. Reference range of total serum homocysteine level and dietary indexes in healthy Greek schoolchildren aged 6-15 years. Br J Nutr. 2006;96(4):719–24.

38. Hak AE, Polderman KH, Westendorp ICD, Jakobs C, Hofman A, Witteman JCM, et al. Increased plasma homocysteine after menopause. 2000;149:163–8.

39. Shah S, Bell RJ, Davis SR. Homocysteine, estrogen and cognitive decline. Climacteric. 2006;9(September):77–87.

40. Mahabir S, Ettinger S, Johnson L, Baer DJ, Clevidence BA, Hartman TJ, et al. study. 2011;62(5):644–50.

41. Ra L, Hellgren M, Melander A. Inverse association between plasma homocysteine , sulphonylurea exposure and physical activity : a community-based sample of type 2 diabetes patients in the Skaraborg hypertension and diabetes project. 2005;421–9.

42. Dankner R, Chetrit A, Lubin F, Sela B, Kurtis E. Life-style habits and homocysteine levels in an elderly population. 2004;16(6):437–42.

43. König D, Bissé E, Deibert P, Müller H, Wieland H, Berg A. Influence of Training Volume and Acute Physical Exercise on the Homocysteine Levels in Endurance-Trained Men : Interactions with Plasma Folate and Vitamin B 12. 2003;114–8.

44. Manuela C, Nascimento C, Stella F, Garlipp CR, Santos RF, Gobbi S, et al. Serum homocysteine and physical exercise in patients with Parkinson ' s disease. 2011;105–12.

45. Loprinzi PD, Cardinal BJ. Interrelationships among physical activity, depression, homocysteine, and metabolic syndrome with special considerations by sex. Prev Med (Baltim) [Internet]. 2012;54(6):388–92.

46. Haskell WL. The influence of exercise on the concentrations of triglyceride and cholesterol in human plasma. Exercise and sport sciences reviews. 1984 Jan 1;12(1):205-44.

47. Fagard RH. Effects of exercise, diet and their combination on blood pressure. Journal of human hypertension. 2005 Dec 1;19:S20-4.

48. Xhignesse MJ, Piolot A, Genest J. Plasma relation total homocysteine in healthy with biological traits13 subjects : 1996;

Références liens internet :

49.https://www.uptodate.com/contents/image?imageKey=PC%2F72986&topicKey=PC%2F6837&source=outline_link&search=homocysteine&selectedTitle=1~145

50. CoLaus: http://www.colaus.ch/http://www.colaus.ch/)

51.http://www.scris.vd.ch/Data_Dir/ElementsDir/7831/3/F/Population_communes_origine_2015.pdf

52. https://www.bfs.admin.ch/bfs/fr/home/statistiques/population/migration-integration/nationalite-etrangere.assetdetail.308195.html