

Université de Montréal

**Association entre la thérapie antirétrovirale et les biomarqueurs
de la fonction placentaire pendant la grossesse**

par Améyo Xoxoabu Djeha

Département de médecine sociale et préventive
École de santé publique

Mémoire présenté
en vue de l'obtention du grade de Maîtrise ès science (M.Sc.)
en Santé publique
Option Générale

Avril 2018

© Djeha, 2018

Résumé

Contexte : L'infection à VIH demeure un problème majeur de santé publique avec 2.1 millions de personnes nouvellement infectées en 2015, dont 150 000 enfants infectés pour la plupart en périnatal. En vue d'éradiquer les nouvelles infections, l'OMS recommande depuis 2012 que toute personne infectée par le VIH soit sous thérapie antirétrovirale (TAR) (concept de « traitement à titre de prévention »). Il en résulte que la majorité des femmes sont actuellement déjà sous TAR au moment de la conception et en début de grossesse alors qu'auparavant, celle-ci n'était souvent initiée qu'au deuxième trimestre de grossesse. Or, quelques études ont montré que la TAR a été associée à des complications périnatales comme l'accouchement prématuré ou le faible poids des nouveau-nés à la naissance, et ce particulièrement pour les ARV à base d'inhibiteur de protéase (PI). Ces complications seraient liées à un dysfonctionnement du placenta, notamment à des anomalies de l'invasion trophoblastique.

Objectif : Le but de ce mémoire est d'analyser l'association entre l'exposition à la TAR et le fonctionnement du placenta chez les femmes enceintes.

Méthodes : L'étude a porté sur les données provenant de femmes enceintes vivant avec le VIH recrutées entre janvier 2003 et décembre 2016 dans les cohortes du CHU Sainte-Justine (Montréal) et du BC Women's Hospital (Vancouver). La fonction placentaire a été évaluée par le dosage de biomarqueurs utilisés dans le cadre du dépistage des aneuploïdies (la gonadotrophine chorionique humaine libre - β -hCG libre, la protéine plasmatique placentaire de type A - PAPP-A, l'alpha-foetoprotéine - AFP, de l'œstriol non conjugué - uE3, la gonadotrophine chorionique humaine - hCG et l'inhibine-A) et par le dosage de facteurs angiogéniques utilisés dans le dépistage de prééclampsie (PIGF et sFlt-1) au premier et au deuxième trimestre de la grossesse. Le dosage de PIGF et de sFlt1 a été effectué comme une étude pilote exploratoire sur un sous-groupe des échantillons stockés dans la banque biologique du CMIS. Les niveaux des différents biomarqueurs (après une transformation logarithmique) ont été comparés en fonction 1) des types de TAR, 2) de la durée d'exposition à la TAR et 3) du moment d'initiation de la TAR à l'aide de régressions linéaires multivariées

et d'équations d'estimation généralisée (linéaires) avec un ajustement pour les variables de confusion.

Résultats : Après ajustement pour les variables de contrôle suivantes : race, âge maternel, âge gestationnel, indice de masse corporelle, parité, tabagisme et sexe du fœtus, les femmes sous TAR, à base d'IP ou non, ont eu une augmentation significative du niveau d'AFP (respectivement $\beta = 0.139$; IC 95% = [0.055-0.223] et $\beta = 0.141$; IC 95% = [0.043-0.239]) en comparaison aux femmes qui ne reçoivent aucun traitement. Cependant, on ne retrouve aucune autre association significative entre le type de TAR - qu'elle soit à base d'IP ou non - et le niveau de PAPP-A, de β -hCG libre, d'œstriol, d'hCG totale, d'inhibine A, de PlGF et de sFlt-1. Aucune association significative n'a été montrée non plus entre la concentration sérique des biomarqueurs et la durée d'exposition à la TAR ou le moment d'initiation de la TAR.

Conclusion : Cette étude suggère que la concentration sérique des biomarqueurs du dépistage de la prééclampsie et des biomarqueurs du dépistage des aneuploïdies ne semble pas être significativement altérée par la TAR sauf l'AFP qui augmente en cas d'exposition à une TAR quel que soit le type (avec IP ou non). Ces données paraissent dans l'ensemble rassurantes pour ce qui est des conséquences de l'utilisation précoce de la TAR pendant la grossesse.

Mots-clés : VIH, grossesse, thérapie antirétrovirale, fonction placentaire, PAPP-A, β -hCG libre, AFP, oestriol non conjugué, hCG total, inhibine-A, PlGF, sFlt-1

Abstract

Background: HIV infection remains a major public health problem with 2.1 million people newly infected in 2015, including 150,000 children infected mostly in perinatal. With a view to eradicating new infections, since 2012, WHO has recommended that anyone infected with HIV should be on antiretroviral therapy (ART) (concept of "treatment as prevention"). As a result, the majority of HIV-infected women are already on ART at the time of conception and earlier in pregnancy, whereas previously it was mainly initiated in the second trimester of pregnancy. However, some studies have shown an association between the use of ART during pregnancy and perinatal complications (such as premature delivery, low birth weight infants), particularly with protease inhibitor (PI)-based therapies, which could be explained through a role in placental dysfunction.

Objective: The aim of this thesis is to measure the association between exposure to ART and placental function in pregnant women.

Methods: Clinical and biological data from pregnant women living with HIV recruited between January 2003 and December 2016 in the cohorts of CHU Sainte-Justine (Montreal) and BC Women's Hospital (Vancouver) were used in this study. Placental function was evaluated by the assay of biomarkers used for aneuploidy screening (free human chorionic gonadotropin-free β -hCG, placental plasma protein type A-PAPP-A, alpha-fetoprotein - AFP, unconjugated estriol - uE3, human chorionic gonadotropin - hCG and inhibin-A) and by the assay of angiogenic factors used in preeclampsia screening (PlGF and sFlt-1) in the first and second trimester of pregnancy. The PlGF and sFlt1 assay was performed as an exploratory pilot study on a subset of serum samples stored in the biobank of CHU Sainte-Justine. Each biomarker level (after logarithmic transformation) was compared according to 1) the class of ART and 2) the duration of ART exposure, 3) the time of initiation of ART, using multivariate linear regressions and linear generalized estimating equations adjusted for confounding bias.

Results: After adjusting for control variables including race, maternal age, gestational age, body mass index, parity, smoking and sex of the fetus, women receiving ART (whether PI or another class) had significantly increased AFP levels ($\beta = 0.139$, 95% CI = [0.055-0.223])

and $\beta = 0.141$, 95% CI = [0.043-0.239] respectively) compared to women who received no treatment. However, there were no significant association between ART type, whether IP-based or not, and the level of PAPP-A, free β -hCG, estriol, total hCG, inhibin A, PlGF and sFlt-1. No significant association was shown between serum biomarker concentration and duration of ART exposure or the time of ART initiation.

Conclusion: That study suggests that serum concentration of angiogenic factor and aneuploidy screening biomarkers does not appear to be significantly affected by ART, except for AFP, which increases with exposure to ART regardless of the type (whether PI or other). These observations seem reassuring when considering the use of ART during early pregnancy.

Keywords : HIV, pregnancy, antiretroviral therapy, placental function, PAPP-A, free β -hCG, AFP, unconjugated estriol, total hCG, inhibin-A, PlGF, sFlt-1

Table des matières

| | |
|--|------|
| Résumé..... | i |
| Abstract..... | iii |
| Table des matières..... | v |
| Liste des tableaux..... | viii |
| Liste des figures | ix |
| Liste des sigles et des abréviations | x |
| Remerciements..... | xii |
| 1 Introduction..... | 1 |
| 2 Revue de la littérature | 3 |
| 2.1 VIH et grossesse | 3 |
| 2.1.1 Situation au Canada | 3 |
| 2.1.2 Transmission périnatale | 3 |
| 2.1.3 TAR durant la grossesse | 4 |
| 2.1.4 TAR et issues périnatales..... | 5 |
| 2.2 Placenta..... | 5 |
| 2.2.1 Fonction placentaire..... | 5 |
| 2.2.2 Évaluation biochimique de la fonction placentaire..... | 6 |
| 2.2.3 Facteurs influençant les biomarqueurs de la fonction placentaire | 11 |
| 2.3 VIH et biomarqueurs de la fonction placentaire | 14 |
| 2.3.1 Effet du VIH sur les biomarqueurs au premier trimestre..... | 15 |
| 2.3.2 Effet du VIH sur les biomarqueurs au deuxième trimestre..... | 16 |
| 2.3.3 Effet du VIH sur les facteurs angiogéniques | 18 |
| 2.4 TAR et biomarqueurs de la fonction placentaire | 18 |
| 2.4.1 Effet de la TAR sur les biomarqueurs du dépistage des aneuploïdies | 18 |
| 2.4.2 Effet de la TAR sur les facteurs angiogéniques..... | 20 |
| 2.5 Conclusion de l'état des connaissances | 20 |
| 2.6 Justification de notre projet d'étude..... | 21 |
| 3 Hypothèse et objectifs de recherche | 22 |

| | | |
|-------|--|----|
| 3.1 | Hypothèse de recherche | 22 |
| 3.2 | Objectifs | 22 |
| 4 | Méthodes..... | 24 |
| 4.1 | Devis de recherche et brève description des banques de données | 24 |
| 4.2 | Description de l'échantillon..... | 26 |
| 4.3 | La variable dépendante : la fonction placentaire | 28 |
| 4.4 | Les variables indépendantes | 28 |
| 4.4.1 | Thérapie antirétrovirale (TAR)..... | 28 |
| 4.4.2 | Durée d'exposition à la TAR durant la grossesse..... | 28 |
| 4.4.3 | Moment d'initiation de la TAR..... | 28 |
| 4.5 | Variables de contrôle | 29 |
| 4.6 | Instruments de mesure | 29 |
| 4.7 | Protocole de collecte de données | 30 |
| 4.8 | Analyse statistique | 30 |
| 4.8.1 | Objectif 1 | 31 |
| 4.8.2 | Objectif 2 | 31 |
| 4.9 | Estimation de la taille de l'effet..... | 32 |
| 4.9.1 | Objectif 1 | 32 |
| 4.9.2 | Objectif 2 | 32 |
| 4.10 | Considérations éthiques | 32 |
| 5 | Résultats..... | 33 |
| 5.1 | Articles 1 | 33 |
| 5.2 | Résultats complémentaires à l'article 1 | 53 |
| 5.2.1 | Pourcentage de faux positif au test de dépistage des aneuploïdies..... | 53 |
| 5.3 | Article 2 | 54 |
| 5.4 | Résultats complémentaires à l'article 2 | 71 |
| 5.4.1 | Statut immunitaire : valeur des CD4..... | 71 |
| 6 | Discussion générale | 72 |
| 6.1 | Biomarqueurs du premier trimestre de la grossesse : PAPP-A et β -hCG..... | 72 |
| 6.2 | Biomarqueurs du deuxième trimestre de la grossesse : AFP, hCG total, uE3, inhibine | |
| A | 73 | |

| | | |
|-------|---|-----|
| 6.3 | Facteurs angiogéniques PlGF et sFlt-1 | 75 |
| 6.4 | Avantage, limites et sources de biais | 76 |
| 6.4.1 | Validité externe, biais de sélection et biais d'information..... | 77 |
| 6.4.2 | Biais de confusion..... | 79 |
| 6.4.3 | Problématique de la multiplicité des tests et analyse en sous-groupe | 79 |
| 6.5 | Implication pour la santé publique..... | 79 |
| 7 | Conclusion | 81 |
| | Bibliographie..... | 82 |
| | Annexe 1 : Études évaluant l'association entre la TAR et les issues périnatales défavorables... | i |
| | Annexe 2 : Issues périnatales défavorables associées aux biomarqueurs..... | iii |
| | Annexe 3 : Liste des variables collectées | iv |
| | Annexe 4 : Estimation de la taille de l'effet | vi |
| | Annexe 5 : Comparaison des participantes de la cohorte au recrutement | ix |

Liste des tableaux

| | |
|--|----|
| Tableau I. Études évaluant l'effet du VIH sur les biomarqueurs du premier trimestre | 15 |
| Tableau II. Études évaluant l'effet du VIH sur les biomarqueurs du deuxième trimestre..... | 17 |
| Tableau III. Études évaluant l'effet de la thérapie antirétrovirale sur les biomarqueurs | 19 |

Liste des figures

| | |
|---|----|
| Figure 1. Diagramme de sélection des participantes de l'étude | 27 |
|---|----|

Liste des sigles et des abréviations

ADN : Acide désoxyribonucléique
AFP : Alpha-foetoprotéine
CHU : Centre hospitalier universitaire
CMIS : Centre maternel et infantile sur le sida
CPHSP : Canadian Perinatal HIV Surveillance Program
hCG : gonadotrophine chorionique humaine
HTA : hypertension artérielle
IGF : insulin-like growth factor
IMC : Indice de masse corporelle
INI : Inhibiteur de l'intégrase
INNTI : Inhibiteur non nucléosidique de la transcriptase inverse
INTI : Inhibiteur nucléosidique de la transcriptase inverse
IP : Inhibiteur de protéase
MdM : Multiple de la médiane
OMS : Organisation mondiale de la santé
PAPP-A : Protéine plasmatique placentaire de type A
PIGF : Facteur de croissance placentaire
RCIU : Retard de croissance intra-utérin
sFlt-1 : Soluble fms-like tyrosine kinase-1
TAR : Thérapie antirétrovirale
uE3 : œstriol non conjugué
VEGF : Facteur de croissance de l'endothélium vasculaire
VIH : Virus de l'immunodéficience humaine
 β -hCG : sous unité β de la gonadotrophine chorionique humaine

À l'Éternel Dieu-tout puissant

Remerciements

Ce travail a été effectué avec la collaboration et le soutien de nombreuses personnes que je tiens à remercier.

Je souhaite exprimer ma grande reconnaissance à mes deux directrices de mémoire.

À ma directrice Dre Isabelle Boucoiran, qui m'a encadrée et aidée durant toute la réalisation de ce travail. Je te remercie pour ta grande disponibilité, ton aide précieuse et surtout ta patience et compréhension durant les derniers mois. Merci d'avoir cru en moi.

À ma codirectrice Dre Helen Trottier, je te remercie pour ton aide précieuse, ta disponibilité et pour toute l'expertise apportée dans la réalisation de ce projet. Merci de m'avoir accueillie dans ton équipe.

Je tiens à remercier Mr Benoit Masse et Dre Eva Suarhana qui ont accepté d'être membres du jury et d'évaluer ce mémoire. Je vous témoigne ma gratitude et mon profond respect.

Je remercie toute l'équipe du CMIS particulièrement Hasna, Gloria, Sylvie pour l'accueil chaleureux et leur précieuse aide.

J'adresse également mes remerciements aux membres de l'équipe du laboratoire de Dr Souydens particulièrement Martine et Doris, le personnel de la clinique Oak Tree (Vancouver) dont le travail quotidien a permis de rendre possible la réalisation de ce travail de recherche.

Merci au Réseau SIDA/MI FRQS qui a financé ce projet.

Pour finir, un merci tout spécial à ma famille et mes amis,

À Papa et Maman, à mes frères et sœurs. Avec toute mon affection. Que Dieu vous bénisse et nous donne de vivre encore et longtemps de très bons moments ensemble.

À mon époux Enam. Merci pour ton soutien, tes conseils, et tes prières. Amoureusement et éternellement.

À mes enfants Amen et Etiam (mon bébé-maîtrise), je vous aime fort.

Merci à tous

1 Introduction

À la fin de 2015, 36.7 millions de personnes vivaient avec le VIH dans le monde et environ 2.1 millions de personnes ont été nouvellement infectées dont 150 000 enfants qui ont, pour la plupart été infectés en périnatal (1). En effet, dans le monde, les femmes en âge de procréer sont de plus en plus représentées parmi les nouvelles infections; les femmes âgées de 15 à 24 ans constituent 20 % des nouvelles infections chez les adultes, alors qu'elles ne représentent que 11 % de la population adulte vivant avec le VIH (1). Quant au Canada, qui figure parmi les pays ayant une faible prévalence générale du VIH, l'épidémie est plutôt concentrée au sein de populations ciblées comme les hommes ayant des relations sexuelles avec les hommes, les personnes provenant de pays où le VIH est endémique ou les Autochtones (2). À la fin de 2014, environ 75 500 Canadiens vivaient avec le VIH. Le nombre de nouvelles infections au VIH au Canada a été estimé à 2 570 (étendue de l'incertitude : 1 940 à 3 200) en 2014 (3).

Les femmes vivant avec le VIH en âge de procréer ont le désir d'avoir des enfants en dépit de leur infection (4). La thérapie antirétrovirale (TAR) réduit le risque de transmission du VIH de la mère à l'enfant à 1-2 % alors qu'il est de 15 à 40% en absence de toute intervention (5). Elle améliore également leur état de santé, leur qualité de vie et prolonge leur espérance de vie, conduisant de plus en plus les femmes vivant avec le VIH à concevoir (4, 6).

L'infection maternelle à VIH a été associée à un risque accru de complications périnatales, comme la mortinaissance, le retard de croissance intra-utérin (RCIU), et l'accouchement prématuré (7, 8). Le risque de complications a diminué depuis l'avènement des premières TAR. Cependant, des études ont montré chez les femmes vivant avec le VIH, un rebond inattendu des issues de grossesse défavorables depuis les années 2000, qui pourrait être lié au type de TAR pendant la grossesse, les régimes à base d'inhibiteurs de protéases (IP) étant les plus incriminés (9-13). D'où la préoccupation concernant l'impact de la TAR malgré son efficacité avérée dans la réduction de la transmission périnatale.

Par ailleurs, suite aux recommandations actuelles, la TAR est démarrée tôt durant la grossesse (14) et un important effort est fait afin de mettre tous les adultes vivant avec le VIH sous traitement (15). En effet, pour atteindre son objectif d'éradiquer toute nouvelle infection d'ici 2030, l'OMS a institué une politique de prévention basée sur la TAR qui recommande de démarrer la TAR pour toutes les personnes porteuses du virus peu importe le niveau de CD4, ce qui contribuera à une baisse significative de sa transmission (16). Il en a résulté que la plupart des femmes vivant avec le VIH sont déjà sous TAR au moment de la conception et en début de grossesse alors qu'auparavant la TAR n'était initiée souvent qu'au deuxième trimestre de grossesse (17). De plus, les TAR de première ligne pendant la grossesse ont été élargies pour inclure de nouvelles classes d'antiviraux, par exemple les inhibiteurs de l'intégrase (18, 19). Cette évolution de la situation nécessite la conduite de nouvelles études sur l'impact du type de TAR et de la durée d'exposition à la TAR en grossesse.

Bien que des études aient montré une association entre certains types de TAR et les issues périnatales défavorables, les mécanismes physiopathologiques sous-jacents sont inconnus, mais un dysfonctionnement placentaire est suspecté. En effet, dans plusieurs études, la prééclampsie a été associée à une exposition à la TAR pendant la grossesse (20-22). Les mécanismes proposés relèvent largement de certains types de lésions placentaires liées au VIH, des effets de la TAR sur le fonctionnement des trophoblastes et de l'immunoactivation (23-26). Tous ces mécanismes pourraient conduire à une insuffisance placentaire et à un risque accru d'issues périnatales défavorables.

2 Revue de la littérature

2.1 VIH et grossesse

2.1.1 Situation au Canada

Au cours de l'avant-dernière décennie, le taux d'infection par le VIH chez les femmes au Canada n'a cessé de croître, augmentant de 23 % depuis 2002 (27). Au cours de la dernière décennie, le nombre de nouvelles infections par le VIH chez les femmes est demeuré stable, avec environ 22-24% de tous les cas signalés (28). La plupart des femmes ont été contaminées par voie hétérosexuelle (63,5 %); un peu plus du tiers des femmes étaient afro-américaines (36,5 %), suivies par les femmes autochtones (36,2 %) et caucasiennes (21,0 %). L'amélioration de l'espérance de vie et de la qualité de vie des femmes vivant avec le VIH associée à une transmission périnatale réduite a conduit de nombreuses femmes à envisager de devenir enceintes (29). Ces facteurs ont probablement conduit à l'augmentation du nombre de grossesses chez les femmes vivant avec le VIH au cours de la dernière décennie. Au Canada, les données des grossesses chez les femmes vivant avec le VIH sont collectées par le Programme Canadien de Surveillance Périnatale du VIH (Canadian Perinatal HIV Surveillance Program - CPHSP), financé par l'Agence de la santé publique du Canada. Son rapport annuel de 2016 indique que 263 enfants sont nés de femmes vivant avec le VIH au Canada cette année-là. La quasi-totalité (96,2 %) avait reçu une TAR pendant la grossesse. Des 263 nourrissons exposés à une transmission périnatale nés en 2016, seul un cas de transmission du VIH a été confirmé et ce dans un contexte d'absence de TAR périnatale (28).

2.1.2 Transmission périnatale

En l'absence de TAR, la probabilité de transmission périnatale du VIH est de l'ordre de 15 à 40%. La transmission a lieu principalement en fin de grossesse, autour de

l'accouchement et au cours de l'allaitement (30). Dans les études africaines, le risque de transmission est doublé chez les enfants allaités au sein (31). L'utilisation de la TAR, la possibilité d'une césarienne (comme indiqué par les directives actuelles sur la grossesse et le VIH) et l'absence d'allaitement maternel ont réduit les risques de transmission périnatale du VIH à moins de 1% (32).

2.1.3 TAR durant la grossesse

D'après les recommandations de la société des obstétriciens et gynécologues du Canada datant de 2014, l'administration d'une TAR est indiquée pour toutes les femmes enceintes vivant avec le VIH (peu importe leur charge virale ou leur niveau de CD4), pour leur propre santé, pour la prévention de la transmission du VIH à un partenaire et pour la prévention de la transmission périnatale (14).

Les antirétroviraux sont des médicaments actifs sur les rétrovirus, utilisés dans le traitement de l'infection à VIH. Ils ont été conçus pour bloquer les différentes étapes de la multiplication du virus dans les cellules infectées ou pour réduire sa capacité à infecter de nouveaux lymphocytes ou cellules CD4+ (33). Il existe actuellement six classes de médicaments anti-VIH, avec des mécanismes d'action différents (33) :

- Les inhibiteurs nucléosidiques (INTI), les inhibiteurs nucléotidiques (IntTI), ainsi que les inhibiteurs non nucléosidiques de la transcriptase inverse (INNTI) bloquent l'activité de la transcriptase inverse virale.
- Les inhibiteurs d'intégrase (IIN) empêchent l'intégration de l'acide désoxyribonucléique (ADN) proviral dans l'ADN cellulaire en bloquant l'intégrase virale.
- Les inhibiteurs de protéase (IP) bloquent l'activité de la protéase virale.
- Les inhibiteurs de fusion (IF) et les antagonistes du récepteur CCR5 (anti-CCR5) s'opposent à l'infestation de nouvelles cellules saines.

Plusieurs schémas thérapeutiques composés d'au moins 3 molécules d'antirétroviraux sont utilisés. Le régime privilégié chez les femmes enceintes est une trithérapie composée de 2 INTI et 1 IP boosté (14). Les dernières recommandations américaines proposent de plus l'association de 2 INTI à un IIN dans les traitements de première intention (34).

2.1.4 TAR et issues périnatales

De nombreuses études de cohorte ont observé un risque accru d'issue défavorable de la grossesse, comme l'accouchement prématuré (accouchement avant la 37^e semaine de gestation), le faible poids à la naissance (<2500 g) et le RCIU (poids de naissance <10^e centile attendu pour l'âge gestationnel) associé à l'utilisation de la TAR. L'exposition à la TAR durant la grossesse, plus particulièrement aux IP, qu'elle soit initiée avant ou pendant la grossesse, était associée à ces issues (9-13, 35). Cependant, ce constat demeure sans explication physiopathologique. Des données suggérant une association potentielle entre la survenue des troubles hypertensifs de la grossesse plus particulièrement la prééclampsie et l'infection à VIH et/ou la TAR ont également été rapportées (36-38). Un résumé des données publiées sur la TAR et les issues périnatales indésirables est présenté dans le tableau 1 en annexe (39).

2.2 Placenta

Le placenta est un organe situé à l'interface entre la mère et le fœtus, permettant les échanges gazeux et nutritifs pour assurer la croissance et le développement du fœtus. Il est un élément indispensable pour le déroulement normal de la grossesse (40).

2.2.1 Fonction placentaire

Les principales fonctions du placenta peuvent être classées en différentes catégories : transport et métabolisme, protection et fonction endocrinienne. Le placenta agit pour fournir de l'oxygène, de l'eau, des glucides, des acides aminés, des lipides, des vitamines, des

minéraux et d'autres nutriments au fœtus, tout en éliminant le dioxyde de carbone et les autres déchets. Il métabolise un certain nombre de substances et peut libérer des produits métaboliques dans les circulations maternelles et / ou fœtales. Il peut aider à protéger le fœtus contre certaines molécules xénobiotiques, infections et maladies maternelles. Il libère également des hormones stéroïdiennes et peptidiques dans les circulations maternelles et fœtales pouvant affecter la grossesse, le métabolisme, la croissance fœtale, l'accouchement et d'autres fonctions (41). De cette façon, le placenta assume progressivement et temporairement les fonctions éventuelles des poumons fœtaux (échange gazeux), du tractus gastro-intestinal (assimilation des nutriments) et des reins (régulation du volume liquidien et élimination des déchets) pendant le développement de ces organes (42).

Un dysfonctionnement placentaire peut être responsable de pathologies maternelles ou fœtales sévères comme la prééclampsie, le RCIU, le décollement placentaire et la mort fœtale in utero (40, 43). Ces pathologies peuvent conduire à un accouchement prématuré (44).

La fonction placentaire peut être évaluée par différentes méthodes : l'imagerie médicale (échographie/Doppler, imagerie par résonance magnétique), les tests biochimiques durant la grossesse, les examens histologiques macroscopique et microscopique après l'accouchement.

2.2.2 Évaluation biochimique de la fonction placentaire

De nombreux marqueurs biochimiques ont été utilisés pour juger de la fonction placentaire pendant la période prénatale (45, 46). Ils l'ont été essentiellement pour leur valeur prédictive des troubles hypertensifs de la grossesse, des aneuploïdies et des anomalies du tube neural (47, 48).

2.2.2.1 Les marqueurs de dépistage des aneuploïdies

Le dépistage de l'aneuploïdie effectué au cours du premier et du deuxième trimestre est devenu une pratique de routine au cours du suivi prénatal (49). Au Québec, un programme de dépistage provincial est offert gratuitement à toutes les femmes enceintes depuis 2003, comprenant le dosage des marqueurs suivants : la gonadotrophine chorionique humaine libre (β -hCG libre) et la protéine plasmatique placentaire de type A (PAPP-A) au cours du premier trimestre (10-14 semaines) et de l'alpha-foetoprotéine (AFP), de l'œstriol non conjugué (uE3), de la gonadotrophine chorionique humaine (hCG) et l'inhibine-A au cours du deuxième trimestre (15-20 semaines) (50). Les niveaux sériques de ces marqueurs sont associés à des issues obstétricales défavorables en l'absence d'aneuploïdie ou de défaut du tube neural comme résumé dans le tableau 2 en annexe (51, 52).

➤ Au premier trimestre de grossesse

- **Gonadotrophine chorionique humaine β -hCG libre**

La gonadotrophine chorionique humaine (hCG), synthétisée par les syncytiotrophoblastes dans le placenta, est une glycoprotéine hétérodynamique formée par une sous-unité α commune à toutes les hormones glycoprotéiques et une sous-unité β spécifique (53). La fonction principale de l'hCG est le maintien du corps lutéal au début de la grossesse. Il existe des preuves contradictoires concernant une association entre de faibles niveaux de β -hCG libre au premier trimestre et, d'autre part, la mortinaissance et le RCIU (54-57).

- **Protéine plasmatique placentaire de type A**

La PAPP-A est une protéase de la protéine de liaison du facteur de croissance de l'insuline (IGF), synthétisée par le syncytiotrophoblaste (58). La PAPP-A joue ainsi un rôle important dans la réponse proliférative locale, notamment l'invasion trophoblastique (59). Les faibles niveaux de PAPP-A sont associés à des niveaux accrus de protéines de liaison de l'IGF et, par conséquent, à de faibles niveaux d'IGF libre. Comme les IGF jouent un rôle dans la

régulation de l'invasion trophoblastique de la décidua (60), l'association entre les niveaux de PAPP-A bas et les résultats périnataux indésirables liés à une invasion trophoblastique anormale est cohérente d'un point de vue biologique. Pendant la grossesse, le niveau de PAPP-A augmente avec l'âge gestationnel et est fortement influencé par l'indice de masse corporelle maternelle, le tabagisme et l'appartenance ethnique (61-63).

Les grandes études de cohorte ont trouvé une association entre de faibles niveaux de PAPP-A pendant le premier trimestre et les issues de grossesse indésirables (54, 55, 64-66), notamment l'accouchement prématuré, le RCIU, la mortinaissance et la prééclampsie. Au Canada, on a également montré une association entre de faibles niveaux de PAPP-A et le RCIU de même que la prééclampsie (67, 68). Dans toutes les études, les niveaux les plus faibles de PAPP-A ont été associés aux risques les plus élevés d'issues défavorables mais aussi aux issues les plus sévères (54, 55, 64-68).

➤ **Au deuxième trimestre de grossesse**

• **Alpha-foetoprotéine**

L'AFP est une glycoprotéine oncofœtale produite à partir du deuxième mois de grossesse par le corps jaune et à partir du troisième mois par le foie fœtal et le tractus gastro-intestinal (69). Les mécanismes qui entraînent une élévation des niveaux sériques maternels de l'AFP alors que le fœtus est structurellement normal, comprennent une effraction de la barrière foeto-placentaire (70, 71), les dommages vasculaires placentaires du décollement précoce, les saignements foeto-maternels (71, 72) et l'ischémie foeto-placentaire (73). Des niveaux élevés d'AFP au deuxième trimestre ont été associés à l'hypertension gestationnelle, à la prééclampsie, au décès foetal, à l'accouchement prématuré, au RCIU et au décollement du placenta (74-77). D'autre part, de faibles niveaux d'AFP sérique maternels ont été associés à un avortement spontané, à l'accouchement prématuré et à la mortinaissance (74).

- **Gonadotrophine chorionique humaine totale**

Des niveaux accrus de hCG total au deuxième trimestre ont été associés à un certain nombre de résultats périnataux défavorables susceptibles d'être attribués à un dysfonctionnement placentaire. Ces résultats comprennent la prééclampsie, l'avortement précoce, la mortinatalité, l'accouchement prématuré et le RCIU (75-79). Le risque d'issues défavorables indésirables augmente à mesure que les niveaux de hCG augmentent.

- **Œstriol non conjugué**

Le placenta produit de l'œstriol par conversion du sulfate de 16-hydroxy-déshydroepiandrosterone en androgènes, qui sont par la suite transformés en œstriol. Les faibles niveaux d'uE3 semblent être associés au RCIU et à l'avortement précoce (71, 77, 80).

- **Inhibine A**

L'inhibine-A est une glycoprotéine hétérodimère de la famille du facteur de croissance transformant- β (TGF- β). L'unité foetoplacentaire est la principale source de production d'inhibine-A pendant la grossesse (81). L'inhibine-A semble être un marqueur spécifique de la fonction placentaire et du stress oxydatif (82). Un certain nombre d'études ont montré une relation entre les niveaux élevés d'inhibine-A dès 15 semaines de gestation et le développement ultérieur de complications périnatales comme la prééclampsie, le RCIU, l'accouchement prématuré et la mortinaissance (77, 78).

2.2.2.2 Les marqueurs de dépistage de la prééclampsie : les marqueurs angiogéniques

- **Facteur de croissance placentaire**

Le facteur de croissance placentaire (PIGF) est une glycoprotéine appartenant à la famille des facteurs de croissance endothéliaux (vascular endothelial growth factor - VEGF) (83). Ce médiateur de l'angiogenèse a été identifié au niveau des cellules endothéliales de la veine ombilicale et du placenta, où il est produit par le cytotrophoblaste, le

syncytiotrophoblaste, et le trophoblaste extravilleux (84). Il participe au bon développement vasculaire et fonctionnel du placenta (85). Les niveaux circulants sont diminués dans les grossesses compliquées par une insuffisance placentaire (86). Les femmes qui développent une prééclampsie en fin de grossesse ont des concentrations significativement plus faibles de PlGF dès le premier trimestre (87-89).

- **Soluble fms-like tyrosine kinase 1**

La soluble fms-like tyrosine kinase 1 (sFlt-1) aussi appelée sVEGF-R1 (récepteur soluble du Vascular Endothelial Growth Factor type I) est un récepteur circulant antagoniste de PlGF et de VEGF (90). Le sFlt-1 en se liant au PlGF et au VEGF circulants, diminue leur biodisponibilité vis-à-vis de leurs récepteurs membranaires Flt-1 et Flk-1, et est à ce titre considérée comme un facteur anti-angiogénique (83). Son administration chez des rates enceintes a permis de reproduire le syndrome de la prééclampsie (HTA, protéinurie, vascularite glomérulaire) (91). Le sFlt-1 est libéré par les cellules endothéliales vasculaires et des cellules circulantes (monocytes, macrophages, plaquettes), il est également libéré par le tissu trophoblastique placentaire dans la circulation maternelle au cours de la grossesse (92). La concentration plasmatique de sFlt-1 augmente pendant la grossesse; cette augmentation est plus importante dans les 2 derniers mois de la grossesse (83). La chute rapide des niveaux sériques maternels de sFlt-1 après l'accouchement et la délivrance du placenta ont permis d'attester que le placenta est la principale source de sFlt-1 pendant la grossesse (83).

- **Le rapport sFlt-1/PlGF**

Le déséquilibre de la balance angiogénique sFlt-1/PlGF (augmentation du sFlt-1 et baisse du PlGF) joue un rôle physiopathologique majeur dans la survenue de la prééclampsie et notamment la dysfonction endothéliale maternelle (93). Ces facteurs sont dosables dans le sang maternel et la mesure du ratio sFlt-1/PlGF est maintenant disponible sur automates. Au regard des valeurs usuelles établies par les fabricants, une valeur basse ou élevée permet d'infirmer ou de confirmer le développement à court terme d'une prééclampsie (83). Ces résultats ont été confirmés à une plus grande échelle en utilisant les dosages automatisés sur

Elecsys puis Cobas par la société Roche (étude Prognosis) : un ratio sFlt-1/PlGF < 38 permettant d'exclure la survenue d'une prééclampsie avec une très bonne VPN (> 99 %) (94). L'utilisation de ce ratio en pratique clinique permettrait d'adapter le suivi des patientes (95).

2.2.3 Facteurs influençant les biomarqueurs de la fonction placentaire

De nombreux facteurs maternels et obstétricaux sont décrits à travers la littérature comme influençant le niveau des différents biomarqueurs sériques (96-102).

2.2.3.1 Âge gestationnel

La concentration sérique des biomarqueurs varie tout au long de la grossesse. Par exemple, au cours d'une grossesse normale la concentration sérique en PlGF augmente jusqu'à 29-32 semaines de grossesse puis diminue jusqu'au terme (88). Le sFlt-1 est libéré dans la circulation maternelle au cours de la grossesse à des concentrations croissantes allant d'environ 500 pg/ml au premier trimestre à 2 000 pg/ml au troisième trimestre (92).

La détermination précise de l'âge gestationnel lors du dosage est donc importante. L'écart-type des marqueurs sériques est plus faible lorsqu'un examen échographique est utilisé pour estimer l'âge gestationnel que lorsque les dates des dernières menstruations sont utilisées. L'effet est plus important pour les marqueurs dont les concentrations changent le plus avec l'âge gestationnel (notamment uE3) et plus petit pour ceux qui changent le moins avec l'âge gestationnel (notamment l'inhibine A) pendant la période de gestation (96).

2.2.3.2 Poids maternel et indice de masse corporelle (IMC)

Les concentrations sériques des marqueurs AFP, hCG et uE3 varient en fonction du poids maternel. Pour une augmentation de 20 kg, la valeur de l'AFP diminue d'environ 17%, celle de l'uE3 de 7% et celle de l'hCG de 16% (103). L'IMC maternel est également associé à

des variations de concentration des marqueurs angiogéniques. Un IMC élevé est significativement associé à des valeurs de sFlt-1 plus basses tout au long de la gestation et à des valeurs de PIGF plus basse au deuxième et au troisième trimestre. Des relations similaires ont été observées entre l'IMC maternel, la sFlt-1 et le PIGF chez des femmes présentant un dysfonctionnement placentaire clinique (104).

2.2.3.3 Origine ethnique

Des études rapportent des variations de la concentration sérique des marqueurs dans certaines populations notamment afro-caribéenne et asiatique. Une étude réalisée au premier trimestre de grossesse a montré que les niveaux sériques de β -hCG et PAPP-A étaient plus élevées respectivement de 19% et 48% chez les femmes afro-caribéennes et de 19% et 35% chez les femmes asiatiques que chez les femmes caucasiennes (101). Il est également connu que des différences ethniques dans les biomarqueurs du deuxième trimestre existent entre les femmes afro-caribéennes, asiatiques et hispaniques en comparaison aux femmes caucasiennes (105, 106). Dans les populations où les références sont établies à partir des données recueillies dans des populations principalement de race blanche, des corrections pour l'appartenance ethnique sont appropriées.

Des différences ethnoraciales ont été aussi signalées dans la concentration sérique maternelle des facteurs pro-angiogéniques et anti-angiogéniques (107). Les femmes afro-caribéennes présentaient des niveaux légèrement plus élevés de PIGF et sFlt-1 que les femmes caucasiennes et les femmes d'autres races (108, 109).

2.2.3.4 Âge maternel

Une légère augmentation de l'AFP a été observée dans une étude avec l'âge maternel; les niveaux ont augmenté significativement de 4,4 % (IC de 95% = 3,2-5,7%) sur 10 ans (110).

2.2.3.5 Parité

Une association négative entre le niveau sérique maternel d'hCG et la gestité ou la parité a été retrouvée dans plusieurs études (110-113). Cet effet était présent indépendamment de l'âge gestationnel, de l'âge maternel et de l'ajustement ou non en fonction du poids maternel, et ceci aussi bien pour la molécule intacte d'hCG que pour sa sous-unité β . La hCG totale est négativement associée à la parité, diminuant d'environ 3% pour chaque naissance précédente (96). Par ailleurs, les femmes multipares ont des niveaux plus faibles de sFlt-1 que les femmes primipares (114).

2.2.3.6 Tabagisme

Le tabagisme a un impact important sur les concentrations d'hCG total mais nettement plus faible sur les concentrations des autres marqueurs. Les fumeuses ont en moyenne, des concentrations de hCG total 18% plus faible, de β -hCG libre 6% plus faible, d'AFP 3% plus élevée et d'oestriol 4% plus faible que les non-fumeuses (96, 115). Le tabagisme est aussi associé à une diminution des concentrations circulantes de sFlt1 et une augmentation des concentrations de PlGF (116, 117). L'impact du tabagisme sur les marqueurs sériques est indépendant du nombre de cigarettes fumées, il apparaît dès une consommation d'une cigarette par jour.

2.2.3.7 Sexe du fœtus

Dans les grossesses non compliquées, l'AFP est significativement plus faible (3%) en présence d'un fœtus mâle, tandis que la β -hCG libre est significativement augmentée (7%) en présence d'un fœtus femelle. Ces différences ont conduit à un risque de faux positifs du dépistage de la trisomie 21 significativement plus élevé chez les femmes portant un fœtus féminin (5,8% contre 4,6%) (100).

Les concentrations des marqueurs angiogéniques sFlt-1 et PlGF sont aussi influencées par le sexe fœtal. Le sexe fœtal féminin était associé à des concentrations plus élevées de sFlt-1 et du rapport sFlt-1 / PlGF aussi bien dans les grossesses non compliquées et que chez les femmes développant une prééclampsie (118).

2.2.3.8 Méthode de conception

Une étude portant sur un échantillon de 1515 cas de grossesses obtenues après stimulation ovarienne ou après fécondation in vitro et 21 014 contrôles a permis de montrer que les marqueurs sériques ne sont pas modifiés par ces techniques (119), contrairement à ce qui avait été observé sur de petites séries (120-124).

2.2.3.9 Diabète insulino-dépendant

Certains niveaux de marqueur sérique sont en moyenne plus bas chez les femmes diabétiques insulino-dépendantes. Après correction du poids, l'AFP est environ 10% plus faible chez ces femmes, uE3 est 7% plus bas, β -hCG 11% plus bas, et inhibine A 9% plus bas. Les différences sont statistiquement significatives et doivent donc être prises en compte dans le dépistage des aneuploïdies. Il n'y a pas de différences significatives pour l'hCG totale (96).

2.3 VIH et biomarqueurs de la fonction placentaire

Les résultats retrouvés dans les différentes études ne sont pas unanimes sur l'impact de l'infection par le VIH et/ou des TAR sur les biomarqueurs qui reflètent le fonctionnement du placenta.

2.3.1 Effet du VIH sur les biomarqueurs au premier trimestre

Quatre études transversales analytiques ont évalué l'effet de l'infection à VIH sur les marqueurs du premier trimestre que sont le β -hCG libre et le PAPP-A (49, 125-127). Tous les auteurs sauf Brossard et al. ont trouvé qu'il n'y avait pas de différence significative entre le niveau de biomarqueurs des femmes vivant avec le VIH comparativement aux témoins (tableau 1). Brossard et al. (2008) ont cependant trouvé une concentration significativement plus faible à la fois du β -hCG libre et du PAPP-A chez les femmes vivant avec le VIH.

Tableau I. Études évaluant l'effet du VIH sur les biomarqueurs du premier trimestre

| Auteur, année | Devis de l'étude | n | n sous TAR | β -hCG libre* MdM | PAPP-A* MdM |
|-------------------------|--|-----|--------------|--|--|
| Chougrani, 2016 (125) | transversale analytique multicentrique | 84 | 70 | Pas d'association 0.83 (0.53–1.39) vs 0.98 (0.65–1.39), p = 0.12 | Pas d'association 1.27 (0.79–1.95) vs 1.16 (0.84–1.65), p = 0.42 |
| Spencer**, 2011 (127) | transversale analytique | 92 | Non rapporté | Pas d'association 0.98 vs. 0.98, p = 1.00 | Pas d'association (1.00 vs. 1.09, p = 0.10) |
| Savvidou, 2010 (49) | transversale analytique | 90 | 41 | Pas d'association 0.93 (0.61–1.45) vs 1.00 (0.68–1.47), p = 0.29 | Pas d'association 0.94 (0.65–1.59) vs 1.00 (0.69–1.42), p = 0.89 |
| Brossard***, 2008 (126) | transversale analytique multicentrique | 214 | 141 | Diminué 0.84 (0.72–0.93) vs 1.09 (1.02–1.16), p = <0.0001 | Diminué 0.88 (0.77–1.00) vs 1.05 (1.00–1.11), p = 0.0004 |

MdM = multiple de la médiane, IIQ = intervalle interquartile, IC = Intervalle de confiance

* valeurs exprimées en médiane (IIQ) des femmes vivant avec le VIH vs témoins non infectés sauf indication contraire

** IIQ ou IC non rapporté

*** valeurs en médiane (IC 95%)

2.3.2 Effet du VIH sur les biomarqueurs au deuxième trimestre

Les résultats des 6 études ayant examiné l'association entre l'infection à VIH et les marqueurs sériques du deuxième trimestre sont également discordants (tableau 2). Il s'agit également d'études transversales analytiques pour la plupart. Pour le HCG, 3 études sur 5 ont trouvé une augmentation significative chez les femmes vivant avec le VIH alors que pour l'AFP, seule une étude sur 6 a noté une association positive. Deux études sur les 4 ayant testé l'uE3 ont trouvé une concentration significativement plus basse chez les femmes vivant avec le VIH comparativement aux femmes VIH-négatives. L'inhibine A n'a été mesurée que dans deux études dont une a trouvé une concentration significativement plus élevée chez les femmes vivant avec le VIH.

Tableau II. Études évaluant l'effet du VIH sur les biomarqueurs du deuxième trimestre

| Auteur, année | Devis de l'étude | n | n sous TAR | HCG* | AFP* | uE3* | Inhibine-A* |
|--------------------------|--|-----|--------------|--|--|---|---|
| Charlton**, 2014 (6) | transversale analytique | 72 | 41 | Augmenté 1.23 ± 1.09 vs 1.01 ± 0.61, p = 0.004 | Pas d'association 1.07 ± 0.61 vs 1.17 ± 0.58, p = 0.615 | Diminué 0.91 ± 0.35 vs 1.12 ± 0.33, p < 0.001 | N/A |
| Spencer***, 2011 (127) | transversale analytique | 52 | Non rapporté | Pas d'association 0.96 vs. 1.06, p = 0.18 | Pas d'association 0.94 vs. 0.97, p = 0.66 | Diminué 1.11 vs. 0.97, p = 0.0005 | N/A |
| Brossard****, 2008 (126) | transversale analytique multicentrique | 209 | 147 | N/A | Pas d'association 1.06 (0.95–1.15) vs 1.09 (1.05– 1.12), p = 0.38 | N/A | N/A |
| Le Meaux, 2008 (24) | transversale analytique | 132 | 63 | Pas d'association 1.01 (0.72– 1.31) vs 0.98 (0.62–1.48), p = 0.62 | Pas d'association 1.02 (0.78–1.40) vs 1.11 (0.89– 1.41), p = 0.06 | N/A | N/A |
| Yudin***, 2003 (128) | transversale analytique | 34 | 21 | Augmenté 1.35 vs 0.90, p = 0.033 | Pas d'association 1.03 vs 1.14, p = 0.606 | Pas d'association 1.11 vs 0.96, p = 0.071 | Pas d'associat ion 1.29 vs 1.12, p = 0.694 |
| Grosst, 2003 (25) | Séries de cas | 49 | Non rapporté | Augmenté 1.43 ± 1.04 | Augmenté 1.29 ± 0.9 | Pas d'association 0.9 ± 0.4 | Augment é 1.4 ± 1.6 |

MdM = multiple de la médiane, IIQ = intervalle interquartile, IC = Intervalle de confiance, N/A : non applicable

* valeurs exprimées en médiane (IIQ) des femmes vivant avec le VIH vs témoins non infectés sauf indication contraire

** valeurs en moyenne ± écart-type

*** IIQ ou IC non rapporté

**** valeurs en médiane (IC 95%)

† valeurs en moyenne ± écart-type, ont été comparées aux valeurs attendues dans la population générale

2.3.3 Effet du VIH sur les facteurs angiogéniques

Des niveaux significativement plus faibles de PlGF ont été rapportés, en Afrique du Sud, chez des femmes enceintes vivant avec le VIH comparativement aux femmes non infectées, qu'elles soient prééclampsiques ou non (129). Cependant, la taille de l'échantillon dans cette étude était faible (n = 27 témoins, n = 31 femmes vivant avec le VIH). Govender et al., par contre, n'ont montré aucune relation entre le VIH et les concentrations de facteurs angiogéniques sFlt1 et PlGF au troisième trimestre chez 37 femmes et 39 contrôles (130). Dans ces deux seules études sur le sujet, l'exposition à la TAR n'était pas détaillée.

Powis et al (131), dans une étude réalisée au Botswana, ont montré que les niveaux de PlGF sont plus faibles chez les femmes vivant avec le VIH qui ont développé une prééclampsie, d'une manière comparable à celle des études antérieures impliquant des femmes non infectées par le VIH (87-89).

2.4 TAR et biomarqueurs de la fonction placentaire

La revue de la littérature effectuée sur le sujet a permis de trouver des études dont les résultats ne sont pas unanimes concernant l'association entre l'exposition à la TAR et les biomarqueurs de la fonction placentaire.

2.4.1 Effet de la TAR sur les biomarqueurs du dépistage des aneuploïdies

Certains articles ont indiqué que la TAR modifie les valeurs des marqueurs biochimiques utilisés pour le dépistage des aneuploïdies; d'autres indiquent des résultats contraires (6, 23, 24, 49, 125, 126, 128). Savvidou et al. (49) ont trouvé une diminution significative du β -hCG tandis que Le Meaux et al. (24) ont noté une augmentation de l'AFP chez les femmes sous TAR. Seul Einstein (23) a trouvé une diminution de l'AFP chez les patientes sous régime thérapeutique à base d'IP (tableau 3).

Tableau III. Études évaluant l'effet de la thérapie antirétrovirale sur les biomarqueurs

| Auteur, année | Devis de l'étude | n | n sous TAR | Thérapie antirétrovirale | Inhibiteur des protéases |
|-------------------------|--|-----|------------|--|--|
| Chougrani*, 2016 (125) | transversale analytique multicentrique | 84 | 70 | Pas d'association free β -hCG : TAR+ 0.82 (0.52–1.26) vs TAR- 1.08 (0.64–1.61), p = 0.31 PAPP-A : TAR+ 1.29 (0.77–1.99) vs TAR- 1.07 (0.97–1.50), p = 0.51 | Non évalué |
| Charlton**, 2014 (6) | transversale analytique | 72 | 41 | Pas d'association AFP : TAR+ (1.31 \pm 0.52) vs TAR- (1.13 \pm 0.70), p = 0.240 hCG: TAR+ (1.49 \pm 1.10) vs TAR- (1.64 \pm 1.02), p= 0.554 uE3: TAR+ (0.93 \pm 0.27) vs TAR- (0.97 \pm 0.26), p= 0.558 | Pas d'association AFP: IP+ (1.16 \pm 0.52) vs IP- (1.41 \pm 0.50), p = 0.158 hCG: IP+ (1.36 \pm 1.39) vs IP- (1.57 \pm 0.85), p= 0.611 uE3: IP+ (0.97 \pm 0.27) vs IP- 0.90 \pm 0.27), p= 0.478 |
| Savidou*, 2010 (49) | transversale analytique | 90 | 41 | Diminution β -hCG libre TAR+ (0.74, 0.45–1.32) vs TAR- (1.03, 0.76–1.85), p = 0.006 Pas d'association pour PAPP-A TAR+ (0.89, 0.66–1.47) vs TAR- (1.05, 0.64–1.66), p = 0.41 | Pas d'association β -hCG libre IP+ (0.82, 0.42–1.44) vs IP- (0.74, 0.51–1.26), p = 0.80 |
| Brossard***, 2008 (126) | transversale analytique multicentrique | 214 | 147 | Pas d'association, données non rapportées | Pas association, données non rapportées |
| Le Meaux*, 2008 (24) | transversale analytique | 132 | 63 | Augmentation AFP TAR+ (1.18, 0.94–1.59) vs TAR- (0.91, 0.69–1.20), p < 0.01 | Non évalué |
| Einstein**, 2004 (23) | Rétrospective | 39 | 39 | non évalué, pas de groupe TAR- | Diminution AFP IP+ (0.97, \pm 0.32) vs IP- (1.2, \pm 0.40) |
| Yudin, 2003 (128) | transversale analytique | 34 | 21 | Pas association, données non rapportées | Non évalué |

MdM = multiple de la médiane, IIQ = intervalle interquartile, IC = Intervalle de confiance

* valeurs exprimées en médiane (IIQ) sauf indication contraire

** valeurs en moyenne \pm écart-type

*** valeurs en médiane (IC 95%)

2.4.2 Effet de la TAR sur les facteurs angiogéniques

Une étude récente portant sur 1115 échantillons de plasma de 326 femmes enceintes, ne rapporte aucune différence significative dans les facteurs angiogéniques selon le type de traitement antirétroviral (IP vs non IP) au deuxième et au troisième trimestre (132). Des études en oncologie, avaient pourtant ultérieurement signalé des effets anti-angiogéniques pour certains IP (133, 134). Les effets des IP sur la formation du système vasculaire placentaire et le développement du fœtus ont été étudiés dans un modèle murin (135). Les souris exposées à la TAR avaient des fœtus et des placentas significativement plus petits que les témoins. La taille des portées et la viabilité du fœtus ont été négativement affectées par l'exposition à la TAR constituée de deux analogues nucléosidiques et un IP à des doses équivalentes aux doses thérapeutiques humaines. Alors que les niveaux de PlGF étaient inchangés, des niveaux significativement plus bas de sFlt-1 ont été trouvés dans les placentas (135).

Pour ce qui concerne l'association entre la durée d'exposition à la TAR et le niveau des biomarqueurs, une étude sur une cohorte de femmes dont la TAR a été initiée au deuxième et au troisième trimestre (n=60) n'a noté aucun changement significatif des niveaux de marqueurs angiogéniques après 1 mois de TAR chez les femmes présentant des grossesses non compliquées (131). De plus, les auteurs n'ont pas détecté de différence significative dans la concentration sérique de sFlt-1 ou de PlGF un mois après le début de la TAR lors de la comparaison d'un régime comprenant 3 INTI avec un régime à base d'IP. Ces résultats doivent cependant être considérés avec prudence à cause de la faible puissance statistique de l'étude.

2.5 Conclusion de l'état des connaissances

La recension des écrits a permis de trouver peu d'études qui traitaient de l'impact de l'infection à VIH et de l'exposition à la TAR dès la conception ou le premier trimestre sur les marqueurs sériques de la fonction placentaire. De plus ces études n'ont pas pris en compte la

durée de l'exposition à la TAR au moment du dosage des biomarqueurs. Les résultats de ces études ne fournissent pas une réponse suffisante et claire à la problématique à cause des limites dues à la faible taille des échantillons.

En ce qui concerne la taille des échantillons (étendue de 34 à 214), peu d'études ont été réalisées sur des échantillons de grande taille. En effet, la majorité des devis recensés portant sur un nombre trop faible de sujets, il existe un risque réel de manquer de puissance statistique. Ainsi, le manque de puissance statistique peut également expliquer les résultats contradictoires relevés dans notre recension. L'examen des articles montre que la plupart des chercheurs ont évoqué la notion de puissance statistique du devis de leur projet dans les méthodes et/ou y ont fait référence dans la discussion. Seuls deux auteurs ont indiqué une puissance supérieure à 0,80, qui est le seuil de puissance optimal généralement admis. La plupart ont rapporté des problèmes engendrés par le manque de puissance statistique dans les limites de leur étude.

Aussi, comme décrit dans la section 2-2-3, les biomarqueurs mesurés sont influencés par de nombreux facteurs maternels et obstétricaux qu'il est nécessaire d'ajuster ou de contrôler (51). Cet ajustement n'a pas toujours été réalisé dans les études déjà publiées sur le sujet. Finalement, pour ce qui concerne les facteurs angiogéniques, ils ont été peu examinés dans le contexte de l'infection à VIH et de la TAR précoce en grossesse, alors qu'ils ont fait la preuve de leur pertinence dans les pathologies liées à la dysfonction placentaire comme la prééclampsie (48).

2.6 Justification de notre projet d'étude

Il apparaît que les quelques études publiées sur ce sujet fournissent des résultats pour la plupart peu concluants à cause des limites exposées précédemment, confirmant la nécessité de nouvelles études méthodologiquement plus fortes. Notre étude aura l'avantage d'avoir plus de

puissance statistique, d'utiliser un plan d'analyse statistique rigoureux avec ajustement des facteurs de confusion potentiels tout en considérant la durée d'exposition à la TAR.

Les résultats de cette étude contribueront à une meilleure compréhension de la relation entre le VIH, la TAR et les complications périnatales, aidant ainsi à l'avancement du programme de recherche qui vise à mieux comprendre la pathophysiologie de cette relation. Ils serviront également à la mise à jour des lignes directrices sur la prise en charge des grossesses chez les femmes vivant avec le VIH de la Société des obstétriciens et gynécologues du Canada.

3 Hypothèse et objectifs de recherche

3.1 Hypothèse de recherche

Notre étude est basée sur l'hypothèse que les femmes enceintes vivant avec le VIH sous TAR contenant un IP, ont une invasion trophoblastique et une fonction placentaire perturbée dès le premier et le deuxième trimestre, illustrée par de faibles niveaux de β -hCG libre, PAPP-A et PIGF et des niveaux élevés de l'AFP, oestriol non conjugué, hCG, inhibine A et sFlt-1, par rapport aux femmes vivant avec le VIH non traitées ou traitées avec une TAR sans IP, et que ces perturbations sont corrélées avec la durée d'exposition à la TAR.

3.2 Objectifs

L'objectif est d'évaluer l'association entre la TAR et les niveaux de différents biomarqueurs, qui sont des indicateurs d'une dysfonction placentaire pouvant conduire à des issues périnatales défavorables. Les objectifs spécifiques sont :

(1) évaluer l'association entre le type de TAR et la durée d'exposition à la TAR et les biomarqueurs utilisés en pratique clinique pour le dépistage des aneuploïdies (PAPP-A et β -

hCG libre au premier trimestre, AFP, œstriol non conjugué, hCG et inhibine-A au deuxième trimestre) ;

(2) évaluer l'association entre le type de TAR, la durée d'exposition à la TAR et le moment d'initiation de la TAR, et les facteurs angiogéniques PlGF, sFlt-1 et ratio sFlt-1/PlGF (au premier et deuxième trimestre).

4 Méthodes

4.1 Devis de recherche et brève description des banques de données

Cette étude porte sur deux banques de données de femmes enceintes vivant avec le VIH :

- La cohorte prospective du Centre Maternel et Infantile sur le SIDA (CMIS, CHU Sainte-Justine, Montréal Qc). Le CMIS abrite des données et des échantillons de sérum provenant de plus de 900 couples mère-enfant et recrute environ 40 couples par an.

- La base de données périnatales du VIH de la clinique Oak Tree du BC Women's Hospital (Vancouver, C.-B.), qui contient des données sur plus de 500 couples mère-enfant, et enregistre chaque année environ 20 couples mère-enfant dans leur base de données de surveillance.

Les objectifs de la cohorte du CMIS sont (1) de déterminer les facteurs associés à la transmission du VIH de la mère à l'enfant; (2) de déterminer les facteurs reliés à la progression de l'infection par le VIH chez l'enfant, (3) d'étudier l'impact clinique et immunophysiologique de l'exposition in utero aux antirétroviraux et au VIH chez les enfants infectés et non infectés, nés d'une mère vivant avec le VIH, et finalement (4) d'évaluer les facteurs associés aux issues périnatales défavorables et au contrôle viral chez les femmes enceintes vivant avec le VIH (136).

La cohorte du CMIS approuvée par le comité d'éthique du CHU Sainte-Justine, recrute depuis 1987 les femmes enceintes vivant avec le VIH et leurs enfants sur un mode continu, après recueil de leur consentement. Les femmes enceintes sont suivies par l'équipe du CMIS pendant leur grossesse, suivant un calendrier prédéfini : visites mensuelles puis hebdomadaires

durant le dernier mois de grossesse, couplées à un prélèvement d'échantillon de sang chaque trimestre, lors de l'accouchement et à 6 semaines post-partum. Les types de données recueillies sont les suivantes : données sociodémographiques provenant du dossier clinique du participant, données cliniques, résultats des analyses sanguines et autres matériels biologiques (voir annexe 3).

Les données cliniques sont saisies dans une base de données « ACCESS » et des données exemptes d'identifiants personnels sont conservées dans une base de données REDCap stockée dans un serveur situé sur le campus de l'Université de Montréal. Le matériel biologique recueilli lors des visites de suivi, dont le sérum et le plasma, est conservé dans des congélateurs à -80°C situés dans le laboratoire d'immunopathologie virale au Centre de recherche du CHU Sainte-Justine (136).

La cohorte du BC Women's hospital (Vancouver) a été créée en 1994 et collecte les données des femmes prises en charge à la clinique Oak Tree (BC Women's Hospital). Cette clinique fournit des soins cliniques spécialisés aux femmes et enfants vivant avec le VIH ainsi qu'à leurs familles. Elle offre les services suivants :

- les soins axés sur les femmes et la famille, plus précisément les femmes enceintes et les enfants infectés par le VIH et les enfants nés de mères vivant avec le VIH.
- recherche sur les femmes vivant avec le VIH, les femmes enceintes, les enfants et les jeunes
- Plaidoyer et éducation en matière de soins du VIH axés sur les femmes
- Guichet unique : traitement médical, soutien social avec une approche holistique tenant compte de la culture et sans jugement.

Depuis 1994, plus de 5150 femmes vivant avec le VIH, plus de 500 grossesses et environ 80 enfants infectés par le VIH ont été pris en charge. Cette cohorte est approuvée par les autorités locales à des fins de surveillance et de recherche. Les données cliniques et

biologiques sont collectées dans une base de données RedCap hébergée dans le « Child and Family Research Institute » (Vancouver).

4.2 Description de l'échantillon

L'échantillon disponible comprend 985 femmes enceintes vivant avec le VIH provenant des deux sites. Les données des femmes recrutées entre janvier 2003 et mars 2017 et qui ont eu des tests de dépistage des aneuploïdies au premier trimestre (10- 14 semaines) et/ou deuxième trimestre (15-21 semaines) de grossesse ont été incluses. Les critères d'exclusion ont été les grossesses multiples, les malformations fœtales majeures, les aneuploïdies et les données manquantes pour les variables d'intérêt.

Au CHU Sainte-Justine, entre 2003 et 2010, le dépistage prénatal était basé sur l'échographie du premier trimestre et sur 2 biomarqueurs : PAPP-A et β -hCG libre. Depuis novembre 2010, un programme de dépistage provincial gratuit a été offert à toutes les femmes enceintes, utilisant le PAPP-A au premier trimestre (10-14 semaines) et l'AFP, l'œstriol non conjugué, l'hCG et l'inhibine-A au deuxième trimestre (15-20 semaines). Cette même stratégie de dépistage est disponible en Colombie-Britannique depuis 2004.

Le dosage des facteurs angiogéniques a été effectué en tant qu'étude pilote à visée exploratoire, sur un sous-groupe des échantillons de sérum stockés dans la banque biologique du CMIS. Les échantillons des femmes recrutées entre janvier 2003 et décembre 2016, qui ont eu des prélèvements sanguins au premier (5 – 14 semaines) et au deuxième trimestre (15 – 28 semaines) de grossesse, ont été sélectionnés pour le dosage du PlGF et du sFlt-1.

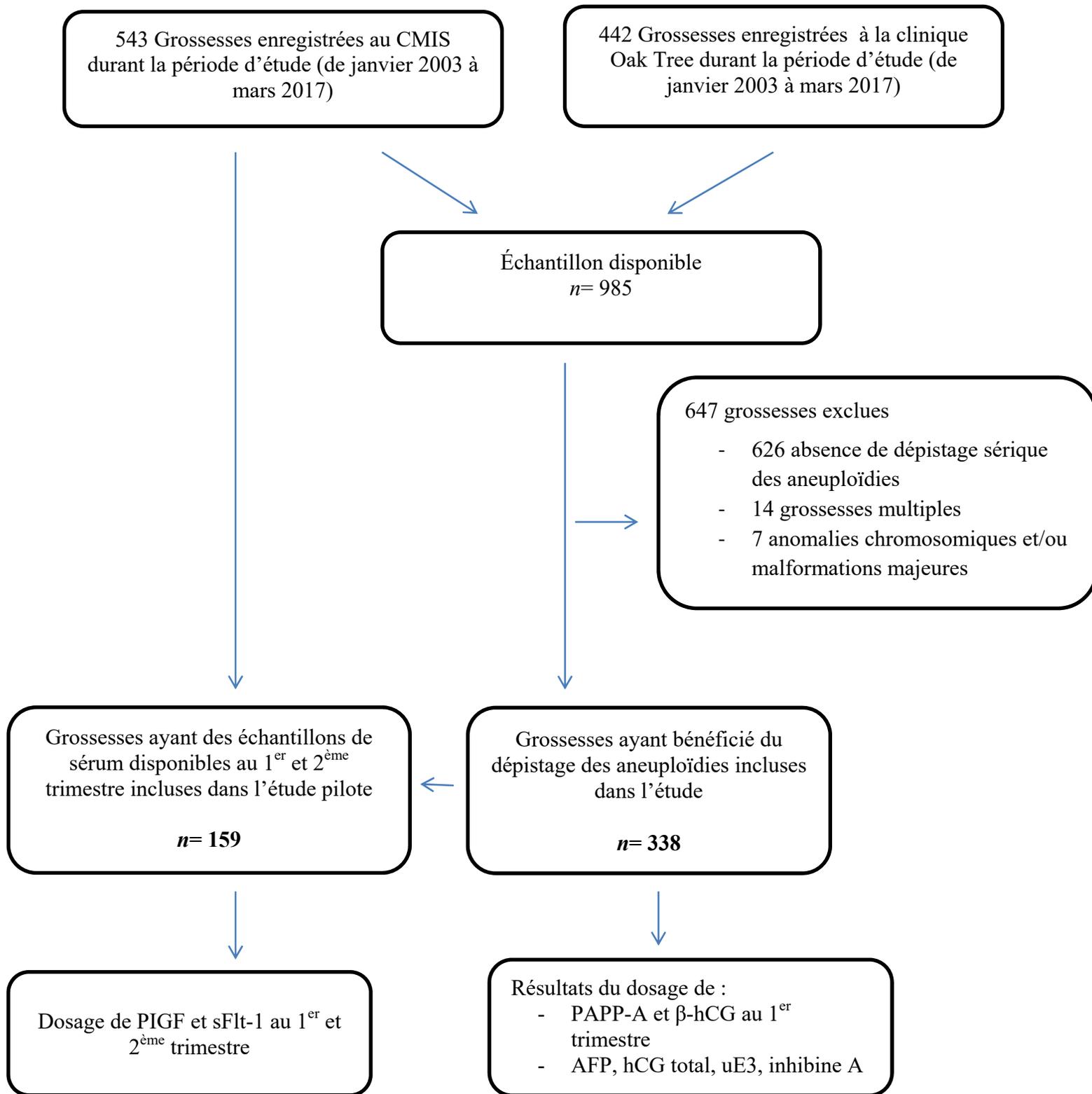


Figure 1. Diagramme de sélection des participantes de l'étude

4.3 La variable dépendante : la fonction placentaire

La fonction placentaire a été évaluée par l'intermédiaire :

- des biomarqueurs utilisés en pratique clinique pour le dépistage des aneuploïdies (PAPP-A et β -hCG libre au premier trimestre, AFP, œstriol non conjugué, hCG et inhibine-A au deuxième trimestre) ;

- des marqueurs angiogéniques du dépistage de la prééclampsie : PlGF, sFlt-1 et ratio sFlt-1/PlGF (au premier et deuxième trimestre).

4.4 Les variables indépendantes

4.4.1 Thérapie antirétrovirale (TAR)

Les femmes vivant avec le VIH ont été catégorisées selon l'exposition à la TAR au moment du dépistage prénatal (TAR à base d'IP, autre TAR, aucun traitement).

4.4.2 Durée d'exposition à la TAR durant la grossesse

Cette variable a été traitée comme une variable continue exprimée en semaines depuis la conception.

4.4.3 Moment d'initiation de la TAR

Le moment d'initiation de la TAR a été défini par rapport à la conception (avant la conception ou durant la grossesse).

4.5 Variables de contrôle

Ce sont les facteurs maternels susceptibles d'affecter le niveau des biomarqueurs. Ces variables potentiellement confondantes ont été considérées dans le modèle de régression. Ce sont :

- l'origine ethnique : caucasien (groupe de référence), afro-caribéen et autres
- la parité : nullipare vs. multipare
- l'âge maternel à terme : variable continue exprimée en années
- l'âge gestationnel : L'âge gestationnel a été estimé selon les résultats de l'échographie du premier trimestre, si disponible, ou à partir de la date des dernières menstruations ou de l'échographie du deuxième trimestre. C'est une variable continue exprimée en semaines d'aménorrhée.
- L'indice de masse corporelle (IMC) : variable continue (kg/m^2)
- Le tabagisme : variable dichotomique (fumeur vs non-fumeur). Il correspond au statut de la patiente au cours de la grossesse.
- Le sexe du fœtus : variable dichotomique (masculin vs. féminin)

4.6 Instruments de mesure

Les marqueurs de dépistage sérique des aneuploïdies ont été mesurés par des tests de laboratoire basés sur une méthode d'immunoanalyse dont les kits ont été fournis par de différents fabricants au cours du temps au CHU Ste-Justine : Immulite 2000 de Siemens (2003- 2008), Auto Delfia Perkin Elmer (2008 -2010), Dxl de Beckman Coulter (2010-2016). Pour les analyses en Colombie Britannique, seuls les kits Perkin Elmer d'Auto Delfia ont été utilisés. Ces tests ont une bonne performance et sont utilisés dans les programmes provinciaux de dépistage des aneuploïdies en Colombie Britannique et au Québec où il existe des mécanismes réguliers de contrôle de qualité des dosages, notamment de leur variabilité. Des facteurs de conversion spécifiques ont été utilisés (137).

Les mesures de sFlt-1 et de PlGF ont été réalisées avec des kits de dosage immuno-enzymatique DuoSet (R & D systems, Minneapolis, MN). Les limites de détection pour chaque marqueur étaient de 15.6 pg / ml (sFlt-1) et 62.5 ng / ml (PlGF). Pour chaque femme, les deux biomarqueurs ont été mesurés à partir de la même aliquote d'échantillon de sérum en banque.

4.7 Protocole de collecte de données

Les données démographiques, cliniques et biochimiques dont les résultats du dosage des biomarqueurs des aneuploïdies ont été extraites des bases de données périnatales du CMIS et de la cohorte du BC Women's hospital via REDCap.

4.8 Analyse statistique

La banque de données a été nettoyée et les données aberrantes ont été codées comme manquantes. Les patientes n'ayant aucune valeur pour tous les biomarqueurs d'intérêt et/ou la TAR ont été exclues. Comme il y avait très peu de données manquantes chez les sujets inclus, il n'y a pas eu de procédure d'imputation pour les données manquantes.

Des analyses descriptives ont été effectuées sur les données sociodémographiques, cliniques et biologiques des participantes. Pour chaque variable catégorielle et continue, une description des effectifs avec les proportions (avec intervalle de confiance à 95%) ou de la moyenne (avec l'écart type) ou la médiane avec l'intervalle interquartile (IIQ), respectivement, a été effectuée. La distribution des variables a été vérifiée.

Une valeur de $p < 0.05$ a été considérée comme étant statistiquement significative. Les analyses statistiques ont été effectuées avec le logiciel IBM SPSS Statistics for Windows, version 24 (IBM Corp., Armonk, N.Y., USA) et STATA 14.

4.8.1 Objectif 1

Des régressions linéaires multivariées ont été réalisées, pour analyser l'association entre la TAR (type de TAR et durée d'exposition à la TAR) et le niveau sanguin des différents biomarqueurs en ajustant pour les facteurs de confusion potentiels parmi les variables suivantes, identifiées au préalable dans la littérature (96-102): origine ethnique, parité, âge maternel, âge gestationnel, indice de masse corporelle (IMC), poids, tabagisme et sexe du fœtus. Ces variables ont été catégorisées ou traitées en continue telles que décrites dans la section ci-haut. Les variables qui étaient confondantes, c'est-à-dire, celles qui une fois introduites dans le modèle bivarié entraînait une variation du coefficient de régression de plus ou moins (+/-) 10% étaient conservées dans le modèle final. Toutes les variables présentant une valeur $p < 0.05$ ont également été incluses dans les modèles finaux. Le postulat de normalité des résidus de la régression a été vérifié pour tous les modèles de régression. Les niveaux de biomarqueurs ont nécessité une transformation logarithmique (base 10) afin de rendre normale la distribution des résidus.

4.8.2 Objectif 2

Le test de Wilcoxon pour échantillon apparié a été utilisé pour comparer les concentrations sériques des marqueurs au premier et deuxième trimestre. Une équation d'estimation généralisée (GEE) linéaire a été utilisée (pour tenir compte des mesures répétées chez les mêmes individus au premier et deuxième trimestre de grossesse), pour analyser l'association entre la TAR (type de TAR, durée d'exposition à la TAR, moment d'initiation de la TAR) et la concentration plasmatique des différents biomarqueurs. La matrice de corrélation autorégressive de un degré (AR1) a été utilisée. Le modèle a été ajusté pour les variables de confusion potentielles, identifiées au préalable dans la littérature, incluant les suivantes (104, 107-109, 118): origine ethnique, parité, âge maternel, âge gestationnel, indice de masse corporelle (IMC), tabagisme, sexe du fœtus. Les variables qui étaient confondantes, c'est-à-dire, celles qui une fois introduites dans le modèle bivarié entraînaient une variation du coefficient de régression de +/- 10% étaient conservées dans le modèle final. Toutes les variables présentant une valeur $p < 0.05$ ont également été incluses dans les modèles finaux.

Une analyse de résidus a été effectuée pour vérifier les postulats des modèles qui ont suggéré une transformation logarithmique des biomarqueurs. Avec des analyses de sensibilité, nous avons considéré des modèles avec une matrice de corrélation «unstructured» ou «exchangeable» et comparé ces modèles à l'aide du QIC (Quasi-likelihood under Independence Model Criterion).

4.9 Estimation de la taille de l'effet

4.9.1 Objectif 1

En considérant les valeurs de PAPP-A (moyenne et écart-type) obtenues dans le groupe de référence (groupe sans TAR), nous avons calculé qu'avec la taille d'échantillon disponible ($n=303$), nous pouvions atteindre un delta (différence de moyenne) de 0.96 iu/l en utilisant une erreur alpha de 0.05 et une puissance statistique (beta) de 80% (annexe 4).

4.9.2 Objectif 2

La même opération nous a permis d'obtenir avec la taille d'échantillon disponible pour le dosage du PIGF et sFlt-1 ($n=159$), des différences de moyenne (delta) respectives de 33.67 et 1905.15 pg/ml en utilisant une erreur alpha de 0.05 et une puissance statistique (beta) de 80% (annexe 4).

4.10 Considérations éthiques

Un consentement écrit des femmes recrutées dans la cohorte du CMIS a été recueilli. La confidentialité est garantie par la désidentification des données et un accès sécurisé. La banque de données cliniques et biologiques, et de matériel biologique de la cohorte mère-enfant du CMIS a obtenu l'approbation du comité d'éthique à la recherche du CHU Ste-Justine. La banque de donnée de la clinique Oak Tree est approuvée par le comité d'éthique du BC Women's hospital. Notre étude a été approuvée par le comité d'éthique de la recherche en santé (CERES) de L'Université de Montréal.

5 Résultats

5.1 Articles 1

The association between antiretroviral therapy and early placental function

Ameyo Djeha¹, Deborah Money², Helen Trottier³, Anissa Djemli⁴, Julie van Schalkwyk², Marc Boucher¹, Isabelle Boucoiran^{1§}

¹ Department of Obstetrics and Gynecology, CHU Sainte-Justine, Montréal, Canada

² Women's Health Research Institute, British Columbia Women's Hospital and Health Centre, Vancouver, Canada

³ Department of Social and Preventive Medicine, Université de Montréal, CHU Sainte-Justine, Montréal, Canada

⁴ Biochemistry laboratory, CHU Sainte-Justine, Montréal, Canada

§ Corresponding author: Isabelle Boucoiran

CHU Sainte Justine, Department of Obstetrics and Gynecology, 3175 Côte Sainte-Catherine
Montreal QC, H3T 1C5, Canada

+1 514-345-4931

➤ e-mail addresses of authors:

➤ AD: [REDACTED]

➤ DM: [REDACTED]

➤ HT: [REDACTED]

➤ AD: [REDACTED]

➤ JS: [REDACTED]

➤ MB: [REDACTED]

➤ IB: [REDACTED]

Keywords: HIV, pregnancy, antiretroviral therapy, placental function, PAPP-A, free β -hCG, AFP, unconjugated estriol, inhibin-A.

Abstract

Introduction: Antiretroviral therapy (ART) reduces the risk of perinatal HIV transmission. However, some studies have shown an association between the use of ART during pregnancy and perinatal complications, particularly with protease inhibitors (PI), which could be explained through a role in placental dysfunction. Our objective was to evaluate the association of ART (type and duration of exposure) with early placental function using biomarkers used for trisomy 21 screening.

Methods: Clinical and biological data were analyzed for 338 pregnant women living with HIV, and who had been screened for trisomy 21. In the first trimester of pregnancy the biomarkers assayed were pregnancy-associated plasma protein-A (PAPP-A) and free β -human chorionic gonadotrophin (β -hCG). During the second trimester, unconjugated estriol, total hCG, alpha-fetoprotein (AFP) and inhibin A were assessed. The women were drawn from 2 Canadian cohorts of the CHU Sainte-Justine (Montreal) and the BC Women's Hospital (Vancouver). Each biomarker level (after logarithmic transformation) was compared based on 1) the class of ART and 2) the duration of ART exposure, using multiple linear regressions adjusted for confounding factors.

Results: After adjusting for control variables including race, maternal age, gestational age, body mass index, parity, smoking and sex of the fetus, women receiving ART (whether PI or another class) had significantly increased AFP levels ($\beta = 0.139$, 95% CI = [0.055-0.223] and $\beta = 0.141$, 95% CI = [0.043-0.239] respectively) compared to women who received no treatment. However, there were no significant association between ART type, whether PI-based or not, and the level of PAPP-A, free β -hCG, estriol, total hCG and inhibin A. No significant association was shown between serum biomarker concentration and duration of ART exposure.

Conclusion: This study suggests that the serum concentration of trisomy 21 screening biomarkers does not appear to be significantly affected by ART, except for AFP, which increases with early exposure to ART regardless of the type (whether PI or other). This seems reassuring, as use of ART in early pregnancy rapidly increases globally.

Introduction

Women living with HIV have clearly demonstrated a desire to have the option to have children [1]. Combination antiretroviral therapy (cART) reduces the rate of HIV transmission from mother to child to < 1% [2], compared to 15-40% without intervention [3]. cART also improves the woman's state of health, raising quality of life and prolonging life expectancy, leading more and more women living with HIV to conceive [1, 4].

Maternal HIV infection is associated with an increased risk of perinatal complications including stillbirth, intrauterine growth restriction and preterm delivery [5, 6]. These complication rates have decreased since the advent of cART. However, studies of women living with HIV have shown an increase in adverse pregnancy outcomes since the 2000s. This has been postulated to be related to the type of cART used during pregnancy, with protease inhibitor-based regimens (PIs) being the most commonly incriminated [7-11]. The underlying pathophysiologic mechanisms are unclear, but placental dysfunction is suspected. Indeed, preeclampsia has been shown in some studies to be associated with exposure to cART during pregnancy [12-14]. Possible mechanisms include HIV-related placental lesions, the effect of cART on trophoblast function and immune activation [15-18]. Any of these possible mechanisms could lead to placental insufficiency and an increased risk of adverse perinatal outcomes.

Furthermore, following current recommendations, cART is initiated early in pregnancy [19] and a concerted effort is made to treat all affected adults [20, 21]. As a result, most HIV-infected women are already on cART at the time of conception, whereas in the past, cART was formerly initiated only during the second trimester of pregnancy [22]. In addition, first-line treatments of cART during pregnancy have been expanded to incorporate new classes of antiretroviral drugs including integrase inhibitors [23, 24]. The evolution of this approach calls for further studies of the impact on pregnancy of cART type and duration of exposure.

The objective of this study was to evaluate the association between cART type and duration and biomarker levels of trophoblastic invasion and placental function, both in the first trimester with pregnancy-associated plasma protein-A (PAPP-A) and beta subunit of human

chorionic gonadotropin (free β -hCG), and in the second trimester with unconjugated estriol, total hCG, alpha-fetoprotein (AFP) and inhibin A.

Methods

Two databases of pregnant women living with HIV were accessed: a) a prospective cohort from the Maternal and Infantile Center on AIDS (Centre Maternel et Infantile sur le SIDA; CMIS, CHU Sainte-Justine, Montreal, QC), which contains data and serum samples from more than 900 mother-child pairs and continues to recruit approximately 40 pairs per year, and b) the perinatal HIV surveillance database of the Oak Tree Clinic at BC Women's Hospital (Vancouver, BC), which contains data from more than 500 mother-child pairs from across British Columbia, and gathers data for approximately 20 mother-infant pairs annually. Women in the CMIS cohort have been prospectively enrolled and consented at their first pregnancy visit. The perinatal HIV surveillance database of the Oak Tree Clinic is a retrospective cohort approved by local Research Ethics Committee - no consent is needed. Desidentified data of both cohorts are collected and managed using REDCap electronic data capture tools [25].

Data for women from between January 2003 and March 2017 and who had been tested for aneuploidy in the first trimester (10-14 weeks) and/or second trimester (15-21 weeks) of pregnancy were included in this study. Exclusion criteria included multiple pregnancy, major fetal anomalies and aneuploidies.

Gestational age assessment was based on the crown-rump length from the first-trimester ultrasound, if available, or otherwise from the date of the last menstrual period or the second trimester ultrasound.

HIV-infected women were categorized by their exposure to cART at the time of prenatal screening (PI-based cART, other cART, or no treatment). The duration of cART exposure during pregnancy was calculated as weeks since conception.

Placental function was assessed using biomarkers used in clinical practice for detecting trisomy 21 (PAPP-A and free β -hCG during the first trimester, and AFP, unconjugated estriol, hCG, and inhibin-A in the second trimester). These biomarkers were measured with immunoassay methods using kits supplied by various manufacturers over time at the CHU Sainte-Justine: Immulite 2000 from Siemens (2003-2008), AutoDELPHIA Perkin Elmer (2008 -2010), Beckman Coulter's Dxl (2010-2016). In British Columbia, analyses were performed with Perkin Elmer AutoDELPHIA kits only. Specific conversion factors were used [26].

Statistical Analysis

Descriptive analyses were conducted on the socio-demographic, clinical and biological data of the participants. For each categorical and continuous variable, a description of the population with proportions or mean (with standard deviation) or median with interquartile range (IQR), respectively, was performed. The variable distribution was verified.

Multiple linear regression was performed to analyze the association between cART (type and duration of cART exposure) and blood level of different biomarkers, by adjusting for potential confounding factors among the following variables previously identified in the literature [27-33]: ethnicity, parity, maternal age, gestational age, body mass index (BMI), weight, smoking status and sex of the fetus. Confounding variables that resulted in a +/- 10% variation of the regression coefficient when introduced into the bivariate model were retained in the final model. All variables with a $p < 0.05$ value were also included in the final models. The normality assumption of the regression residuals was verified for all regression models; biomarker levels required logarithmic transformation. A value of $p < 0.05$ was considered statistically significant. Statistical analyses were performed with IBM SPSS Statistics for Windows, version 24 (IBM Corp., Armonk, N.Y., USA).

This study was approved by the Research Ethics Committees of CHU Sainte-Justine and the University of British Columbia.

Results

A total of 338 pregnancies out of 985 were available for analysis (see Supplemental figure 1 in appendix). Demographic, clinical and biological characteristics of participants are presented in Table 1. Of the women who had the biomarker assay in their first trimester, more than 75% were receiving cART and 60% were taking PI-based therapy. In the second trimester, almost 90% were receiving cART and 70% were taking PI. The mean duration of cART exposure from the start of pregnancy to first-trimester and second-trimester biomarker analysis was 11.9 ± 3.1 and 13.5 ± 5.1 weeks, respectively.

Figure 1 shows the distribution of the different biomarkers according to the type of cART. The bivariate comparisons are presented in Table 2. After adjustment, women on PI-based cART were significantly more likely to have higher AFP levels ($\beta = 0.147$, 95% CI = [0.067-0.227], $p = 0.000$) compared to women without treatment. This holds true for women using non-PI cART ($\beta = 0.176$, 95% CI = [0.080-0.272], $p = 0.000$). However, there is no other significant association between the class of cART (whether PI-based or otherwise) and the level of PAPP-A, free β -hCG, estriol, total hCG and inhibin A (Table 2). Furthermore, there was no significant association between serum biomarker concentration and duration of cART exposure in general, or PI-based therapy in particular (Table 2).

Discussion

Our study shows that for women living with HIV, biomarkers of placental function used in the first and second trimesters for aneuploidy screening are not significantly associated with cART, apart from AFP.

Although data on placental function (laboratory biomarker assays) were obtained objectively with measurement tools whose reliability and validity were verified, the heterogeneity of the assay techniques used during the study period and cART regimens may limit the results our study. Additionally, we could not determine the effect of HIV itself on biomarker levels due to the absence of control groups. However, the size of our sample was larger than that of previous studies [4, 15, 16, 34-37]. This implies a greater statistical power of analysis and

allowed us to compare women according to the type of cART they were receiving. We also attempted to eliminate bias by rigorously adjusting for potential confounding factors. This adjustment was not done for all factors in previously published studies. The discrepancies between our results and those from the literature could therefore be explained by differences in adjustment procedure, control groups, the multicentric nature of the study or biomarker assay techniques.

Recruitment from two different sites (Montreal and Vancouver) makes our sample more representative of the Canadian population. However, nearly 65% of cohort participants had not been tested for aneuploidy, usually due to the refusal of the screening or the late initiation of prenatal care, which limits the generalization of our results. Indeed, a difference between the study participants and the rest of the cohort could introduce a problem of external validity, which is why we compared the group of women tested with the untested women (data not shown). The comparison revealed significant differences in some variables (age, ethnicity, smoking, CD4 values, undetectable viral load, existence of ART at conception). But the high number of missing values in the group of untested women makes these results difficult to interpret. It is therefore possible that there are real differences between our sample and the rest of the cohort, which limit the generalization of our results. These differences could be explained by the increase in the number of screening over time. The recruitment of most of the women tested was more recent than the untested cohorts. The evolution of ART recommendations, starting earlier and earlier in pregnancy and even before, has resulted in an increase in women on ART in the tested group. This explains the higher number of women with undetectable viral load and the higher CD4 values in this group. Ultimately, our sample does not appear to be similar to the rest of the cohort, but it may be more representative of the current population of women living with HIV in Canada.

Biomarkers of the first trimester of pregnancy

Although not statistically significant, free β -hCG values were slightly lower in cART treated women compared with untreated women. This trend was reported by 3 previous studies, whether PI-based or other cART [34-36]. This suggests a possible cross-class effect of cART or an effect of viral control itself, which deserves further investigation given the

immunomodulatory properties of β -hCG [38, 39]. In our study, as in previous ones [34, 35], PAPP-A levels were not significantly affected by cART. Since PAPP-A is a protein that plays an important role in the local proliferative response, notably in trophoblastic invasion [40], a sub-normal value is associated with an increased risk of undesirable obstetrical outcomes [41].

Biomarkers of the second trimester of pregnancy

Our results show that AFP serum concentration is significantly increased in HIV-infected pregnant women receiving cART (whether PI-based or not) compared with untreated women, while still remaining within normal ranges [42, 43]. Our results corroborate those found by Le Meaux et al. of 132 subjects, where untreated HIV-infected women were noted to have a lower AFP serum concentration than women receiving cART or uninfected women in the control group. They hypothesized that HIV infection may be responsible for a decrease in AFP concentration that may be restored with cART [16]. At this stage of pregnancy, AFP is synthesized exclusively by the fetal liver [44] and its release into the placenta is due to an active transport process [45]. A low concentration of AFP in HIV-infected women may therefore be due to a disruption of AFP transport through the placenta [16]. The role of AFP is not completely understood. It seems to participate in fetal growth regulation through the adjustment of interstitial architecture [46]. Its 'normalization' attributable to cART may correspond to a lower rate of intrauterine growth restriction for women receiving cART, compared to women living with untreated HIV [47].

Previous studies have shown conflicting results on the effect of HIV infection and cART on other second-trimester biomarkers [15-17, 37, 48]. Most of these reports are case-control studies comparing women living with HIV to uninfected women, including heterogeneous cART groups and a relatively small number of subjects. Einstein et al. [15] examined the impact of cART on biomarker levels of 39 HIV-infected pregnant women and found no significant difference of AFP, hCG and unconjugated estriol levels between treated and untreated women. In these studies, the serum marker concentration is expressed as a multiple of the median (MoM), but adjustment procedures and control variables were not specified. Similarly, in a study of 55 HIV-positive women receiving PI-based cART and 49 negative

HIV controls, there was no difference in estradiol (E2) concentration between 12 and 18 weeks of pregnancy (median [IQR] = 5400 µg/ml [3787-8585] vs 5572 µg/ml [4186-7143], $p = 0.96$) [49]. It should be noted that this study, which reports unadjusted results, found higher levels of E2 in HIV-positive women receiving PI-based cART compared with the control group from 24 weeks of pregnancy (median [IQR] = 38,116 µg/ml [17,890-54,400] vs 16,854 µg/ml [10,938-33,683], $p = 0.0011$).

To our knowledge, no study has examined the impact of cART duration and PI exposure on biomarker concentrations of interest in the first and second trimesters. Since our assessment of cART impact on biomarkers ended at 21 weeks of pregnancy, we were unable to identify subsequent biomarker perturbations. Balogun et al. [49] reported that women exposed to PI prior to conception had higher E2 concentrations in the umbilical cord than those who initiated treatment after conception. In addition, they observed a negative correlation between umbilical cord E2 concentration and duration of PI exposure, suggesting that early exposure to PI could result in greater dysregulation of E2 and increased fetal exposure to elevated levels of E2.

Conclusion

This study suggests that cART, whether PI-based or not, is associated with an increased level of AFP in the second trimester of pregnancy, but we were unable to show an association with the duration of cART exposure. Serum concentrations of free β -hCG and PAPP-A (in the first trimester) or unconjugated estriol, HCG and inhibin A (in the second trimester) were not significantly associated with cART, irrespective of PI use. These observations seem generally reassuring for the consequences of early cART use during pregnancy. However, further in-depth studies are needed, particularly in the second and third trimesters, to better understand the relationship between cART and placental function.

Competing interests

The authors have no conflicts of interest to declare.

Acknowledgements

We thank everyone at the CHU Sainte-Justine AIDS Center (CMIS), the Oak Tree Clinic staff at BC Women's Hospital (Vancouver, BC) and all the women from both cohorts for their contributions to the success of this project.

Funding: This study was funded by the AIDS and Infectious Disease Network (SIDA / MI) of the *Fonds de recherche du Québec - Santé* (FRQS). IB and HT hold a salary award (*chercheur-boursier*) from the *Fonds de la recherche du Québec - Santé* (FRQS) and HT has a new investigator salary award from the Canadian Institutes of Health Research (CIHR).

Authors' contributions

- A.D. Ameyo Djeha:
 - coordinated and carried out the submission and the follow-up of the project to the Research Ethics Committee of CHU Sainte-Justine, along with the director and the research coordinator;
 - performed the quantitative analysis of the data;
 - created the first draft of the article and subsequent revisions;
 - modified the manuscript following the comments of the co-authors;
- D.M. Deborah Money:
 - provided access to Oak Tree Clinic data
 - reviewed the manuscript
- H.T. Helen Trottier:
 - contributed to the development of methods and the statistical analysis of data.
 - reviewed the manuscript
- A.D. Anissa Djemli:
 - provided expertise in conversion of aneuploidy screening biomarkers.
 - reviewed the manuscript
- Julie van Schalkwyk
 - reviewed the manuscript
- M.B. Marc Boucher:
 - reviewed the study design

- revised the manuscript.
 - I.B. Isabelle Boucoiran:
 - designed the research protocol and secured funding;
 - directed students working on the project;
 - supervised the analysis and interpretation of the results;
 - revised the manuscript.

All co-authors provided suggestions and comments throughout the project, revised the manuscript and approved the final version.

Additional files

Additional file 1: Supplemental figure 1. Flow chart of the inclusion/exclusion criteria.

Figure is included as separate file, in a single PDF document.

References

1. Loutfy MR, Margolese S, Money DM, Gysler M, Hamilton S, Yudin MH. Canadian HIV pregnancy planning guidelines. *International Journal of Gynecology & Obstetrics*. 2012;119(1):89-99.
2. Public Health Agency of Canada. HIV and AIDS in Canada: Surveillance Report to December 31, 2014. Ottawa: Minister of Public Works and Government Services Canada; 2015.
3. Siegfried N, van der Merwe L, Brocklehurst P, Sint TT. Antiretrovirals for reducing the risk of mother - to - child transmission of HIV infection. *The Cochrane Library*. 2011.
4. Charlton TG, Franklin JM, Douglas M, Short CE, Mills I, Smith R, et al. The impact of HIV infection and antiretroviral therapy on the predicted risk of Down syndrome. *Prenatal diagnosis*. 2014;34(2):121-7.
5. Brocklehurst P, French R. The association between maternal HIV infection and perinatal outcome: a systematic review of the literature and meta - analysis. *BJOG: An International Journal of Obstetrics & Gynaecology*. 1998;105(8):836-48.
6. Wedi CO, Kirtley S, Hopewell S, Corrigan R, Kennedy SH, Hemelaar J. Perinatal outcomes associated with maternal HIV infection: a systematic review and meta-analysis. *The Lancet HIV*. 2016;3(1):e33-e48.
7. Lopez M, Figueras F, Hernandez S, Lonca M, Garcia R, Palacio M, et al. Association of HIV infection with spontaneous and iatrogenic preterm delivery: effect of HAART. *Aids*. 2012;26(1):37-43.
8. Chen JY, Ribaud HJ, Souda S, Parekh N, Ogwu A, Lockman S, et al. Highly active antiretroviral therapy and adverse birth outcomes among HIV-infected women in Botswana. *Journal of Infectious Diseases*. 2012;206(11):1695-705.

9. Li N, Sando MM, Spiegelman D, Hertzmark E, Liu E, Sando D, et al. Antiretroviral therapy in relation to birth outcomes among HIV-infected women: a cohort study. *Journal of Infectious Diseases*. 2015;jiv389.
10. Alemu FM, Yalew AW, Fantahun M, Ashu EE. Antiretroviral Therapy and Pregnancy Outcomes in Developing Countries: A Systematic Review. *International journal of MCH and AIDS*. 2015;3(1):31.
11. Papp E, Mohammadi H, Loutfy MR, Yudin MH, Murphy KE, Walmsley SL, et al. HIV protease inhibitor use during pregnancy is associated with decreased progesterone levels, suggesting a potential mechanism contributing to fetal growth restriction. *Journal of Infectious Diseases*. 2015;211(1):10-8.
12. Suy A, Martinez E, Coll O, Lonca M, Palacio M, de Lazzari E, et al. Increased risk of pre-eclampsia and fetal death in HIV-infected pregnant women receiving highly active antiretroviral therapy. *AIDS*. 2006;20(1):59-66.
13. Wimalasundera R, Larbalestier N, Smith J, De Ruiter A, Thom SM, Hughes A, et al. Pre-eclampsia, antiretroviral therapy, and immune reconstitution. *The Lancet*. 2002;360(9340):1152-4.
14. Sansone M, Sarno L, Saccone G, Berghella V, Maruotti GM, Migliucci A, et al. Risk of Preeclampsia in Human Immunodeficiency Virus–Infected Pregnant Women. *Obstetrics & Gynecology*. 2016;127(6):1027-32.
15. Einstein FH, Wright RL, Trentacoste S, Gross S, Merkatz IR, Bernstein PS. The impact of protease inhibitors on maternal serum screening analyte levels in pregnant women who are HIV positive. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*. 2004;191(3):1004-8.
16. Le Meaux J-P, Tsatsaris V, Schmitz T, Fulla Y, Launay O, Goffinet F, et al. Maternal Biochemical Serum Screening for Down Syndrome in Pregnancy With Human Immunodeficiency Virus Infection. *Obstetrics & Gynecology*. 2008;112(2, Part 1):223-30.
17. Gross S, Castillo W, Crane M, Espinosa B, Carter S, DeVeaux R, et al. Maternal serum α -fetoprotein and human chorionic gonadotropin levels in women with human immunodeficiency virus. *American journal of obstetrics and gynecology*. 2003;188(4):1052-6.
18. Ackerman Iv W, J. Kwiek J. Role of the Placenta in Adverse Perinatal Outcomes among HIV-1 Seropositive Women. *Journal of Nippon Medical School*. 2013;80(2):90-4.
19. Money D, Tulloch K, Boucoiran I, Caddy S, Yudin MH, Allen V, et al. Guidelines for the care of pregnant women living with HIV and interventions to reduce perinatal transmission: Executive summary. *Journal of obstetrics and gynaecology Canada*. 2014;36(8):721-34.
20. Department of Health and Human Services. Panel on Antiretroviral Guidelines for Adults and Adolescents. Guidelines for the use of antiretroviral agents in HIV-1-infected adults and adolescents. Department of Health and Human Services; 2016.
21. OMS. VIH/sida : Aide-mémoire N°360 2016 [Available from: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs360/fr/>].
22. Burdge DR, Money DM, Forbes JC, Walmsley SL, Smaill FM, Boucher M, et al. Canadian consensus guidelines for the management of pregnant HIV-positive women and their offspring. *CMAJ*. 2003;168(13):1671-4.
23. Hegazi A, Mc Keown D, Doerholt K, Donaghy S, Sadiq ST, Hay P. Raltegravir in the prevention of mother-to-child transmission of HIV-1: effective transplacental transfer and delayed plasma clearance observed in preterm neonates. *AIDS*. 2012;26(18):2421-3.

24. Schalkwijk S, Greupink R, Colbers AP, Wouterse AC, Verweij VG, van Drongelen J, et al. Placental transfer of the HIV integrase inhibitor dolutegravir in an ex vivo human cotyledon perfusion model. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 2016;71(2):480-3.
25. Harris PA, Taylor R, Thielke R, Payne J, Gonzalez N, Conde JG. Research electronic data capture (REDCap)--a metadata-driven methodology and workflow process for providing translational research informatics support. *J Biomed Inform*. 2009;42(2):377-81.
26. Lambert-Messerlian G, Palomaki GE, Canick JA. Examination of the pregnancy-associated plasma protein-A assay on the Beckman Coulter Access® platform: suitability for use in first trimester Down's syndrome screening. *Journal of Medical Screening*. 2010;17(3):109-13.
27. Kagan K, Wright D, Spencer K, Molina F, Nicolaides K. First - trimester screening for trisomy 21 by free beta - human chorionic gonadotropin and pregnancy - associated plasma protein - A: impact of maternal and pregnancy characteristics. *Ultrasound in Obstetrics & Gynecology*. 2008;31(5):493-502.
28. Madsen HN, Ekelund CK, Tørring N, Ovesen PG, Friis-Hansen L, Ringholm L, et al. Impact of type 1 diabetes and glycemic control on fetal aneuploidy biochemical markers. *Acta Obstetrica et Gynecologica Scandinavica*. 2012;91(1):57-61.
29. Spencer K, Bindra R, Nicolaides KH. Maternal weight correction of maternal serum PAPP - A and free β - hCG MoM when screening for trisomy 21 in the first trimester of pregnancy. *Prenatal diagnosis*. 2003;23(10):851-5.
30. Spencer K, Ong CYT, Liao AWJ, Nicolaides KH. The influence of ethnic origin on first trimester biochemical markers of chromosomal abnormalities. *Prenatal Diagnosis*. 2000;20(6):491-4.
31. Spencer K. The influence of fetal sex in screening for Down syndrome in the second trimester using AFP and free β - hCG. *Prenatal diagnosis*. 2000;20(8):648-51.
32. Reynolds TM, Vranken G, Van Nueten J. Weight correction of MoM values: which method? *Journal of clinical pathology*. 2006;59(7):753-8.
33. Wald NJ, Kennard A, Hackshaw A, McGuire A. Antenatal Screening for Down's Syndrome. *Journal of Medical Screening*. 1997;4(4):181-246.
34. Chougrani I, Muller F, Marcelin L, Tsatsaris V, Abric J, Luton D, et al. Combined first-trimester Down syndrome screening in HIV-infected women. *European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology*. 2016;203:274-8.
35. Savvidou MD, Samuel I, Syngelaki A, Poulton M, Nicolaides KH. First-trimester markers of aneuploidy in women positive for HIV. *BJOG*. 2011;118(7):844-8.
36. Brossard P, Boulvain M, Coll O, Barlow P, Aebi-Popp K, Bischof P, et al. Is screening for fetal anomalies reliable in HIV-infected pregnant women? A multicentre study. *Aids*. 2008;22(15):2013-7.
37. Yudin MH, Prosen TL, Landers DV. Multiple-marker screening in human immunodeficiency virus-positive pregnant women: screen positivity rates with the triple and quad screens. *American journal of obstetrics and gynecology*. 2003;189(4):973-6.
38. Polliotti B, Gnall-Sazenski S, Laughlin T, Miller R. Inhibitory effects of human chorionic gonadotropin (hCG) preparations on HIV infection of human placenta in vitro. *Placenta*. 2002;23:S102-S6.

39. Lin J, Lojun S, Lei Z, Wu W, Peiner S, Rao CV. Lymphocytes from pregnant women express human chorionic gonadotropin/luteinizing hormone receptor gene. *Molecular and cellular endocrinology*. 1995;111(1):R13-R7.
40. Conover CA, Bale LK, Overgaard MT, Johnstone EW, Laursen UH, Füchtbauer E-M, et al. Metalloproteinase pregnancy-associated plasma protein A is a critical growth regulatory factor during fetal development. *Development*. 2004;131(5):1187-94.
41. Gagnon A, Wilson RD, Audibert F, Allen VM, Blight C, Brock J-A, et al. Complications obstétricales associées aux analytes anormaux des marqueurs sériques maternels. *Journal of Obstetrics and Gynaecology Canada*. 2008;30(10):933-49.
42. Geyl C, Subtil D, Vaast P, Coulon C, Clouqueur E, Deruelle P, et al. Interprétation des valeurs atypiques des marqueurs sériques. *Journal de Gynécologie Obstétrique et Biologie de la Reproduction*. 2014;43(1):5-11.
43. Mizejewski GJ. Levels of alpha-fetoprotein during pregnancy and early infancy in normal and disease states. *Obstetrical & gynecological survey*. 2003;58(12):804-26.
44. Duc-Goiran P, Mignot T, Robert B, Machavoine F, Mondon F, Hagnere A, et al. Expression and localization of alpha-fetoprotein mRNA and protein in human early villous trophoblasts. *Placenta*. 2006;27(8):812-21.
45. Newby D, Dalgliesh G, Lyall F, Aitken D. Alphafetoprotein and alphafetoprotein receptor expression in the normal human placenta at term. *Placenta*. 2005;26(2):190-200.
46. Mizejewski GJ. Alpha-fetoprotein structure and function: relevance to isoforms, epitopes, and conformational variants. *Experimental biology and medicine*. 2001;226(5):377-408.
47. Schulte J, Dominguez K, Sukalac T, Bohannon B, Fowler MG. Declines in low birth weight and preterm birth among infants who were born to HIV-infected women during an era of increased use of maternal antiretroviral drugs: Pediatric Spectrum of HIV Disease, 1989-2004. *Pediatrics*. 2007;119(4):e900-6.
48. Spencer K. First and Second Trimester Markers of Fetal Aneuploidy in Pregnant Women with HIV Infection. *Fetal Diagnosis and Therapy*. 2011;29(2):135-8.
49. Balogun KA, Lenis MG, Papp E, Loutfy M, Yudin MH, MacGillivray J, et al. Elevated levels of estradiol in HIV-positive pregnant women on protease inhibitor-based regimens. *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America*. 2017.

Table 1. Population Characteristics

| Characteristics | Results |
|--|----------------------|
| Maternal age at term, years, mean \pm SD | 32.14 \pm 5.59 |
| Ethnic Group, <i>n</i> (%) | |
| Afro-Caribbean | 211 (62.6) |
| Caucasian | 77 (22.8) |
| Other | 49 (14.5) |
| BMI, kg/m², median [IQR] | 26.29 [22.96- 30.4] |
| Nulliparous, <i>n</i> (%) | 110 (32.5) |
| Smoker, <i>n</i> (%) | |
| First trimester | 70 (20.7) |
| Second trimester | 43 (12.7) |
| Pre-gestational diabetes, <i>n</i> (%) | 2 (0.6) |
| Spontaneous conception, <i>n</i> (%) | 321 (98.2) |
| Fetal sex, <i>n</i> (%) | |
| Male | 163 (48.8) |
| CD4[†], median [IQR] | |
| Absolute, /mm ³ | 531 [341.25- 703.75] |
| Percentage | 32 [24- 39] |
| Undetectable viral load[†], <i>n</i> (%) | 203 (60.1) |
| cART in first trimester, <i>n</i> (%) | |
| NRTIs + PIs | 190 (79.5) |
| NRTIs + NNRTIs | 21 (8.8) |
| NRTIs + INSTIs | 28 (7.2) |
| None | 73 (23.4) |
| cART in second trimester, <i>n</i> (%) | |
| NRTIs + PIs | 154 (79.4) |
| NRTIs + NNRTIs | 11 (5.7) |
| NRTIs + INSTIs | 29 (14.9) |
| None | 27 (12.2) |

SD: standard deviation; BMI: body mass index; IQR: interquartile range; cART: combination antiretroviral therapy, NRTIs: Nucleoside reverse transcriptase inhibitors, NNRTIs: Non-nucleoside reverse transcriptase inhibitors, PIs : Protease inhibitors, INSTIs : Integrase strand transfer inhibitors, IUGR : Intrauterine growth restriction

[†] in the first trimester of pregnancy

Table 2. Association between biomarkers and cART (type and duration)[†]

| Biomarker | Crude coefficient (β) | CI (95%) | p-value | Adjusted coefficient (β)[‡] | CI (95%) | p-value |
|------------------------------|------------------------------|-----------------|----------------|---|-----------------|----------------|
| PAPP-A | | | | | | |
| PI-based cART | 0.057 | -0.046 – 0.160 | 0.280 | 0.002 | -0.091 – 0.095 | 0.968 |
| Other cART | 0.074 | -0.062 – 0.211 | 0.286 | -0.006 | -0.127 – 0.115 | 0.926 |
| cART exposure duration | 0.025 | 0.007 – 0.043 | 0.007 | -0.001 | -0.017 – 0.016 | 0.948 |
| PI exposure duration | 0.037 | 0.015 – 0.059 | 0.001 | 0.009 | -0.010 – 0.029 | 0.345 |
| Free B-hCG | | | | | | |
| PI-based cART | -0.102 | -0.229 – 0.025 | 0.116 | -0.131 | -0.264 – 0.001 | 0.052 |
| Other cART | -0.123 | -0.364 – 0.118 | 0.314 | -0.164 | -0.436 – 0.108 | 0.232 |
| cART exposure duration | -0.011 | -0.042 – 0.021 | 0.505 | -0.012 | -0.043 – 0.019 | 0.446 |
| PI exposure duration | 0.004 | -0.031 – 0.040 | 0.801 | 0.010 | -0.027 – 0.047 | 0.586 |
| AFP | | | | | | |
| PI-based cART | 0.153 | 0.069 – 0.236 | 0.000 | 0.147 | 0.067 – 0.227 | <0.001 |
| Other cART | 0.191 | 0.091 – 0.292 | 0.000 | 0.176 | 0.080 – 0.272 | <0.001 |
| cART exposure duration | 0.004 | -0.002 – 0.010 | 0.278 | -0.002 | -0.009 – 0.004 | 0.432 |
| PI exposure duration | 0.000 | -0.007 – 0.007 | 0.928 | -0.006 | -0.013 – 0.002 | 0.166 |
| Unconjugated oestriol | | | | | | |
| PI-based cART | 0.026 | -0.072 – 0.125 | 0.600 | 0.031 | -0.046 – 0.108 | 0.429 |
| Other cART | 0.058 | -0.060 – 0.175 | 0.333 | 0.055 | -0.036 – 0.146 | 0.231 |
| cART exposure duration | 0.012 | 0.006 – 0.019 | 0.000 | 0.004 | -0.001 – 0.010 | 0.122 |
| PI exposure duration | 0.008 | 0.000 – 0.015 | 0.049 | 0.004 | -0.002 – 0.010 | 0.222 |
| Total hCG | | | | | | |
| PI-based cART | 0.023 | -0.105 – 0.152 | 0.723 | -0.001 | -0.125 – 0.124 | 0.990 |
| Other cART | 0.145 | -0.008 – 0.298 | 0.063 | 0.125 | -0.022 – 0.272 | 0.096 |
| cART exposure duration | -0.006 | -0.015 – 0.003 | 0.187 | -0.003 | -0.012 – 0.007 | 0.544 |
| PI exposure duration | 0.000 | -0.010 – 0.010 | 0.984 | 3.592E-5 | -0.010 – 0.011 | 0.995 |
| Inhibin A | | | | | | |
| PI-based cART | 0.032 | -0.060 – 0.124 | 0.495 | 0.055 | -0.046 – 0.157 | 0.281 |
| Other cART | 0.031 | -0.079 – 0.140 | 0.583 | 0.062 | -0.057 – 0.182 | 0.305 |
| cART exposure duration | 0.001 | -0.005 – 0.008 | 0.740 | -0.001 | -0.009 – 0.006 | 0.696 |
| PI exposure duration | 0.002 | -0.006 – 0.009 | 0.662 | 0.001 | -0.008 – 0.010 | 0.814 |

cART: combination antiretroviral therapy; PI: protease inhibitor; CI: confidence interval

[†] Control: no cART

[‡] Adjusted for the following control variables: race, maternal age, gestational age at the date of screening, body mass index, parity, smoking and fetal sex

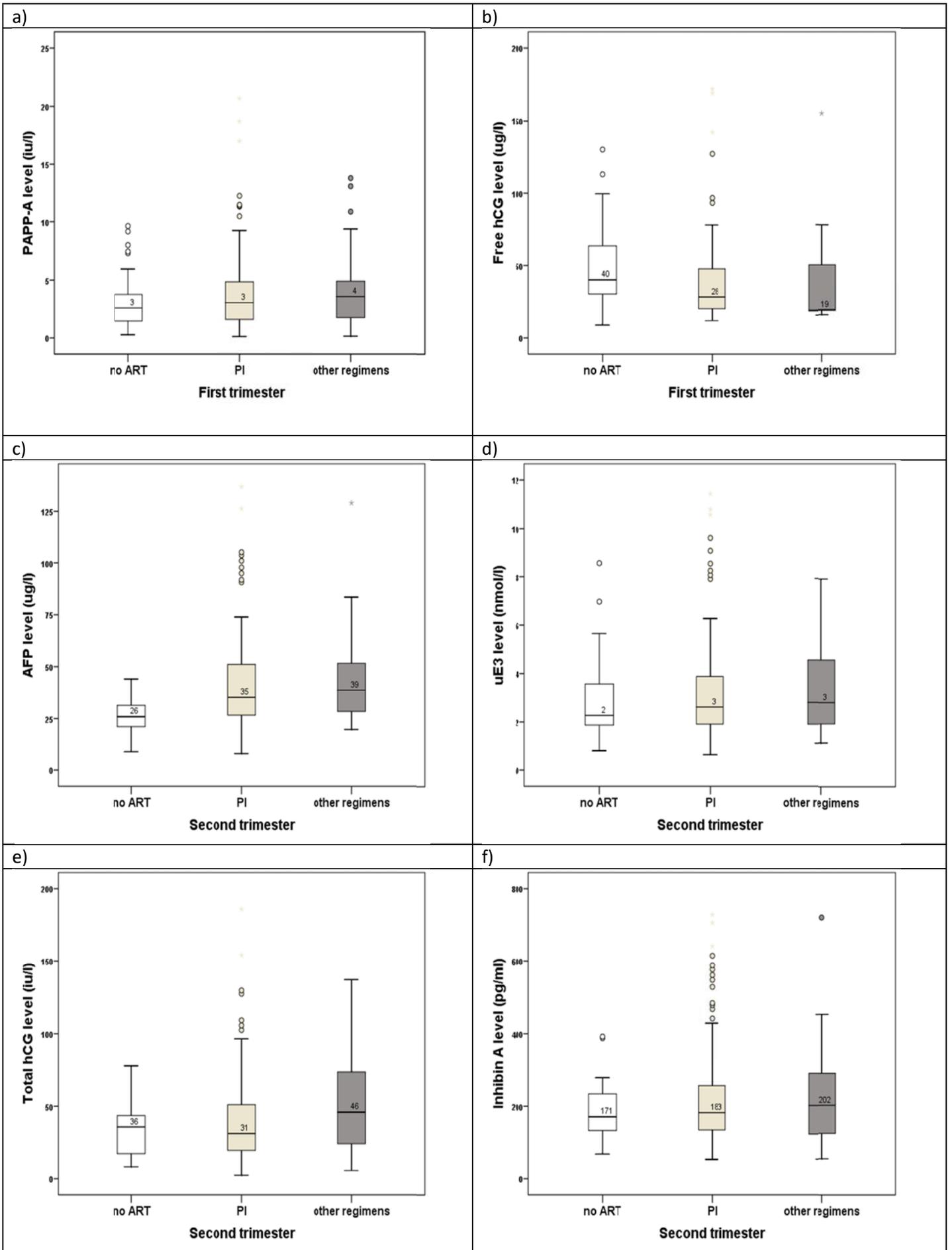
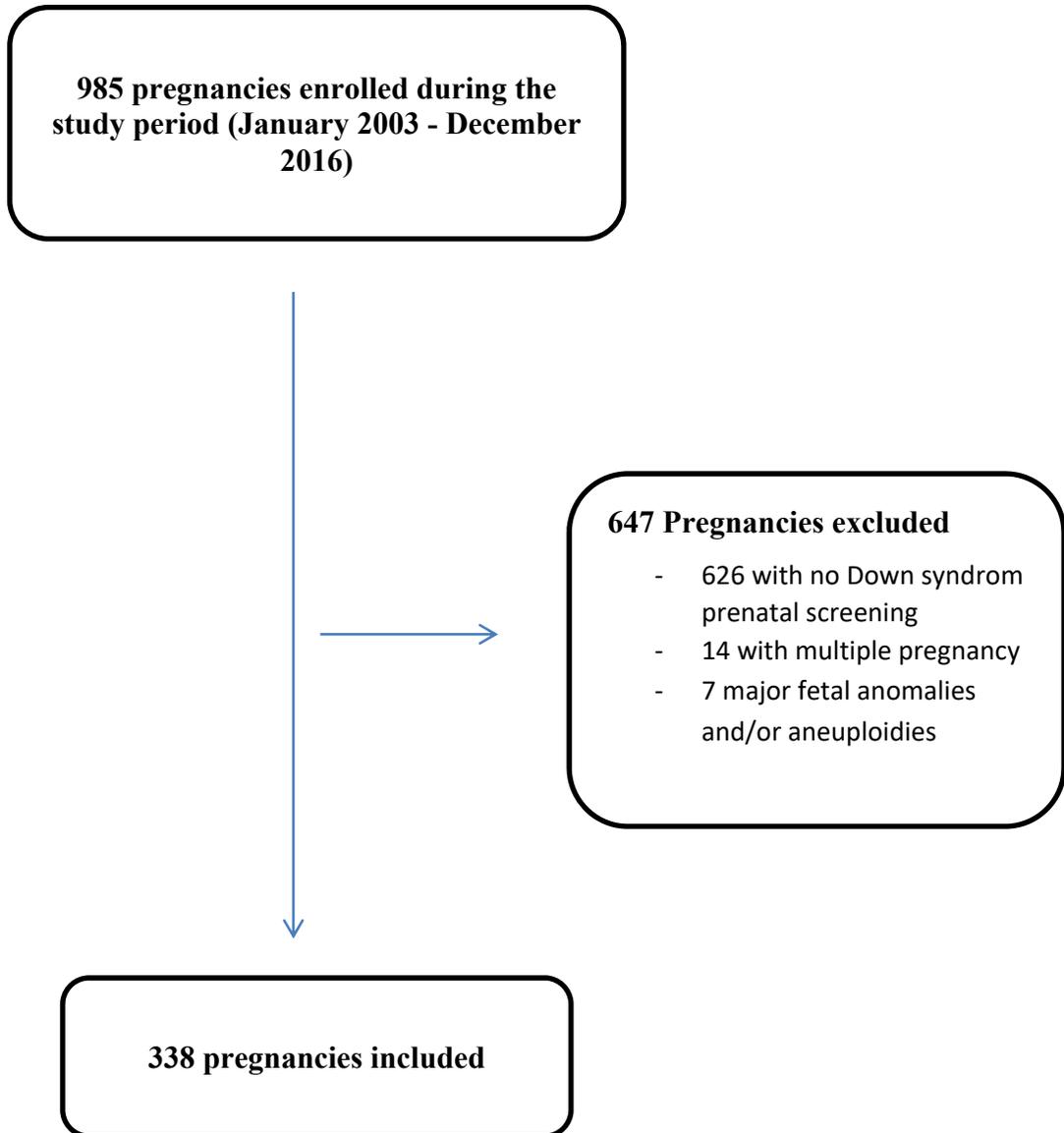


Figure 1. Distribution of different biomarkers by class of antiretroviral therapy (ART)

(Box-and-whiskers representation) (a) Pregnancy-associated plasma protein-A -PAPP-A, n= 303, (b) free β -human chorionic gonadotrophin -Free β -hCG, n= 100, (c) alpha-fetoprotein -AFP, n= 223, (d) Unconjugated estriol – uE3, n= 224, (e) hCG total, n= 233, (f) Inhibin A, n= 226.

PI: protease inhibitor; ART: antiretroviral therapy

Boxes extend from the 25th percentile to the 75th percentile (i.e. the interquartile range); lines inside boxes represent median values. Lines emerging from boxes (i.e. the whiskers) extend to the upper and lower adjacent values. The lower adjacent value provides an estimate of the lower limit of the array and represents the first quartile value less 1.5 times the difference between the first and third quartiles. The upper adjacent value provides an estimate of the upper limit of the array and represents the third quartile value plus 1.5 times the difference between the first and third quartiles. Values outside these limits are outliers represented by dots.



Supplemental figure 1. Flow chart of the inclusion/exclusion criteria.

5.2 Résultats complémentaires à l'article 1

5.2.1 Pourcentage de faux positif au test de dépistage des aneuploïdies

Le dépistage était positif chez 19 femmes dont les enfants se sont révélés normaux donc une proportion de faux positif de 5.62%.

5.3 Article 2

NO ASSOCIATION BETWEEN ANTIRETROVIRAL THERAPY DURING PREGNANCY AND PLASMA LEVELS OF ANGIOGENIC FACTORS

Ameyo Djeha¹, Sylvie Girard^{1,2}, Helen Trottier^{2,4}, Fatima Kakkar^{5,6,7}, Hugo Soudeyns^{7,8,9}, Marc Boucher^{1,3,5}, Normand Lapointe^{5,7}, Isabelle Boucoiran^{1,2,3,5§}

¹Department of Obstetrics and Gynecology, Faculty of Medicine, Université de Montréal, Montreal, Canada;

²Centre de recherche du CHU Sainte-Justine, Montreal, Canada;

³ Department of Obstetrics and Gynecology, Centre hospitalier universitaire (CHU) Sainte-Justine, Montreal, Canada;

⁴Department of Social and Preventive Medicine, Faculty of Medicine, Université de Montréal;

⁵Centre maternel et infantile sur le SIDA (CMIS), CHU Sainte-Justine, Montreal, Canada;

⁶Division of Infectious Diseases, CHU Sainte-Justine, Montreal, Canada;

⁷Department of Pediatrics, Faculty of Medicine, Université de Montréal, Montreal, Canada;

⁸Unité d'immunopathologie virale, Centre de recherche du CHU Sainte-Justine, Montreal, Canada;

⁹Department of Microbiology, Infectiology & Immunology, Faculty of Medicine, Université de Montréal, Montreal, Canada.

§ Corresponding author: Isabelle Boucoiran

CHU Sainte Justine, Department of Obstetrics and Gynecology, 3175 Côte Sainte-Catherine
Montreal Qc, H3T 1C5, Canada

+1 514-345-493

E-mail addresses of authors:

AD: [REDACTED]

SG: [REDACTED]

HT: [REDACTED]

FK: [REDACTED]

HS: [REDACTED]

MB: [REDACTED]

NL: [REDACTED]

IB: [REDACTED]

Keywords: HIV; pregnancy; antiretroviral therapy; placental function; PIGF; sFlt-1.

Abstract

Introduction: The increasingly widespread use of early antiretroviral therapy (ART) during pregnancy has significantly reduced the rate of perinatal HIV transmission. However, studies have shown an association between premature delivery and the use of ART during pregnancy (particularly protease inhibitor (PI)-based therapies), which could be explained by induction of placental dysfunction. The objective of this study was to evaluate the association of ART (class, duration of exposure and time of initiation) with placental function by using angiogenic factors placental growth factor (PlGF) and soluble fms-like tyrosine kinase-1 (sFlt-1) as biomarkers.

Methods: Clinical and biological data from 159 pregnant women living with HIV were analyzed. Levels of each biomarker were measured in the first and second trimester of pregnancy. After logarithmic transformation, they were compared using generalized estimating equations according to a) the type of ART; b) the duration of exposure to ART; and c) the time of initiation of ART.

Results: After adjustment for variables including ethnicity, maternal age, gestational age, body mass index, parity, smoking status, and gender of the fetus, we found no significant association between the class of ART (PI-based or not) and serum concentrations of PlGF or sFlt-1. Furthermore, no significant association was found between biomarker levels and the duration of ART exposure or the timing of ART initiation (pre- or post-conception).

Conclusion: This study suggests that first and second trimester angiogenic factor levels do not appear to be significantly associated with ART, regardless of the duration or type (with or without PI). These observations seem reassuring when considering the use of ART during early pregnancy.

Introduction

An estimated 17.8 million of the 36.7 million people living with HIV in 2016 were women of childbearing age (15 years and older) [1]. Despite their infection, many of these women desire to have children [2]. Antiretroviral therapy (ART) reduces the rate of HIV transmission from mother to child to 1-2%, compared to 15-40% without intervention [3]. ART also improves the health status of the mothers, raises their quality of life and prolongs their life expectancy, leading more and more women living with HIV to conceive [2]. According to current recommendations, all adults living with HIV should be treated with ART [4]. As a result, most HIV-infected women are already on ART at the time of conception and early pregnancy, whereas in the past ART was initiated only in the second trimester of pregnancy [5].

Although ART has reduced rates of adverse perinatal outcomes such as stillbirth, intrauterine growth restriction and preterm birth associated with maternal HIV infection [6, 7], these rates are still higher for women living with HIV while receiving ART compared to HIV-negative women [8-14]. These adverse pregnancy outcomes may be related to the class of ART used during pregnancy, notably to protease inhibitor (PI) regimens [8, 9, 14-18].

Antiangiogenic effects have been reported following the use of some PIs [19, 20]. Placental growth factor (PlGF) and the soluble receptor, soluble fms-like tyrosine kinase-1 (sFlt-1) are respectively pro- and anti-angiogenic factors. During pregnancy, they are released into the maternal circulation by the placenta and participate in vasculogenesis and fetoplacental angiogenesis. Increased sFlt-1 and decreased free PlGF levels in maternal blood, or increased sFlt-1/ PlGF ratio are directly implicated in the pathophysiology of preeclampsia, including maternal endothelial dysfunction [21-28]. A change in these factors is also associated with other complications during pregnancy, such as intrauterine growth restriction [26, 29], premature delivery [30], spontaneous abortion and stillbirth [25, 31, 32], suggesting that placental stress reactions triggered by poor placental perfusion may lead to systemic changes in angiogenic factors [33-35]. These observations have been noted in cohorts of women living with HIV [36].

We hypothesized that pregnant women living with HIV who receive PI-based ART may have impaired placental function compared to untreated women living with HIV, altering the plasma concentration of the angiogenic factors placental growth factor (PlGF) and soluble fms-like tyrosine kinase-1 (sFlt-1). These disturbances could be influenced by the duration of ART exposure or by the timing of ART initiation. The objective of this study was to evaluate the association of the class, duration and timing of initiation of ART with serum concentrations of PlGF and sFlt-1 biomarkers, in the first and second trimesters of pregnancy.

Methods

This study used data from the database of pregnant women living with HIV who were consented and enrolled at their first perinatal visit in the prospective cohort of Centre maternel et infantile sur le SIDA (CMIS), CHU Sainte-Justine, Montreal, QC, Canada. The CMIS database and biobank contain information and biologic samples from more than 900 mother-child pairs and enrolls approximately 40 additional pairs annually. Desidentified data are collected and managed using REDCap electronic data capture tools [37].

This study included data from pregnant women who were enrolled between January 2003 and March 2017 who underwent blood testing during the first trimester (5-14 weeks) and second trimester (15-28 weeks) of pregnancy. Maternal serum samples collected during clinical visits were stored at -80°C. Levels of PlGF and sFlt-1 were measured using DuoSet Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA) kits (R&D systems, Minneapolis, MN). Lower limits of detection were 15.6 pg/ml (sFlt-1) and 62.5 pg/ml (PlGF). In all cases, both biomarkers were assayed using the same serum aliquot.

Gestational age was defined based on the crown-rump length from the first-trimester ultrasound, if available, and otherwise from the date of the last menstrual period or the second trimester ultrasound.

Women living with HIV were categorized according to ART exposure at first and second trimester (PI-based ART, other ART, or no treatment). The duration of ART exposure during

pregnancy was expressed in weeks since conception. Time of initiation of ART was defined relative to conception (either before conception or during pregnancy).

Statistical analysis

Descriptive analyses were conducted on the socio-demographic, clinical and biological data of the participants. For each categorical and continuous variable, a description of the sample with proportions or mean (with standard deviation) or median with interquartile range (IQR) respectively, was performed. The Wilcoxon test for matched samples was used to compare serum marker concentrations in the first and second trimesters.

To account for repeated measurements from the same individuals in the first and second trimesters of pregnancy, linear generalized estimating equations (GEE) were used to analyze the association between ART (class, duration of exposure and initiation time) and plasma concentration of the two biomarkers. A first-order autoregressive (AR1) correlation matrix was used. Models were adjusted for potential confounding factors previously identified in a review of the literature, including ethnicity, parity, maternal age, gestational age, body mass index (BMI), smoking status and gender of the fetus [38-42]. Confounding variables that resulted in a +/- 10% variation of the regression coefficient when introduced into the bivariate model were retained in the final model. All variables with a $p < 0.05$ were also included in the final model. As suggested by residual analysis, a logarithmic transformation of biomarkers levels was performed. Using sensitivity analyses, we considered models with different unstructured or exchangeable correlation matrices and compared these models using Quasi-likelihood under Independence Model Criterion (QIC). A value of $p < 0.05$ was considered statistically significant. 95% confidence intervals are shown. Statistical analyses were performed using IBM SPSS Statistics for Windows version 24 (IBM Corp, Armonk, NY).

This study was approved by the Research Ethics Committee of CHU Sainte-Justine. All participants provided written informed consent.

Results

A total of 318 paired serum samples from 159 pregnant women living with HIV were analyzed. Demographic, clinical and biological characteristics of the participants are presented

in Table 1. In the first trimester, nearly 69% of women were receiving ART, 82% of whom were receiving PI-based regimens. In the second trimester, more than 96% were receiving ART, 87% of which were PI-based. The mean duration of ART exposure from the start of pregnancy to first-trimester and second-trimester biomarker testing was 9.5 ± 2.9 weeks and 14.8 ± 7.1 weeks, respectively.

The median concentration of PlGF in the first trimester was 93.5 pg/ml [IQR = 74.2-129.0] compared to 229.0 pg/ml [IQR = 154.8-329.0] in the 2nd trimester ($p < 0.0001$). The median concentration of sFlt-1 in the first trimester was 3372.7 pg/ml [IQR = 1736.7-5781.8] compared to 4009.1 pg/ml [IQR = 2600.0 - 8236.4] in the second trimester ($p = 0.006$). Figure 1 shows the distribution of the different biomarkers according to the class of ART. Bivariate comparisons are presented in Table 2.

After adjustment, no significant association was found between the class of ART (whether PI-based or not) and the level of PlGF, sFlt-1 or the PlGF/sFlt-1 ratio (Table 2). Furthermore, no significant association was found between serum angiogenic factors and duration of ART exposure (including all PI-containing ART) or initiation time (pre-conception versus during pregnancy) (Table 2).

Discussion

Our study shows that, for women living with HIV, first and second trimester angiogenic factor concentrations are not significantly associated with ART exposure of any type and duration, nor are they associated with the timing of treatment initiation (pre-conception or during pregnancy). The positive association of these angiogenic factor concentrations with gestational age is consistent with data from HIV-negative pregnant women [43].

The absence of an HIV-negative control group in this study is a limitation that prevents us from assessing the impact of HIV infection itself on angiogenic factors and whether the infection itself can lead to dysregulation of angiogenesis. However, it seems unlikely that viral activity has much of an influence on angiogenic factor concentrations when we consider the similarity of levels in the untreated group (with a detectable viral load) compared to treated.

The heterogeneity of ART regimens received by women is another limitation of our study (see Supplemental table 1 in appendix). However, repeated measurements in the first and second trimester increased the number of observations, giving us a greater statistical power. Measurements of the levels of angiogenic factors were all performed on the same day to minimize inter-assay variability. We also attempted to eliminate bias with a conservative method of adjustment for potential confounding factors.

Very few studies have explored the relationship between ART and the serum concentration of these angiogenic factors during pregnancy. Studies in oncology, however, have suggested anti-angiogenic effects for some PIs [19, 20]. The effects of PIs on placental vascular system formation and fetal development have to date only been examined in a mouse model [44]. Mice exposed to ART had significantly smaller fetuses and placentas compared to controls. Litter size and fetal viability were negatively impacted by exposure to two nucleoside analogs and two PIs at doses equivalent to human therapeutic doses. Although PlGF levels were unchanged, significantly lower levels of placental sFlt-1 were noted [44].

Lower PlGF levels were reported in South Africa amongst pregnant women living with HIV, compared to uninfected pregnant women, whether or not they were preeclamptic [45]. However, the sample size in that study was small (27 HIV-negative and 31 HIV-positive women) and the authors did not specify if the subjects were receiving ART. By contrast, Govender et al. reported no relationship between HIV infection and angiogenic factors measured in the third trimester of pregnancy, but provided no details concerning ART exposure [24].

Our results are consistent with those of a recent study in Uganda of 326 HIV-positive pregnant women who began receiving ART in the second trimester. That study reported no significant difference in the levels of angiogenic factors according to the class of ART (PI vs non-nucleoside reverse transcriptase inhibitor (NNRTI) [36]. Similarly, another study of a cohort of 71 women whose ART was initiated after 26 weeks of pregnancy also found no association between the duration of ART exposure or changes in angiogenic factor concentrations [46]. The authors reported no significant changes in angiogenic marker levels after one month of

ART, and no significant differences in serum concentration of sFlt-1 or PlGF relating to the type of ART (NNRTI versus PI).

To our knowledge, our study constitutes the first report on first-trimester angiogenic marker levels in a cohort of women who received early exposure to ART during pregnancy. It is possible that ART is associated with a higher risk of preterm birth, but our results show that the pathophysiological mechanism is unlikely through an early and direct effect on placental angiogenesis. Immune restoration as a result of ART initiation is a hypothesis that needs to be explored [47]. Indeed, a study from the United Kingdom suggests that ART-induced immune reconstitution plays a central role in the pathogenesis of pre-eclampsia in pregnant, HIV-infected women receiving ART. HIV infection could be associated with a low risk of preeclampsia and this risk restored to the expected values in women treated with ART [47].

Conclusion

This study suggests that ART, whether PI-based or not, is not associated with the serum concentration of angiogenic factors PlGF and sFlt-1 in the first and second trimesters of pregnancy. There is also no significant association with duration of treatment or timing of treatment initiation (before conception or during pregnancy). These observations seem generally reassuring for the potential consequences of early ART use during pregnancy. Further studies are needed to understand the relationship between ART and adverse pregnancy outcomes.

Competing interests

The authors have no conflicts of interest to declare.

Acknowledgements

The authors wish to thank the staff at CMIS and Mrs. Martine Caty for excellent technical assistance, and all the women in the CMIS cohort for their contribution to the success of this project.

Funding: This study was funded by an infrastructure grant from Réseau SIDA et maladies infectieuses (SIDA / MI) of the Fonds de recherche du Québec - Santé (FRQ-S) to IB and HS. IB, HT and FK were the recipients of salary awards (chercheur-boursier) from FRQ-S. HT was the recipient of a New Investigator salary award from the Canadian Institutes of Health Research (CIHR).

Authors' contributions

- A.D. Ameyo Djeha:
 - coordinated and carried out the submission and the follow-up of the project to the Research Ethics Committee of CHU Sainte-Justine, along with the director and the research coordinator
 - performed the quantitative analysis of the data
 - prepared the first draft of the article and subsequent revisions
 - modified the manuscript following the comments of the co-authors.
- H.T. Helen Trottier:
 - contributed to the development of methods and the statistical analysis of data.
- S.G. Sylvie Girard:
 - performed the PIGF and Sflt-1 measurements
 - provided expertise on placental inflammation in the interpretation of results.
- F. Kakkar
 - reviewed the manuscript.
- H. Soudeyns
 - reviewed the study design
 - provided access to the samples
 - reviewed the manuscript.
- N.L. Normand Lapointe

- designed the CMIS cohort
- reviewed the manuscript.
 - M.B. Marc Boucher:
 - designed the CMIS cohort
 - reviewed the manuscript.
 - I.B. Isabelle Boucoiran:
 - designed the research protocol and secured funding
 - directed students working on the project
 - supervised the analysis and interpretation of the results
 - participated in editing the manuscript.

All co-authors provided suggestions and comments throughout the project, reviewed the manuscript and approved the final version.

Additional files

Additional file 1: Supplemental table 1. Nucleoside reverse transcriptase inhibitors exposure. Table is included as separate file, in a single PDF document.

References

1. UNAIDS. Fact sheet - World AIDS day 2017 2017 [Available from: http://www.unaids.org/sites/default/files/media_asset/UNAIDS_FactSheet_en.pdf.
2. Loutfy MR, Margolese S, Money DM, Gysler M, Hamilton S, Yudin MH. Canadian HIV pregnancy planning guidelines. *International Journal of Gynecology & Obstetrics*. 2012;119(1):89-99.
3. Siegfried N, van der Merwe L, Brocklehurst P, Sint TT. Antiretrovirals for reducing the risk of mother-to-child transmission of HIV infection. *The Cochrane Library*. 2011.
4. Department of Health and Human Services. Panel on Antiretroviral Guidelines for Adults and Adolescents. Guidelines for the use of antiretroviral agents in HIV-1-infected adults and adolescents. Department of Health and Human Services; 2016.
5. Burdge DR, Money DM, Forbes JC, Walmsley SL, Smaill FM, Boucher M, et al. Canadian consensus guidelines for the management of pregnant HIV-positive women and their offspring. *CMAJ*. 2003;168(13):1671-4.

6. Brocklehurst P, French R. The association between maternal HIV infection and perinatal outcome: a systematic review of the literature and meta-analysis. *BJOG: An International Journal of Obstetrics & Gynaecology*. 1998;105(8):836-48.
7. Wedi CO, Kirtley S, Hopewell S, Corrigan R, Kennedy SH, Hemelaar J. Perinatal outcomes associated with maternal HIV infection: a systematic review and meta-analysis. *The Lancet HIV*. 2016;3(1):e33-e48.
8. Papp E, Mohammadi H, Loutfy MR, Yudin MH, Murphy KE, Walmsley SL, et al. HIV protease inhibitor use during pregnancy is associated with decreased progesterone levels, suggesting a potential mechanism contributing to fetal growth restriction. *Journal of Infectious Diseases*. 2015;211(1):10-8.
9. Chen JY, Ribaud HJ, Souda S, Parekh N, Ogwu A, Lockman S, et al. Highly active antiretroviral therapy and adverse birth outcomes among HIV-infected women in Botswana. *Journal of Infectious Diseases*. 2012;206(11):1695-705.
10. Ekouevi DK, Coffie PA, Becquet R, Tonwe-Gold B, Horo A, Thiebaut R, et al. Antiretroviral therapy in pregnant women with advanced HIV disease and pregnancy outcomes in Abidjan, Cote d'Ivoire. *Aids*. 2008;22(14):1815-20.
11. Machado ES, Hofer CB, Costa TT, Nogueira SA, Oliveira RH, Abreu TF, et al. Pregnancy outcome in women infected with hiv-1 receiving combination antiretroviral therapy before versus after conception. *Sexually Transmitted Infections*. 2009;85(2):82-7.
12. Townsend CL, Cortina-Borja M, Peckham CS, Tookey PA. Antiretroviral therapy and premature delivery in diagnosed HIV-infected women in the United Kingdom and Ireland. *Aids*. 2007;21(8):1019-26.
13. Newell M-L, Bunders MJ. Safety of antiretroviral drugs in pregnancy and breastfeeding for mother and child. *Current Opinion in HIV and AIDS*. 2013;8(5):504-10.
14. Zash R, Jacobson DL, Diseko M, et al. Comparative safety of antiretroviral treatment regimens in pregnancy. *JAMA Pediatrics*. 2017;171(10):e172222.
15. Lopez M, Figueras F, Hernandez S, Lonca M, Garcia R, Palacio M, et al. Association of HIV infection with spontaneous and iatrogenic preterm delivery: effect of HAART. *Aids*. 2012;26(1):37-43.
16. Li N, Sando MM, Spiegelman D, Hertzmark E, Liu E, Sando D, et al. Antiretroviral therapy in relation to birth outcomes among HIV-infected women: a cohort study. *Journal of Infectious Diseases*. 2015:jiv389.
17. Alemu FM, Yalew AW, Fantahun M, Ashu EE. Antiretroviral Therapy and Pregnancy Outcomes in Developing Countries: A Systematic Review. *International journal of MCH and AIDS*. 2015;3(1):31.
18. Powis KM, Kitch D, Ogwu A, Hughes MD, Lockman S, Leidner J, et al. Increased Risk of Preterm Delivery Among HIV-Infected Women Randomized to Protease Versus Nucleoside Reverse Transcriptase Inhibitor-Based HAART During Pregnancy. *The Journal of Infectious Diseases*. 2011;204(4):506-14.
19. Pore N, Gupta AK, Cerniglia GJ, Maity A. HIV Protease Inhibitors Decrease VEGF/HIF-1 α Expression and Angiogenesis in Glioblastoma Cells. *Neoplasia*. 2006;8(11):889-95.
20. Sgadari C, Barillari G, Toschi E, Carlei D, Bacigalupo I, Baccarini S, et al. HIV protease inhibitors are potent anti-angiogenic molecules and promote regression of Kaposi sarcoma. *Nature Medicine*. 2002;8:225.

21. Lecarpentier É, Vieillefosse S, Haddad B, Fournier T, Leguy M-C, Guibourdenche J, et al., editors. Le facteur de croissance placentaire (PlGF) et son récepteur soluble (sFlt-1) au cours de la grossesse: physiologie, dosage et intérêt dans la prééclampsie. *Annales de Biologie Clinique*; 2016.
22. Levine RJ, Maynard SE, Qian C, Lim K-H, England LJ, Yu KF, et al. Circulating Angiogenic Factors and the Risk of Preeclampsia. *New England Journal of Medicine*. 2004;350(7):672-83.
23. Levine RJ, Lam C, Qian C, Yu KF, Maynard SE, Sachs BP, et al. Soluble Endoglin and Other Circulating Antiangiogenic Factors in Preeclampsia. *New England Journal of Medicine*. 2006;355(10):992-1005.
24. Govender N, Naicker T, Rajakumar A, Moodley J. Soluble fms-like tyrosine kinase-1 and soluble endoglin in HIV-associated preeclampsia. *European Journal of Obstetrics and Gynecology and Reproductive Biology*. 2013;170(1):100-5.
25. Chaiworapongsa T, Romero R, Korzeniewski SJ, Kusanovic JP, Soto E, Lam J, et al. Maternal plasma concentrations of angiogenic/antiangiogenic factors in the third trimester of pregnancy to identify the patient at risk for stillbirth at or near term and severe late preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol*. 2013;208(4):287.e1-.e15.
26. Romero R, Nien JK, Espinoza J, Todem D, Fu W, Chung H, et al. A longitudinal study of angiogenic (placental growth factor) and anti-angiogenic (soluble endoglin and soluble vascular endothelial growth factor receptor-1) factors in normal pregnancy and patients destined to develop preeclampsia and deliver a small for gestational age neonate. *The Journal of Maternal-Fetal & Neonatal Medicine*. 2008;21(1):9-23.
27. Baltajian K, Bajracharya S, Salahuddin S, Berg AH, Geahchan C, Wenger JB, et al. Sequential plasma angiogenic factors levels in women with suspected preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol*. 2016;215(1):89.e1-.e10.
28. Holme AM, Roland MCP, Henriksen T, Michelsen TM. In vivo uteroplacental release of placental growth factor and soluble Fms-like tyrosine kinase-1 in normal and preeclamptic pregnancies. *Am J Obstet Gynecol*. 2016;215(6):782.e1-.e9.
29. Taylor RN, Grimwood J, Taylor RS, McMaster MT, Fisher SJ, North RA. Longitudinal serum concentrations of placental growth factor: Evidence for abnormal placental angiogenesis in pathologic pregnancies. *Am J Obstet Gynecol*. 2003;188(1):177-82.
30. Mijal RS, Holzman CB, Rana S, Karumanchi SA, Wang J, Sikorskii A. Mid-pregnancy levels of angiogenic markers as indicators of pathways to preterm delivery. *The Journal of Maternal-Fetal & Neonatal Medicine*. 2012;25(7):1135-41.
31. Romero R, Chaiworapongsa T, Erez O, Tarca AL, Gervasi MT, Kusanovic JP, et al. An imbalance between angiogenic and anti-angiogenic factors precedes fetal death in a subset of patients: results of a longitudinal study. *The Journal of Maternal-Fetal & Neonatal Medicine*. 2010;23(12):1384-99.
32. Andersen LB, Dechend R, Karumanchi SA, Nielsen J, Joergensen JS, Jensen TK, et al. Early pregnancy angiogenic markers and spontaneous abortion: an Odense Child Cohort study. *Am J Obstet Gynecol*. 2016;215(5):594.e1-.e11.
33. Korzeniewski SJ, Romero R, Chaiworapongsa T, Chaemsaihong P, Kim CJ, Kim YM, et al. Maternal plasma angiogenic index-1 (placental growth factor/soluble vascular endothelial growth factor receptor-1) is a biomarker for the burden of placental lesions consistent with uteroplacental underperfusion: a longitudinal case-cohort study. *Am J Obstet Gynecol*. 2016;214(5):629.e1-.e17.

34. Redman CWG, Staff AC. Preeclampsia, biomarkers, syncytiotrophoblast stress, and placental capacity. *Am J Obstet Gynecol.* 2015;213(4):S9.e1-S9.e4.
35. Fisher SJ. Why is placentation abnormal in preeclampsia? *Am J Obstet Gynecol.* 2015;213(4):S115-S22.
36. Conroy AL, McDonald CR, Gamble JL, Olwoch P, Natureeba P, Cohan D, et al. Altered angiogenesis as a common mechanism underlying preterm birth, small for gestational age, and stillbirth in women living with HIV. *Am J Obstet Gynecol.* 2017;217(6):684.e1-.e17.
37. Harris PA, Taylor R, Thielke R, Payne J, Gonzalez N, Conde JG. Research electronic data capture (REDCap)--a metadata-driven methodology and workflow process for providing translational research informatics support. *J Biomed Inform.* 2009;42(2):377-81.
38. Yang J, Pearl M, DeLorenze GN, Romero R, Dong Z, Jelliffe-Pawlowski L, et al. Racial-ethnic differences in midtrimester maternal serum levels of angiogenic and antiangiogenic factors. *Am J Obstet Gynecol.* 2016;215(3):359.e1-.e9.
39. Browne JL, Klipstein-Grobusch K, Koster MP, Ramamoorthy D, Antwi E, Belmouden I, et al. Pregnancy associated plasma protein-A and placental growth factor in a sub-Saharan African population: a nested cross-sectional study. *PloS one.* 2016;11(8):e0159592.
40. Andersen LB, Jørgensen JS, Herse F, Andersen MS, Christesen HT, Dechend R. The association between angiogenic markers and fetal sex: Implications for preeclampsia research. *J Reprod Immunol.* 2016;117:24-9.
41. Zera CA, Seely EW, Wilkins-Haug LE, Lim K-H, Parry SI, McElrath TF. The association of body mass index with serum angiogenic markers in normal and abnormal pregnancies. *American Journal of Obstetrics and Gynecology.* 2014;211(3):247.e1-.e7.
42. Mijal RS, Holzman CB, Rana S, Karumanchi SA, Wang J, Sikorskii A. Midpregnancy levels of angiogenic markers in relation to maternal characteristics. *American Journal of Obstetrics and Gynecology.* 2011;204(3):244.e1-.e12.
43. Vatten LJ, Eskild A, Nilsen TI, Jeansson S, Jenum PA, Staff AC. Changes in circulating level of angiogenic factors from the first to second trimester as predictors of preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol.* 2007;196(3):239. e1-. e6.
44. Papp E, Mohammadi H, Serghides L. Changes in placental vasculature and pregnancy outcomes in HIV-antiretroviral drug exposed mice. *Placenta.* 2014;35(9):A17.
45. Govender N, Naicker T, Moodley J. Maternal imbalance between pro-angiogenic and anti-angiogenic factors in HIV-infected women with pre-eclampsia: cardiovascular topics. *Cardiovascular journal of Africa.* 2013;24(5):174-9.
46. Powis KM, McElrath TF, Hughes MD, Ogwu A, Souda S, Datwyler SA, et al. High viral load and elevated angiogenic markers associated with increased risk of preeclampsia among Women Initiating Highly Active Antiretroviral Therapy (HAART) in Pregnancy in the Mma Bana Study, Botswana. *Journal of acquired immune deficiency syndromes (1999).* 2013;62(5):517.
47. Wimalasundera R, Larbalestier N, Smith J, De Ruiter A, Thom SM, Hughes A, et al. Pre-eclampsia, antiretroviral therapy, and immune reconstitution. *The Lancet.* 2002;360(9340):1152-4.

Table 1. Population characteristics

| Characteristics | Results n=159 |
|---|----------------------|
| Maternal age at term, years, average \pm SD | 32.4 \pm 5.1 |
| Ethnicity, n (%) | |
| Afro-Caribbean | 130 (81.8) |
| Caucasian | 25 (15.7) |
| Other | 4 (2.5) |
| BMI, kg/m², median [IQR] | 26.3 [23.5-30.2] |
| Nulliparous, n (%) | 52 (32.7) |
| Smoker, n (%) | |
| 1 st trimester | 15 (9.4) |
| 2 nd trimester | 6 (3.8) |
| Chronic hypertension, n (%) | 3 (1.9) |
| Gestational hypertension or preeclampsia, n (%) | 15 (9.4) |
| Gender of fetus, n (%) | |
| Male | 82 (51.6) |
| CD4[†], median [IQR] | |
| Total/mm ³ | 536.5 [381.5-725.3] |
| Percentage | 30 [23-37] |
| Undetectable viral load[†], n (%) | 92 (57.9) |
| cART at 1st trimester, n (%) | 109 (68.6) |
| NRTIs + PIs | 89 (81.7) |
| NRTIs + NNRTIs | 10 (9.17) |
| NRTIs + INSTIs | 10 (9.17) |
| None | 50 (31.4) |
| cART at 2nd trimester, n (%) | 153 (96.2) |
| NRTIs + PIs | 131 (85.6) |
| NRTIs + NNRTIs | 10 (6.5) |
| NRTIs + INSTIs | 12 (7.8) |
| None | 6 (3.9) |
| IUGR, n (%) | 29 (18.2) |
| Preterm delivery, n (%) | 25 (15.7) |
| Miscarriage, n (%) | 1(0.6) |

SD: standard deviation; BMI: body mass index; IQR: interquartile range; cART: combination antiretroviral therapy, NRTIs: Nucleoside reverse transcriptase inhibitors, NNRTIs: Non-nucleoside reverse transcriptase inhibitors, PIs : Protease inhibitors, INSTIs : Integrase strand transfer inhibitors, IUGR : Intrauterine growth restriction

[†] in the first trimester of pregnancy.

Table 2. Association between biomarkers and ART (type, duration and initiation time)

| Biomarkers | Crude coefficient | CI (95%) | p-value | Adjusted coefficient | Adjusted CI (95%) | p-value |
|---------------------------------|--------------------------|-----------------|----------------|-----------------------------|--------------------------|----------------|
| PIGF | | | | | | |
| PI-based ART † | 0.238 | 0.166 - 0.310 | 0.000 | 0.018 ^a | -0.051 - 0.088 | 0.611 |
| Other ART † | 0.201 | 0.095 - 0.307 | 0.000 | 0.028 ^a | -0.064 - 0.121 | 0.552 |
| ART exposure duration | 0.020 | 0.014 - 0.026 | 0.000 | 0.001 ^b | -0.006 - 0.007 | 0.873 |
| PI exposure duration | 0.018 | 0.011 - 0.025 | 0.000 | 0.000 ^b | -0.007 - 0.006 | 0.936 |
| Time of ART initiation ‡ | -0.019 | -0.089 - 0.051 | 0.592 | 0.000 ^b | -0.066 - 0.066 | 0.997 |
| sFlt1 | | | | | | |
| PI-based ART † | 0.306 | 0.109 - 0.503 | 0.002 | 0.177 ^c | -0.032 - 0.386 | 0.097 |
| Other ART † | 0.233 | -0.108 - 0.573 | 0.180 | 0.091 ^c | -0.246 - 0.428 | 0.597 |
| ART exposure duration | 0.003 | -0.008 - 0.015 | 0.584 | -0.001 ^d | -0.014 - 0.012 | 0.872 |
| PI exposure duration | 0.007 | -0.004 - 0.019 | 0.218 | 0.002 ^d | -0.010 - 0.015 | 0.722 |
| Time of ART initiation ‡ | 0.085 | -0.074 - 0.244 | 0.294 | 0.024 ^e | -0.139 - 0.188 | 0.772 |
| sFlt1/PIGF Ratio | | | | | | |
| PI-based ART † | 0.033 | -0.179 - 0.245 | 0.759 | 0.145 ^f | -0.076 - 0.366 | 0.199 |
| Other ART † | -0.036 | -0.386 - 0.314 | 0.840 | 0.063 ^f | -0.319 - 0.445 | 0.747 |
| ART exposure duration | -0.014 | -0.028 - 0.000 | 0.044 | 0.000 ^c | -0.018 - 0.017 | 0.956 |
| PI exposure duration | -0.007 | -0.021 - 0.006 | 0.299 | 0.003 ^e | -0.013 - 0.019 | 0.683 |
| Time of ART initiation ‡ | 0.104 | -0.071 - 0.279 | 0.243 | 0.028 ^e | -0.152 - 0.208 | 0.761 |

ART: antiretroviral therapy; PI: protease inhibitor; CI: confidence interval

† Control: no ART

‡ Control: ART initiated during pregnancy

^a Adjusted for gestational age at the date of test and ethnicity.

^b Adjusted for gestational age at the date of test, body mass index and ethnicity

^c Adjusted for gestational age at the date of test and body mass index.

^d Adjusted for gestational age at the date of test and maternal age.

^e Adjusted for gestational age at the date of test, maternal age and ethnicity

^f Adjusted for gestational age at the date of test, maternal age, body mass index, parity, and gender of the fetus.

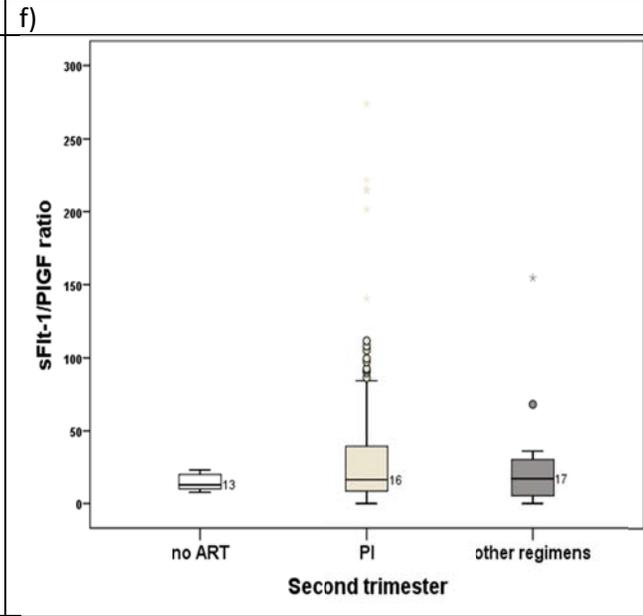
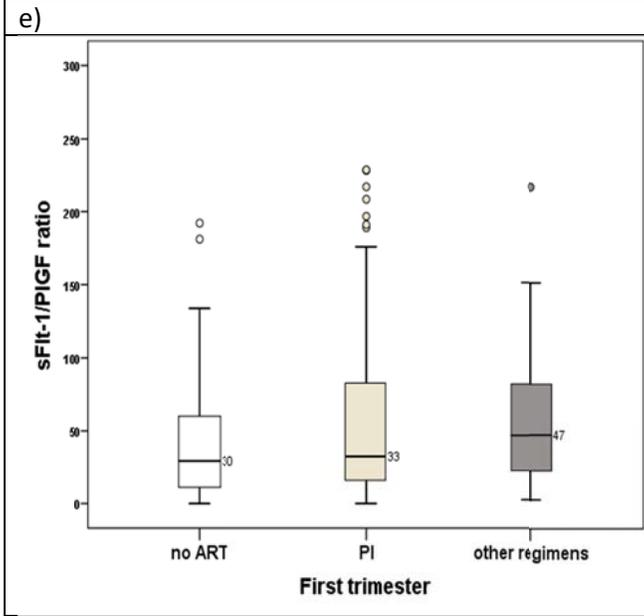
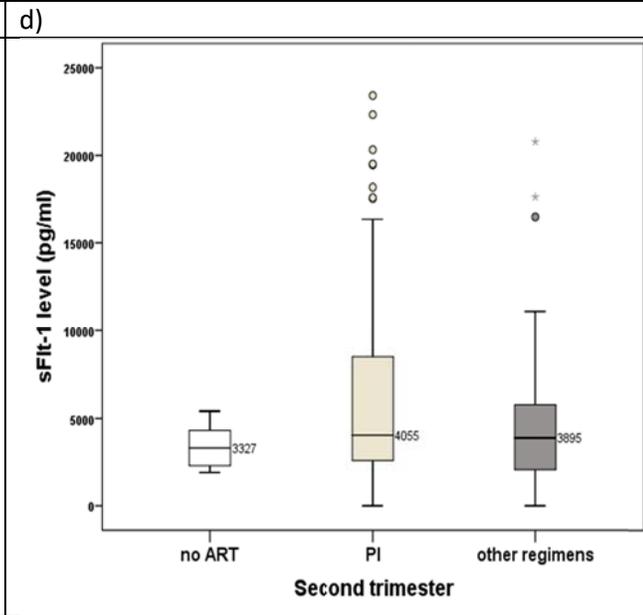
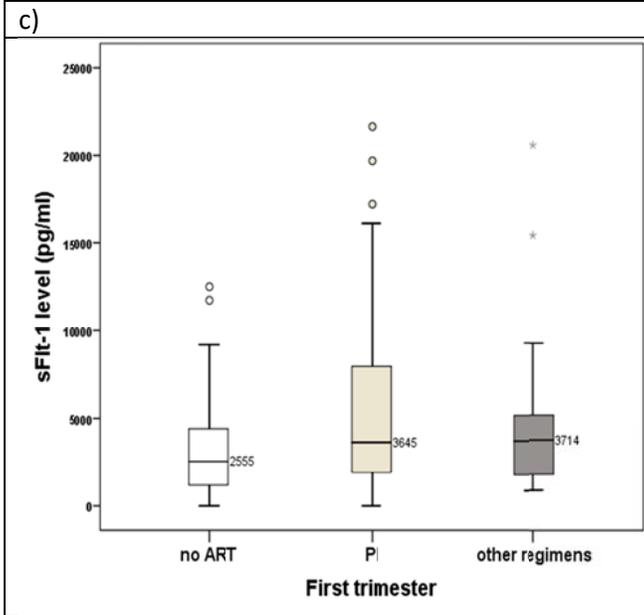
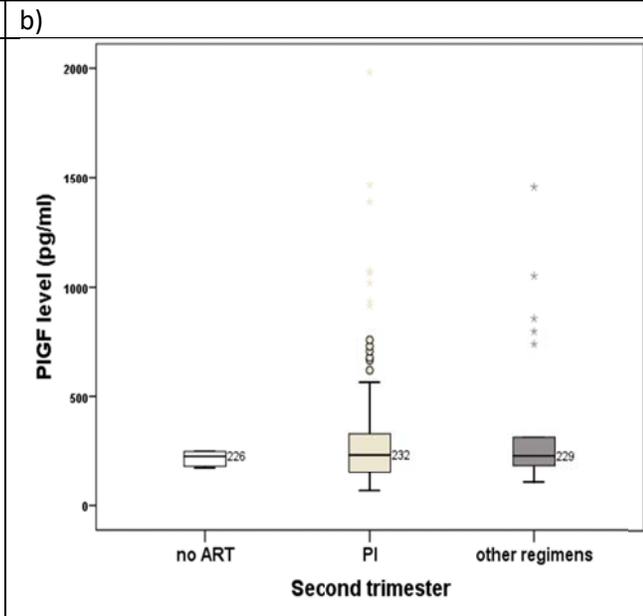
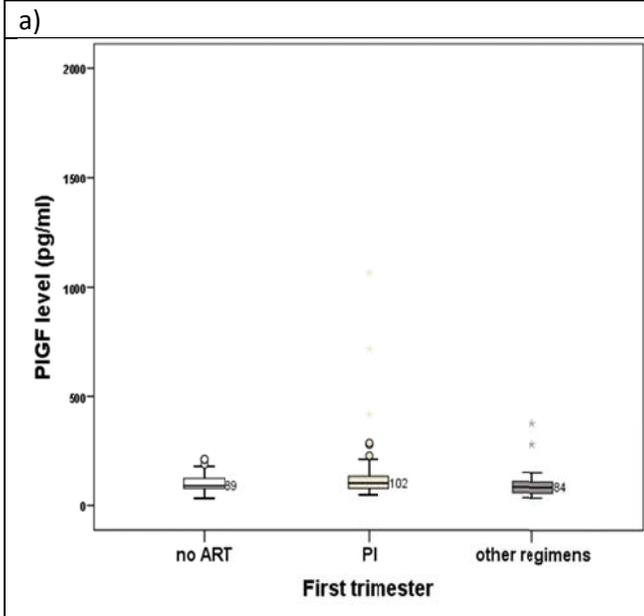


Figure 1. Biomarker distribution by class of antiretroviral therapy (Box-and-whiskers representation). (a) Placental growth factor level (PIGF) in 1st trimester; (b) PIGF level in 2nd trimester; (c) soluble fms-like tyrosine kinase-1 (sFlt-1) level in 1st trimester; (d) sFlt-1 level in 2nd trimester (e) sFlt-1/PIGF ratio in 1st trimester; (f) sFlt-1/PIGF ratio in 2nd trimester

The boxes extend from the 25th percentile to the 75th percentile (i.e., the interquartile range); lines inside boxes represent median values. Lines emerging from boxes (i.e., the whiskers) extend to the upper and lower adjacent values. The lower adjacent values provide an estimate of the lower limit of the array and represents the first quartile value less 1.5 times the difference between the first and third quartiles. The upper adjacent value provides an estimate of the upper limit of the array and represents the third quartile value plus 1.5 times the difference between the first and third quartiles. Values outside these limits are outliers.

ART: antiretroviral therapy; PI: protease inhibitor

Supplemental table1. Nucleoside reverse transcriptase inhibitors exposure

| <i>n</i> (%) | 1 st trimester <i>n</i> =109 | 2 nd trimester <i>n</i> =153 |
|---------------------------|--|--|
| Zidovudine -Lamivudine | 35 (32.1) | 73 (47.7) |
| Zidovudine -Abacavir | 2 (1.8) | 4 (2.6) |
| Zidovudine-Didanosine | 0 (0.0) | 1(0.7) |
| Abacavir- Lamuvidine | 33 (30.3) | 36 (23.5) |
| Tenofovir - Emtricitabine | 39 (35.8) | 39 (25.5) |

5.4 Résultats complémentaires à l'article 2

5.4.1 Statut immunitaire : valeur des CD4

La valeur médiane des cellules CD4 au premier trimestre, était de 536 cellules/ml [IIQ = 381– 725] contre 574 cellules/ml [IIQ = 388 – 754] au deuxième trimestre ($p = 0.05$). Le pourcentage médian de CD4 au premier trimestre était de 30% [IIQ = 23 – 37] comparé à 31% [IIQ = 25 – 40] au deuxième trimestre ($p < 0.001$). L'introduction des CD4 (en valeur absolue et en pourcentage) comme covariable dans les modèles finaux donne des résultats similaires à ceux présentés dans l'article 2.

6 Discussion générale

Cette étude visait à évaluer l'association entre la TAR et le fonctionnement du placenta par le dosage de biomarqueurs du dépistage des aneuploïdies et de facteurs angiogéniques. Nos résultats indiquent que, chez les femmes enceintes vivant avec le VIH :

- les biomarqueurs de la fonction placentaire utilisés au premier et au deuxième trimestre pour le dépistage des aneuploïdies ne sont pas significativement associés au type de TAR, en dehors de l'AFP dont la concentration sérique est significativement augmentée sous TAR (à base d'IP ou non) en comparaison à celles non traitées avec TAR, tout en restant dans des intervalles normaux (inférieur à 2.5 MdM).

- les facteurs angiogéniques PlGF et SFlt-1 ne sont pas significativement associés à la TAR quel que soit le type et la durée d'exposition. Ils ne sont pas non plus associés au moment d'initiation du traitement (avant la conception ou au cours de la grossesse). Par contre, leurs concentrations augmentent de façon significative au cours de la grossesse entre le premier et le deuxième trimestre en accord avec les données des femmes non infectées par le VIH.

6.1 Biomarqueurs du premier trimestre de la grossesse : PAPP-A et β -hCG

Bien que ce ne soit pas statistiquement significatif, les valeurs de β -hCG libre étaient légèrement plus faibles chez les femmes traitées que chez les femmes non traitées. Cette même tendance a été rapportée par 3 études, pour des TAR à base d'IP ou non (49, 125, 126). Cela suggère un possible effet de classe croisée de la TAR ou un effet du contrôle viral lui-même, ce qui mérite un examen plus approfondi, compte tenu des propriétés immunomodulatrices de β -hCG (138, 139). Dans notre étude comme dans les précédentes (49, 125), les niveaux de PAPP-A ne sont pas significativement changés par la TAR. La PAPP-A étant une protéine qui joue un rôle important dans la réponse proliférative locale, notamment

l'invasion trophoblastique (59), son niveau en deçà des valeurs normales est associé à un risque accru de survenue d'issues obstétricales indésirables (140).

6.2 Biomarqueurs du deuxième trimestre de la grossesse : AFP, hCG total, uE3, inhibine A

Nos résultats montrent que la concentration sérique de l'AFP est significativement augmentée chez les femmes enceintes vivant avec le VIH sous TAR (à base d'IP ou non) en comparaison à celles non traitées, tout en restant dans des intervalles normaux (141, 142). Nos résultats corroborent ceux retrouvés par Le Meaux et al. sur 132 sujets, qui ont noté que les femmes infectées par le VIH non traitées présentaient une concentration sérique d'AFP inférieure à celle des femmes sous TAR et aux femmes non infectées du groupe contrôle. Ils ont émis l'hypothèse que l'infection à VIH pourrait être responsable d'une diminution de la concentration de l'AFP pouvant être rétablie par la TAR (24). En effet, à ce stade de la grossesse, l'AFP est exclusivement synthétisée par le foie fœtal (143) et sa libération dans le placenta est due à un processus de transport actif (144), de sorte que la faible concentration d'AFP chez les femmes infectées par le VIH peut être due à une perturbation du transport de cette protéine à travers le placenta (24). Le rôle de l'AFP n'est pas complètement compris. Elle semble participer à la régulation de la croissance fœtale, par l'ajustement de l'architecture interstitielle (145). Sa « normalisation » par la TAR pourrait donc correspondre au plus faible taux de RCIU chez les femmes sous TAR que chez les femmes vivant avec le VIH non traitées (146).

Toutefois, il est à noter que dans notre cohorte, une étude ultérieure avait trouvé une association significative entre la survenue d'accouchement prématuré et l'utilisation des IP boosté notamment par le ritonavir. Parmi les femmes traitées par une TAR pendant la grossesse, le risque d'accouchement prématuré était significativement plus élevé chez les femmes ayant reçu un IP boosté par rapport à un IP non boosté (aOR 2,04, IC à 95% 1,02–4,14) (147).

Des études antérieures ont révélé des résultats contradictoires sur l'effet de l'infection à VIH et de la TAR sur les autres biomarqueurs de deuxième trimestre (23-25, 127, 128). Il est à noter que la plupart de ces études sont des études transversales analytiques qui comparent des femmes vivant avec le VIH à des femmes non infectées par le VIH, incluant un nombre relativement limité de sujets et avec des groupes de TAR hétérogènes. Ainsi, Einstein et al. (23), ont étudié l'association entre la TAR et les niveaux de biomarqueurs de 39 femmes enceintes infectées par le VIH et n'ont trouvé aucune différence significative entre les niveaux d'AFP, d'hCG ou d'oestriol non conjugué entre les femmes traitées et non traitées. Dans ces études, la concentration sérique des marqueurs est exprimée en multiple de la médiane (MoM) mais les procédures d'ajustement et les variables de contrôle n'étaient pas précisées. De même, dans une étude portant sur 55 femmes vivant avec le VIH sous TAR à base d'IP et 49 contrôles VIH négatifs, il n'y avait pas de différence de la concentration d'œstradiol (E2) entre 12 et 18 semaines (médiane [IQT] = 5400 pg/ml [3787–8585] vs 5572 pg/ml [4186–7143], $p=0.96$) (148). À noter que cette étude, qui rapportent des résultats sans ajustement, a trouvé des concentrations plus élevées d'E2 chez les femmes vivant avec le VIH sous TAR à base d'IP en comparaison avec le groupe contrôle à partir de 24 semaines (médiane [IQT] = 38 116 pg/ml [17 890–54 400] vs 16 854 pg/ml [10 938–33 683], $p=0.0011$).

Pour ce qui concerne la durée d'exposition à la TAR et aux IP, aucune étude, à notre connaissance n'a étudié leur association avec la concentration des biomarqueurs d'intérêt au premier et au deuxième trimestre. Notre évaluation de l'association entre la TAR et les biomarqueurs se terminant à 21 semaines, il est possible que nous ne puissions mettre en évidence des perturbations des biomarqueurs qui apparaîtraient plus tard au cours de la grossesse. Ainsi, Balogun et al. (148), ont noté que les femmes exposées aux IP avant la conception présentaient une concentration d'E2 plus élevée dans le sang de cordon que celles qui avaient initié le traitement après la conception. En outre, ils ont observé une corrélation négative entre la concentration d'E2 dans le sang de cordon et la durée d'exposition aux IP, suggérant que l'exposition précoce aux IP pourrait entraîner une plus grande dysrégulation de l'E2 et une exposition fœtale à des niveaux plus élevés d'E2.

6.3 Facteurs angiogéniques PlGF et sFlt-1

Très peu d'études ont exploré les relations entre la TAR et la variation de la concentration sérique de ces facteurs angiogéniques au cours de la grossesse. Des études en cancérologie, avaient pourtant ultérieurement suggéré des effets anti-angiogéniques pour certains IP (133, 134). L'effet des IP sur la formation du système vasculaire placentaire et le développement du fœtus a été étudié dans un modèle murin (135). Les souris exposées à la TAR avaient des fœtus et des placentas significativement plus petits que les témoins. En effet, la taille des portées et la viabilité du fœtus ont été négativement affectées par l'exposition à la TAR constituée de deux INTI et un IP à des doses équivalentes aux doses thérapeutiques humaines. Alors que les niveaux de PlGF étaient inchangés, des niveaux significativement plus bas de sFlt-1 ont été trouvés dans les placentas (135).

Des niveaux plus faibles de PlGF ont été rapportés, en Afrique du Sud, chez des femmes enceintes vivant avec le VIH comparativement aux femmes non infectées, qu'elles soient prééclampsiques ou non (129). Cependant, la taille de l'échantillon dans cette étude était faible (27 femmes non infectées et 31 femmes vivant avec le VIH) et les auteurs ne précisaient pas si les sujets étaient sous TAR. Par contre, Govender et al., sans fournir de détails non plus sur l'exposition à la TAR n'ont pas montré une relation entre l'infection par le VIH et les facteurs angiogéniques mesurés au troisième trimestre de la grossesse (130).

Nos résultats concernant l'association entre la TAR et les concentrations des facteurs angiogéniques PlGF et sFlt-1 vont dans le même sens que ceux d'une étude récente en Ouganda portant sur 326 femmes enceintes qui avaient débuté la TAR au deuxième trimestre. Cette étude ne rapportait aucune différence significative dans les niveaux de facteurs angiogéniques selon le groupe de TAR (IP vs INNTI) (132).

À notre connaissance, nos données sont les premières publiées sur les marqueurs angiogéniques au premier trimestre dans une cohorte de femmes chez qui l'exposition à la TAR en grossesse était précoce. Elles montrent que, même si la TAR est associée à un risque plus élevé de prééclampsie, le mécanisme physiopathologique ne repose probablement pas sur

des changements directs des marqueurs angiogéniques au premier et au deuxième trimestre. En effet, une étude menée en Angleterre suggère que la reconstitution immunitaire induite par la TAR joue un rôle central dans la pathogénèse de la prééclampsie chez la femme enceinte infectée par le VIH. L'infection à VIH est associée à un faible risque de prééclampsie et ce risque est rétabli aux valeurs attendues chez les femmes traitées par une triple TAR (149).

6.4 Avantage, limites et sources de biais

Cette étude comporte des avantages et des limites. L'absence d'un groupe témoin non infecté par le VIH dans cette étude est une limite qui nous empêche de discuter du rôle spécifique de l'infection par le VIH sur les biomarqueurs de la fonction placentaire et les facteurs angiogéniques. En effet, il est possible que l'infection elle-même entraîne une dysrégulation de l'angiogenèse et de la fonction placentaire mais cela n'a pas pu être validé dans l'étude.

Par ailleurs, bien que le dosage des marqueurs des aneuploïdies ait été effectué avec des outils de mesure objectifs et non biaisés dont la fiabilité et la validité ont été démontrées, l'hétérogénéité des techniques de dosage utilisées au cours de la période d'étude constitue une autre limite à notre étude. Les dosages des facteurs angiogéniques ont par contre été réalisés le même jour afin de maximiser l'homogénéité des résultats. Par ailleurs, le sérum maternel a été stocké à -80°C pendant plusieurs années (14 ans pour les plus anciens) avant le dosage des facteurs angiogéniques. Ce temps de stockage pourrait affecter les concentrations sériques de PlGF et de sFlt-1 (91). Les résultats des dosages de ces deux facteurs seraient par contre, peu affectés par quelques cycles de congélation- décongélation (150). L'hétérogénéité des régimes de TAR administrée aux femmes constitue également une limite à notre étude. Finalement, comme il s'agit d'une étude observationnelle, il est impossible d'inférer tout lien de causalité. En effet, une association statistiquement significative entre la TAR et l'augmentation de la concentration sérique de l'AFP a été trouvée chez les femmes enceintes vivant avec le VIH, mais nous ne pouvons parler de lien de causalité.

Un des avantages importants de l'étude est la puissance statistique (100%) et la précision qui réduit le rôle du hasard dans l'interprétation des résultats. En effet, la taille de l'échantillon de l'étude, plus grande que celle des études précédentes, ainsi que les mesures répétées au premier et deuxième trimestre implique une plus grande puissance statistique qui nous a permis de comparer les femmes selon le type de TAR.

6.4.1 Validité externe, biais de sélection et biais d'information

La cohorte analysée était composée de femmes enceintes vivant avec le VIH. Le recrutement effectué sur deux différents sites (Montréal et Vancouver) rend notre échantillon plus représentatif de la population cible. En effet, Il est possible que la généralisation puisse se faire au-delà de l'échantillon, car celui-ci semble relativement bien représentatif de la population des femmes enceintes vivant avec le VIH du Canada. Par contre, la généralisation à des populations de femmes vivant avec le VIH dans des pays en développement est limitée car le type de TAR disponible est souvent différent, et l'initiation précoce de la TAR en grossesse moins fréquente.

Par ailleurs, près de 65% des participantes de la cohorte n'avaient pas bénéficié de dépistage des aneuploïdies. Les raisons pour lesquelles ces patientes n'ont pas eu de dépistage n'étaient pas disponibles dans notre base de données. D'après les équipes cliniques, il s'agirait principalement des raisons suivantes : refus du dépistage, début tardif du suivi prénatal, grossesse gémellaire. Une différence entre les participantes à l'étude et le reste de la cohorte pourrait introduire un problème de validité externe, raison pour laquelle nous avons effectué une comparaison entre le groupe des femmes testées et celui des femmes non testées (voir annexe 5). La comparaison a révélé des différences significatives dans certaines variables (âge, origine ethnique, tabagisme, valeurs des CD4, charge virale indétectable, existence de TAR lors de la conception). Mais le nombre élevé de valeurs manquantes dans le groupe des femmes non testées, rend ces résultats difficiles à interpréter. Il est donc possible qu'il existe

des différences réelles entre notre échantillon et le reste de la cohorte, qui limitent la généralisation de nos résultats. Ces différences pourraient s'expliquer par l'augmentation du nombre de dépistage au fil du temps. Le recrutement de la plupart des femmes testées a été plus récent que les non testées de la cohorte (annexe 5). L'évolution des recommandations en matière de TAR dont le démarrage commence de plus en plus tôt durant la grossesse voire avant, a eu pour conséquence une augmentation des femmes sous TAR dans le groupe testé. Ce qui explique le nombre plus élevé de femmes avec une charge virale indétectable et les valeurs plus élevées de CD4 dans ce groupe. En définitive, notre échantillon semble ne pas être similaire au reste de la cohorte mais il pourrait être plus représentatif de la population actuelle des femmes vivant avec le VIH au Canada.

Par ailleurs, il n'est pas impossible quoique peu plausible qu'un biais de sélection entache la validité de l'étude. En effet, les betas calculés pourraient être biaisés si les femmes non incluses dans l'étude étaient celles qui n'étaient pas sous TAR et qui avaient de plus faible ou forts niveaux de biomarqueurs.

Une autre limite concerne la possibilité de biais d'information due à l'observance du traitement qui n'a pas été prise en compte dans l'analyse. L'absence d'information sur la prise réelle des médicaments antirétroviraux pourrait entraîner une erreur de classification de la variable d'exposition (la TAR). En effet, une participante qui ne prend pas son traitement serait assimilable à une participante sans TAR. Il semble cependant plus censé que ce biais soit non différentiel et entraîne une sous-estimation des estimés. Il en est de même pour des variables auto-rapportées comme le tabagisme, qui a un effet sur la concentration des différents biomarqueurs. Le tabagisme pourrait donc être sujet à un biais associé à la mauvaise classification des fumeuses en raison de la désirabilité sociale qui est d'autant plus importante pendant la grossesse. Ainsi, un biais de confusion résiduel dû à une erreur de classification des fumeuses « non avouées » est possible.

6.4.2 Biais de confusion

Comme dans toute étude observationnelle, il y a un potentiel important de biais de confusion. Pour minimiser ce biais, nous avons ajusté pour les facteurs de confusion potentiels par une stratégie de modélisation multivariée. En effet, une multitude de variables (âge maternel, IMC, tabagisme, appartenance ethnique, âge gestationnel sexe du fœtus, etc.) ont été testées dans les modèles pour s'assurer d'un contrôle adéquat de la confusion potentielle. Par contre, malgré cette stratégie, il est possible qu'il ait persisté de la confusion résiduelle dans nos analyses pour une variable non mesurée qui aurait pu agir en tant que variable de confusion. Les facteurs de confusion ont été également contrôlés grâce aux critères d'exclusion comme les grossesses multiples et les aneuploïdies.

6.4.3 Problématique de la multiplicité des tests et analyse en sous-groupe

La crédibilité de nos résultats pourrait être affectée par la multiplicité des tests qui entraînerait une inflation du risque α , surtout en l'absence de procédure d'ajustement du seuil de significativité ou de contrôle de cette erreur (de première espèce), comme c'est le cas dans notre étude. Par ailleurs, l'analyse réalisée sur le sous-groupe des femmes recevant la thérapie à base d'IP, pourrait aussi entraîner une inflation du risque d'erreur statistique de deuxième espèce, c'est-à-dire d'erreur β d'autant plus que l'effectif des sous-groupes est réduit.

6.5 Implication pour la santé publique

Le VIH est un problème de santé mondiale et affecte toutes les populations incluant le Canada et toutes les populations de femmes en âge de procréer. Un nombre non négligeable de femmes vivant avec le VIH au Canada peuvent désormais donner naissance à des enfants avec un risque quasi nul de transmission du VIH grâce à la mise sous TAR. Il est cependant fondamental d'étudier les effets potentiels de cette TAR chez les enfants exposés en grossesse pour leur assurer un devenir adéquat. Les résultats de cette étude contribuent à une meilleure compréhension de la relation entre la TAR et les complications périnatales, aidant ainsi à

l'avancement du programme de recherche qui vise à mieux comprendre la pathophysiologie de cette relation pour ainsi se répercuter sur la santé des enfants.

Nos résultats seront intégrés à la prochaine mise à jour des lignes directrices canadiennes sur la prise en charge des femmes vivant avec le VIH pendant leurs grossesses (14), en renforçant le niveau de preuve quant à l'innocuité de l'utilisation précoce de la TAR durant la grossesse. Ce renforcement permettra peut-être de faciliter la prescription et la compliance au TAR avant la conception, de diminuer le risque de transmission périnatale du VIH et donc d'améliorer le devenir autant des mères vivant avec le VIH que de leurs enfants. En effet, le risque de transmission périnatale du VIH est pratiquement nul lorsque les femmes débutent une TAR avant la conception et maintiennent une charge virale indétectable pendant la grossesse (151).

Comprendre la relation entre infection à VIH, TAR et dépistage de l'aneuploïdie est plus important que jamais, car les femmes représentent la moitié des cas d'infection par le VIH dans le monde et la majorité d'entre elles sont en âge de procréer (152). Dans les pays où le dépistage de l'aneuploïdie est devenu la norme, le nombre de grossesses augmente chez les femmes vivant avec le VIH (153).

7 Conclusion

Notre étude suggère que la TAR, à base d'IP ou non, est associée à une augmentation du niveau d'AFP au deuxième trimestre de la grossesse, sans que nous ayons pu mettre en évidence une association avec la durée d'exposition à la TAR. Les concentrations sériques de β -hCG libre et PAPP-A (premier trimestre), ainsi que d'oestriol non conjugué, d'hCG et d'inhibine A (deuxième trimestre) n'ont pas été significativement associées avec la TAR, qu'elle soit ou non à base d'IP. Il n'y a pas non plus d'association avec une variation de la concentration sérique des facteurs angiogéniques (PlGF et sFlt-1) au premier et deuxième trimestre de la grossesse. Ces données semblent dans l'ensemble rassurantes pour ce qui est des conséquences de l'utilisation précoce de la TAR pendant la grossesse. Cependant des études plus approfondies, notamment au deuxième et au troisième trimestre sont nécessaires afin de mieux comprendre le lien entre la TAR et la fonction placentaire.

Bibliographie

1. ONUSIDA. Fiches d'information 2016 [Available from: <http://www.unaids.org/fr/resources/fact-sheet>.
2. Agence de la santé publique du Canada. Le VIH et le sida au Canada. Rapport de surveillance en date du 31 décembre 2014. Ottawa: Agence de la santé publique du Canada; 2015.
3. Agence de la santé publique du Canada. Résumé: Estimations de l'incidence, de la prévalence et de la proportion non diagnostiquée au VIH au Canada. Ottawa: Agence de la santé publique du Canada; 2015.
4. Loutfy MR, Margolese S, Money DM, Gysler M, Hamilton S, Yudin MH. Canadian HIV pregnancy planning guidelines. *Int J Gynaecol Obstet*. 2012;119(1):89-99.
5. Siegfried N, van der Merwe L, Brocklehurst P, Sint TT. Antiretrovirals for reducing the risk of mother-to-child transmission of HIV infection. *Cochrane Database Syst Rev*. 2011(7):CD003510.
6. Charlton TG, Franklin JM, Douglas M, Short CE, Mills I, Smith R, et al. The impact of HIV infection and antiretroviral therapy on the predicted risk of Down syndrome. *Prenat Diagn*. 2014;34(2):121-7.
7. Brocklehurst P, French R. The association between maternal HIV infection and perinatal outcome: a systematic review of the literature and meta-analysis. *BJOG*. 1998;105(8):836-48.
8. Wedi CO, Kirtley S, Hopewell S, Corrigan R, Kennedy SH, Hemelaar J. Perinatal outcomes associated with maternal HIV infection: a systematic review and meta-analysis. *The Lancet HIV*. 2016;3(1):e33-e48.
9. Lopez M, Figueras F, Hernandez S, Lonca M, Garcia R, Palacio M, et al. Association of HIV infection with spontaneous and iatrogenic preterm delivery: effect of HAART. *AIDS*. 2012;26(1):37-43.
10. Chen JY, Ribaud HJ, Souda S, Parekh N, Ogwu A, Lockman S, et al. Highly active antiretroviral therapy and adverse birth outcomes among HIV-infected women in Botswana. *J Infect Dis*. 2012;206(11):1695-705.
11. Li N, Sando MM, Spiegelman D, Hertzmark E, Liu E, Sando D, et al. Antiretroviral therapy in relation to birth outcomes among HIV-infected women: a cohort study. *J Infect Dis*. 2015;213(7):1057-64.
12. Alemu FM, Yalew AW, Fantahun M, Ashu EE. Antiretroviral Therapy and Pregnancy Outcomes in Developing Countries: A Systematic Review. *Int J MCH AIDS*. 2015;3(1):31-43.
13. Papp E, Mohammadi H, Loutfy MR, Yudin MH, Murphy KE, Walmsley SL, et al. HIV protease inhibitor use during pregnancy is associated with decreased progesterone levels, suggesting a potential mechanism contributing to fetal growth restriction. *J Infect Dis*. 2015;211(1):10-8.
14. Money D, Tulloch K, Boucoiran I, Caddy S, Yudin MH, Allen V, et al. Guidelines for the care of pregnant women living with HIV and interventions to reduce perinatal transmission: Executive summary. *Journal of obstetrics and gynaecology Canada*. 2014;36(8):721-34.
15. Department of Health and Human Services. Panel on Antiretroviral Guidelines for Adults and Adolescents. Guidelines for the use of antiretroviral agents in HIV-1-infected adults and adolescents. Department of Health and Human Services; 2016.
16. OMS. VIH/sida : Aide-mémoire N°360 2016 [Available from: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs360/fr/>.
17. Burdge DR, Money DM, Forbes JC, Walmsley SL, Smaill FM, Boucher M, et al. Canadian consensus guidelines for the management of pregnant HIV-positive women and their offspring. *CMAJ*. 2003;168(13):1671-4.

18. Hegazi A, Mc Keown D, Doerholt K, Donaghy S, Sadiq ST, Hay P. Raltegravir in the prevention of mother-to-child transmission of HIV-1: effective transplacental transfer and delayed plasma clearance observed in preterm neonates. *AIDS*. 2012;26(18):2421-3.
19. Schalkwijk S, Greupink R, Colbers AP, Wouterse AC, Verweij VG, van Drongelen J, et al. Placental transfer of the HIV integrase inhibitor dolutegravir in an ex vivo human cotyledon perfusion model. *J Antimicrob Chemother*. 2016;71(2):480-3.
20. Suy A, Martínez E, Coll O, Lonca M, Palacio M, de Lazzari E, et al. Increased risk of pre-eclampsia and fetal death in HIV-infected pregnant women receiving highly active antiretroviral therapy. *AIDS*. 2006;20(1):59-66.
21. Wimalasundera R, Larbalestier N, Smith J, De Ruiter A, Thom SM, Hughes A, et al. Pre-eclampsia, antiretroviral therapy, and immune reconstitution. *The Lancet*. 2002;360(9340):1152-4.
22. Sansone M, Sarno L, Saccone G, Berghella V, Maruotti GM, Migliucci A, et al. Risk of Preeclampsia in Human Immunodeficiency Virus–Infected Pregnant Women. *Obstet Gynecol*. 2016;127(6):1027-32.
23. Einstein FH, Wright RL, Trentacoste S, Gross S, Merkatz IR, Bernstein PS. The impact of protease inhibitors on maternal serum screening analyte levels in pregnant women who are HIV positive. *Am J Obstet Gynecol*. 2004;191(3):1004-8.
24. Le Meaux J-P, Tsatsaris V, Schmitz T, Fulla Y, Launay O, Goffinet F, et al. Maternal Biochemical Serum Screening for Down Syndrome in Pregnancy With Human Immunodeficiency Virus Infection. *Obstet Gynecol*. 2008;112(2, Part 1):223-30.
25. Gross S, Castillo W, Crane M, Espinosa B, Carter S, DeVeaux R, et al. Maternal serum α -fetoprotein and human chorionic gonadotropin levels in women with human immunodeficiency virus. *Am J Obstet Gynecol*. 2003;188(4):1052-6.
26. Ackerman Iv W, J. Kwiek J. Role of the Placenta in Adverse Perinatal Outcomes among HIV-1 Seropositive Women. *Journal of Nippon Medical School*. 2013;80(2):90-4.
27. Agence de la santé publique du Canada. Le VIH et le sida au Canada. Rapport de surveillance en date du 31 décembre 2007. Agence de la santé publique du Canada, Division de la surveillance et de l'évaluation des risques, Centre de la lutte contre les maladies transmissibles et les infections; 2008.
28. Bourgeois A, Edmunds M, Awan A, Jonah L, Varsaneux O, Siu W. Le VIH au Canada—Rapport de surveillance, 2016. *Can Commun Dis Rep*. 2017;43(12):282-91.
29. Loutfy MR, Hart TA, Mohammed SS, Su D, Ralph ED, Walmsley SL, et al. Fertility desires and intentions of HIV-positive women of reproductive age in Ontario, Canada: a cross-sectional study. *PLoS One*. 2009;4(12):e7925.
30. Rouzioux C, Costagliola D, Burgard M, Blanche S, Mayaux M, Griscelli C, et al. Estimated timing of mother-to-child human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) transmission by use of a Markov model. *Am J Epidemiol*. 1995;142(12):1330-7.
31. Nduati R, John G, Mbori-Ngacha D, Richardson B, Overbaugh J, Mwatha A, et al. Effect of breastfeeding and formula feeding on transmission of HIV-1: a randomized clinical trial. *JAMA*. 2000;283(9):1167-74.
32. Forbes JC, Alimenti AM, Singer J, Brophy JC, Bitnun A, Samson LM, et al. A national review of vertical HIV transmission. *AIDS*. 2012;26(6):757-63.
33. Gerbouin O, Grellet J. Les antirétroviraux anti-VIH disponibles. *Actual Pharm*. 2017;56(564, Supplement):3-16.
34. Panel on Treatment of Pregnant Women with HIV Infection and Prevention of Perinatal Transmission. Recommendations for Use of Antiretroviral Drugs in Transmission in the United States [Available from: <https://aidsinfo.nih.gov/contentfiles/lvguidelines/perinatalgl.pdf>].

35. Aebi C, Battegay M, Bernasconi E, Semprini A. Combination antiretroviral therapy and duration of pregnancy. *AIDS*. 2000;14(18):2913-20.
36. Adams JW, Watts DH, Phelps BR. A systematic review of the effect of HIV infection and antiretroviral therapy on the risk of pre-eclampsia. *International Journal of Gynecology & Obstetrics*. 2016;133(1):17-21.
37. Tooke L, Riemer L, Matjila M, Harrison M. Antiretrovirals causing severe pre-eclampsia. *Pregnancy Hypertension: An International Journal of Women's Cardiovascular Health*. 2016;6(4):266-8.
38. Browne JL, Schrier VJ, Grobbee DE, Peters SA, Klipstein-Grobusch K. HIV, antiretroviral therapy, and hypertensive disorders in pregnancy: a systematic review and meta-analysis. *JAIDS Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes*. 2015;70(1):91-8.
39. Sibiude J. Tolérance maternelle et néonatale des antirétroviraux pendant la grossesse à l'ère des multithérapies [Doctorat]. Villejuif: L'UNIVERSITE PARIS-SACLAY; 2017.
40. L'Herminé-Coulomb A. Examen du placenta. *EMC-Gynécologie-Obstétrique*. 2005;2(3):242-60.
41. Gude NM, Roberts CT, Kalionis B, King RG. Growth and function of the normal human placenta. *Thromb Res*. 2004;114(5):397-407.
42. Donnelly L, Campling G. Functions of the placenta. *Anaesthesia & intensive care medicine*. 2016;17(7):349-53.
43. Norwitz ER. Defective implantation and placentation: laying the blueprint for pregnancy complications. *Reprod Biomed Online*. 2006;13(4):591-9.
44. McElrath TF, Hecht JL, Dammann O, Boggess K, Onderdonk A, Markenson G, et al. Pregnancy Disorders That Lead to Delivery Before the 28th Week of Gestation: An Epidemiologic Approach to Classification. *Am J Epidemiol*. 2008;168(9):980-9.
45. Dane B, Dane C, Kiray M, Cetin A, Koldas M, Erginbas M. Correlation between First-Trimester Maternal Serum Markers, Second-Trimester Uterine Artery Doppler Indices and Pregnancy Outcome. *Gynecol Obstet Invest*. 2010;70(2):126-31.
46. Sahraravand M, Järvelä I, Laitinen P, Tekay A, Ryyänen M. The secretion of PAPP-A, ADAM12, and PP13 correlates with the size of the placenta for the first month of pregnancy. *Placenta*. 2011;32(12):999-1003.
47. Anderson UD, Olsson M, Kristensen K, Åkerström B, Hansson S. Review: Biochemical markers to predict preeclampsia. *Placenta*. 2012;33:S42-S7.
48. Kuc S, Wortelboer EJ, van Rijn BB, Franx A, Visser GH, Schielen PC. Evaluation of 7 serum biomarkers and uterine artery Doppler ultrasound for first-trimester prediction of preeclampsia: a systematic review. *Obstet Gynecol Surv*. 2011;66(4):225-39.
49. Savvidou MD, Samuel I, Syngelaki A, Poulton M, Nicolaides KH. First-trimester markers of aneuploidy in women positive for HIV. *BJOG*. 2011;118(7):844-8.
50. Summers AM, Langlois S, Wyatt P, Douglas Wilson R, Douglas Wilson R, Allen V, et al. Prenatal Screening for Fetal Aneuploidy. *Journal of Obstetrics and Gynaecology Canada*. 29(2):146-61.
51. Dugoff L. First-and second-trimester maternal serum markers for aneuploidy and adverse obstetric outcomes. *Obstet Gynecol*. 2010;115(5):1052-61.
52. Duric K, Skrablin S, Lesin J, Kalafatic D, Kuvacic I, Suchanek E. Second trimester total human chorionic gonadotropin, alpha-fetoprotein and unconjugated estriol in predicting pregnancy complications other than fetal aneuploidy. *European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology*. 2003;110(1):12-5.
53. Evain-Brion D, Malassine A. Human placenta as an endocrine organ. *Growth Horm IGF Res*. 2003;13 Suppl A:S34-7.

54. Spencer K, Cowans NJ, Avgidou K, Nicolaides KH. First-trimester ultrasound and biochemical markers of aneuploidy and the prediction of impending fetal death. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2006;28(5):637-43.
55. Dugoff L, Hobbins JC, Malone FD, Porter TF, Luthy D, Comstock CH, et al. First-trimester maternal serum PAPP-A and free-beta subunit human chorionic gonadotropin concentrations and nuchal translucency are associated with obstetric complications: a population-based screening study (the FASTER Trial). *American journal of obstetrics and gynecology.* 2004;191(4):1446-51.
56. Smith GC, Stenhouse EJ, Crossley JA, Aitken DA, Cameron AD, Connor JM. Early pregnancy levels of pregnancy-associated plasma protein a and the risk of intrauterine growth restriction, premature birth, preeclampsia, and stillbirth. *J Clin Endocrinol Metab.* 2002;87(4):1762-7.
57. Krantz D, Goetzl L, Simpson JL, Thom E, Zachary J, Hallahan TW, et al. Association of extreme first-trimester free human chorionic gonadotropin-beta, pregnancy-associated plasma protein A, and nuchal translucency with intrauterine growth restriction and other adverse pregnancy outcomes. *American journal of obstetrics and gynecology.* 2004;191(4):1452-8.
58. Lawrence JB, Oxvig C, Overgaard MT, Sottrup-Jensen L, Gleich GJ, Hays LG, et al. The insulin-like growth factor (IGF)-dependent IGF binding protein-4 protease secreted by human fibroblasts is pregnancy-associated plasma protein-A. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1999;96(6):3149-53.
59. Conover CA, Bale LK, Overgaard MT, Johnstone EW, Laursen UH, Fuchtbauer E-M, et al. Metalloproteinase pregnancy-associated plasma protein A is a critical growth regulatory factor during fetal development. *Development.* 2004;131(5):1187-94.
60. Conover CA, Bale LK, Overgaard MT, Johnstone EW, Laursen UH, Fuchtbauer EM, et al. Metalloproteinase pregnancy-associated plasma protein A is a critical growth regulatory factor during fetal development. *Development.* 2004;131(5):1187-94.
61. Spencer K, Cowans NJ, Chefetz I, Tal J, Meiri H. First-trimester maternal serum PP-13, PAPP-A and second-trimester uterine artery Doppler pulsatility index as markers of pre-eclampsia. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2007;29(2):128-34.
62. Poon LC, Maiz N, Valencia C, Plasencia W, Nicolaides KH. First-trimester maternal serum pregnancy-associated plasma protein-A and pre-eclampsia. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2009;33(1):23-33.
63. Akolekar R, Syngelaki A, Beta J, Kocylowski R, Nicolaides KH. Maternal serum placental protein 13 at 11-13 weeks of gestation in preeclampsia. *Prenat Diagn.* 2009.
64. Spencer K, Cowans NJ, Avgidou K, Molina F, Nicolaides KH. First-trimester biochemical markers of aneuploidy and the prediction of small-for-gestational age fetuses. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2008;31(1):15-9.
65. Spencer K, Cowans NJ, Molina F, Kagan KO, Nicolaides KH. First-trimester ultrasound and biochemical markers of aneuploidy and the prediction of preterm or early preterm delivery. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2008;31(2):147-52.
66. Spencer K, Cowans NJ, Nicolaides KH. Low levels of maternal serum PAPP-A in the first trimester and the risk of pre-eclampsia. *Prenat Diagn.* 2008;28(1):7-10.
67. Boucoiran I, Djemli A, Taillefer C, Rypens F, Delvin E, Audibert F. First-trimester prediction of birth weight. *American journal of perinatology.* 2013;30(8):665-72.
68. Audibert F, Boucoiran I, An N, Aleksandrov N, Delvin E, Bujold E, et al. Screening for preeclampsia using first-trimester serum markers and uterine artery Doppler in nulliparous women. *American journal of obstetrics and gynecology.* 2010;203(4):383 e1-8.
69. Gitlin D. Normal biology of alpha-fetoprotein. *Ann N Y Acad Sci.* 1975;259:7-16.

70. Berkeley AS, Killackey MA, Cederqvist LL. Elevated maternal serum alpha-fetoprotein levels associated with breakdown in fetal-maternal-placental barrier. *American journal of obstetrics and gynecology*. 1983;146(7):859-61.
71. Yaron Y, Cherry M, Kramer RL, O'Brien JE, Hallak M, Johnson MP, et al. Second-trimester maternal serum marker screening: maternal serum alpha-fetoprotein, beta-human chorionic gonadotropin, estriol, and their various combinations as predictors of pregnancy outcome. *American journal of obstetrics and gynecology*. 1999;181(4):968-74.
72. Perkes EA, Baim RS, Goodman KJ, Macri JN. Second-trimester placental changes associated with elevated maternal serum alpha-fetoprotein. *American journal of obstetrics and gynecology*. 1982;144(8):935-8.
73. Spong CY, Ghidini A, Walker CN, Ossandon M, Pezzullo JC. Elevated maternal serum midtrimester alpha-fetoprotein levels are associated with fetoplacental ischemia. *American journal of obstetrics and gynecology*. 1997;177(5):1085-7.
74. Krause TG, Christens P, Wohlfahrt J, Lei U, Westergaard T, Norgaard-Pedersen B, et al. Second-trimester maternal serum alpha-fetoprotein and risk of adverse pregnancy outcome(1). *Obstet Gynecol*. 2001;97(2):277-82.
75. Chandra S, Scott H, Dodds L, Watts C, Blight C, Van Den Hof M. Unexplained elevated maternal serum alpha-fetoprotein and/or human chorionic gonadotropin and the risk of adverse outcomes. *American journal of obstetrics and gynecology*. 2003;189(3):775-81.
76. Spencer K. Second-trimester prenatal screening for Down syndrome and the relationship of maternal serum biochemical markers to pregnancy complications with adverse outcome. *Prenat Diagn*. 2000;20(8):652-6.
77. Dugoff L, Hobbins JC, Malone FD, Vidaver J, Sullivan L, Canick JA, et al. Quad screen as a predictor of adverse pregnancy outcome. *Obstet Gynecol*. 2005;106(2):260-7.
78. Aquilina J, Maplethorpe R, Ellis P, Harrington K. Correlation Between Second Trimester Maternal Serum Inhibin-A and Human Chorionic Gonadotrophin for the Prediction of Pre-eclampsia. *Placenta*. 2000;21(5-6):487.
79. Audibert F, Benchimol Y, Benattar C, Champagne C, Frydman R. Prediction of preeclampsia or intrauterine growth restriction by second trimester serum screening and uterine Doppler velocimetry. *Fetal Diagn Ther*. 2005;20:48-53.
80. Kowalczyk TD, Cabaniss ML, Cusmano L. Association of low unconjugated estriol in the second trimester and adverse pregnancy outcome. *Obstet Gynecol*. 1998;91(3):396-400.
81. Muttukrishna S, Child TJ, Groome NP, Ledger WL. Source of circulating levels of inhibin A, pro alpha C-containing inhibins and activin A in early pregnancy. *Hum Reprod*. 1997;12(5):1089-93.
82. Muttukrishna S. Role of inhibin in normal and high-risk pregnancy. *Semin Reprod Med*. 2004;22(3):227-34.
83. Lecarpentier E, Vieillefosse S, Haddad B, Fournier T, Leguy M-C, Guibourdenche J, et al. Le facteur de croissance placentaire (PlGF) et son récepteur soluble (sFlt-1) au cours de la grossesse: physiologie, dosage et intérêt dans la prééclampsie. *Ann Biol Clin (Paris)*. 2016;74(3):259-67.
84. Clark D, Smith S, Licence D, Evans A, Charnock-Jones D. Comparison of expression patterns for placenta growth factor, vascular endothelial growth factor (VEGF), VEGF-B and VEGF-C in the human placenta throughout gestation. *J Endocrinol*. 1998;159(3):459-67.
85. Welch PC, Amankwah KS, Miller P, McAsey ME, Torry DS. Correlations of placental perfusion and PlGF protein expression in early human pregnancy. *Am J Obstet Gynecol*. 2006;194(6):1625-9.
86. Boucoiran I, Thissier-Levy S, Wu Y, Wei S-Q, Luo Z-C, Delvin E, et al. Risks for preeclampsia and small for gestational age: predictive values of placental growth factor, soluble fms-like tyrosine

kinase-1, and inhibin A in singleton and multiple-gestation pregnancies. *Am J Perinatol.* 2013;30(07):607-12.

87. Romero R, Nien JK, Espinoza J, Todem D, Fu W, Chung H, et al. A longitudinal study of angiogenic (placental growth factor) and anti-angiogenic (soluble endoglin and soluble vascular endothelial growth factor receptor-1) factors in normal pregnancy and patients destined to develop preeclampsia and deliver a small for gestational age neonate. *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2008;21(1):9-23.

88. Levine RJ, Maynard SE, Qian C, Lim K-H, England LJ, Yu KF, et al. Circulating Angiogenic Factors and the Risk of Preeclampsia. *N Engl J Med.* 2004;350(7):672-83.

89. Vatten LJ, Eskild A, Nilsen TI, Jeansson S, Jenum PA, Staff AC. Changes in circulating level of angiogenic factors from the first to second trimester as predictors of preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol.* 2007;196(3):239. e1- e6.

90. Thadhani R, Mutter WP, Wolf M, Levine RJ, Taylor RN, Sukhatme VP, et al. First trimester placental growth factor and soluble fms-like tyrosine kinase 1 and risk for preeclampsia. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism.* 2004;89(2):770-5.

91. Maynard SE, Min J-Y, Merchan J, Lim K-H, Li J, Mondal S, et al. Excess placental soluble fms-like tyrosine kinase 1 (sFlt1) may contribute to endothelial dysfunction, hypertension, and proteinuria in preeclampsia. *The Journal of clinical investigation.* 2003;111(5):649-58.

92. Verlohren S, Herraiz I, Lapaire O, Schlembach D, Zeisler H, Calda P, et al. New Gestational Phase-Specific Cutoff Values for the Use of the Soluble fms-Like Tyrosine Kinase-1/Placental Growth Factor Ratio as a Diagnostic Test for Preeclampsia Novelty and Significance. *Hypertension.* 2014;63(2):346-52.

93. Lecarpentier E, Fournier T, Guibourdenche J, Tsatsaris V. Physiopathologie de la pré-éclampsie. *La Presse Médicale.* 2016;45(7, Part 1):631-7.

94. Zeisler H, Llurba E, Chantraine F, Vatish M, Staff AC, Sennström M, et al. Predictive value of the sFlt-1: PIGF ratio in women with suspected preeclampsia. *N Engl J Med.* 2016;374(1):13-22.

95. Stepan H, Herraiz I, Schlembach D, Verlohren S, Brennecke S, Chantraine F, et al. Implementation of the sFlt-1/PIGF ratio for prediction and diagnosis of pre-eclampsia in singleton pregnancy: implications for clinical practice. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2015;45(3):241-6.

96. Wald NJ, Kennard A, Hackshaw A, McGuire A. Antenatal Screening for Down's Syndrome. *J Med Screen.* 1997;4(4):181-246.

97. Kagan K, Wright D, Spencer K, Molina F, Nicolaidis K. First-trimester screening for trisomy 21 by free beta-human chorionic gonadotropin and pregnancy-associated plasma protein-A: impact of maternal and pregnancy characteristics. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2008;31(5):493-502.

98. Madsen HN, Ekelund CK, Tørring N, Ovesen PG, Friis-Hansen L, Ringholm L, et al. Impact of type 1 diabetes and glycemic control on fetal aneuploidy biochemical markers. *Acta Obstet Gynecol Scand.* 2012;91(1):57-61.

99. Spencer K, Bindra R, Nicolaidis KH. Maternal weight correction of maternal serum PAPP-A and free β -hCG MoM when screening for trisomy 21 in the first trimester of pregnancy. *Prenat Diagn.* 2003;23(10):851-5.

100. Spencer K. The influence of fetal sex in screening for Down syndrome in the second trimester using AFP and free β -hCG. *Prenat Diagn.* 2000;20(8):648-51.

101. Spencer K, Ong CYT, Liao AWJ, Nicolaidis KH. The influence of ethnic origin on first trimester biochemical markers of chromosomal abnormalities. *Prenat Diagn.* 2000;20(6):491-4.

102. Reynolds TM, Vranken G, Van Nueten J. Weight correction of MoM values: which method? *J Clin Pathol.* 2006;59(7):753-8.

103. Watt H, Wald N. Alternative methods of maternal weight adjustment in maternal serum screening for Down syndrome and neural tube defects. *Prenat Diagn.* 1998;18(8):842-5.
104. Zera CA, Seely EW, Wilkins-Haug LE, Lim K-H, Parry SI, McElrath TF. The association of body mass index with serum angiogenic markers in normal and abnormal pregnancies. *Am J Obstet Gynecol.* 2014;211(3):247.e1-.e7.
105. O'brien JE, Dvorin E, Drugan A, Johnson MP, Yaron Y, Evans MI. Race-ethnicity-specific variation in multiple-marker biochemical screening: alpha-fetoprotein, hCG, and estriol. *Obstet Gynecol.* 1997;89(3):355-8.
106. Muller F, Bussi eres L, P elissier MC, Oury JF, Bou e C, Uzan S, et al. Do racial differences exist in second-trimester maternal hCG levels? a study of 23 369 patients. *Prenat Diagn.* 1994;14(7):633-6.
107. Yang J, Pearl M, DeLorenze GN, Romero R, Dong Z, Jelliffe-Pawlowski L, et al. Racial-ethnic differences in midtrimester maternal serum levels of angiogenic and antiangiogenic factors. *Am J Obstet Gynecol.* 2016;215(3):359.e1-.e9.
108. Mijal RS, Holzman CB, Rana S, Karumanchi SA, Wang J, Sikorskii A. Midpregnancy levels of angiogenic markers in relation to maternal characteristics. *Am J Obstet Gynecol.* 2011;204(3):244.e1-.e12.
109. Browne JL, Klipstein-Grobusch K, Koster MP, Ramamoorthy D, Antwi E, Belmouden I, et al. Pregnancy associated plasma protein-A and placental growth factor in a sub-Saharan African population: a nested cross-sectional study. *PLoS One.* 2016;11(8):e0159592.
110. Wald N, Watt H. Serum markers for Down's syndrome in relation to number of previous births and maternal age. *Prenat Diagn.* 1996;16(8):699-703.
111. Haddow JE, Palomaki GE, Knight GJ. Effect of parity on human chorionic gonadotropin levels and Down's syndrome screening. *J Med Screen.* 1995;2(1):28-30.
112. Zimmermann R, Streicher A, Huch R, Huch A. Effect of gravidity and parity on the parameters used in serum screening for trisomy 21. *Prenat Diagn.* 1995;15(8):781-2.
113. Spencer K. The influence of gravidity on Down's syndrome screening with free beta hCG. *Prenat Diagn.* 1995;15(1):87-9.
114. Wolf M, Shah A, Lam C, Martinez A, Smirnakis KV, Epstein FH, et al. Circulating levels of the antiangiogenic marker sFLT-1 are increased in first versus second pregnancies. *Am J Obstet Gynecol.* 2005;193(1):16-22.
115. Spencer K. The influence of smoking on maternal serum AFP and free beta hCG levels and the impact on screening for Down syndrome. *Prenat Diagn.* 1998;18(3):225-34.
116. Jeyabalan A, Powers RW, Durica AR, Harger GF, Roberts JM, Ness RB. Cigarette smoke exposure and angiogenic factors in pregnancy and preeclampsia. *Am J Hypertens.* 2008;21(8):943-7.
117. Levine R, Lam C, Qian C, Yu K, Maynard S, Sibai B, et al. Circulating angiogenic factors in smokers and non-smokers during normal pregnancy. *Am J Obstet Gynecol.* 2005;193(6):S75.
118. Andersen LB, J orgensen JS, Herse F, Andersen MS, Christesen HT, Dechend R. The association between angiogenic markers and fetal sex: Implications for preeclampsia research. *J Reprod Immunol.* 2016;117:24-9.
119. Muller F, Dreux S, Lemeur A, Sault C, Desgres J, Bernard MA, et al. Medically assisted reproduction and second-trimester maternal serum marker screening for Down syndrome. *Prenat Diagn.* 2003;23(13):1073-6.
120. Ribbert L, Kornman L, De Wolf B, Simons A, Jansen C, Beekhuis J, et al. Maternal serum screening for fetal Down syndrome in IVF pregnancies. *Prenat Diagn.* 1996;16(1):35-8.
121. Heinonen S, Ryy n anen M, Kirkinen P, Hippel ainen M, Saarikoski S. Effect of in vitro fertilization on human chorionic gonadotropin serum concentrations and Down's syndrome screening. *Fertil Steril.* 1996;66(3):398-403.

122. Frishman GN, Canick JA, Hogan JW, Hackett RJ, Kellner LH, Saller DN. Serum triple-marker screening in in vitro fertilization and naturally conceived pregnancies. *Obstet Gynecol.* 1997;90(1):98-101.
123. Lam YH, Yeung WSB, Tang MHY, Ng EHY, So WWK, Ho PC. Maternal serum alpha-fetoprotein and human chorionic gonadotrophin in pregnancies conceived after intracytoplasmic sperm injection and conventional in-vitro fertilization. *Hum Reprod.* 1999;14(8):2120-3.
124. Maymon R, Shulman A. Serial first-and second-trimester Down's syndrome screening tests among IVF-versus naturally-conceived singletons. *Hum Reprod.* 2002;17(4):1081-5.
125. Chougrani I, Muller F, Marcelin L, Tsatsaris V, Abric J, Luton D, et al. Combined first-trimester Down syndrome screening in HIV-infected women. *European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology.* 2016;203:274-8.
126. Brossard P, Boulvain M, Coll O, Barlow P, Aebi-Popp K, Bischof P, et al. Is screening for fetal anomalies reliable in HIV-infected pregnant women? A multicentre study. *AIDS.* 2008;22(15):2013-7.
127. Spencer K. First and Second Trimester Markers of Fetal Aneuploidy in Pregnant Women with HIV Infection. *Fetal Diagn Ther.* 2011;29(2):135-8.
128. Yudin MH, Prosen TL, Landers DV. Multiple-marker screening in human immunodeficiency virus-positive pregnant women: screen positivity rates with the triple and quad screens. *Am J Obstet Gynecol.* 2003;189(4):973-6.
129. Govender N, Naicker T, Moodley J. Maternal imbalance between pro-angiogenic and anti-angiogenic factors in HIV-infected women with pre-eclampsia: cardiovascular topics. *Cardiovasc J Afr.* 2013;24(5):174-9.
130. Govender N, Naicker T, Rajakumar A, Moodley J. Soluble fms-like tyrosine kinase-1 and soluble endoglin in HIV-associated preeclampsia. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2013;170(1):100-5.
131. Powis KM, McElrath TF, Hughes MD, Ogwu A, Souda S, Datwyler SA, et al. High viral load and elevated angiogenic markers associated with increased risk of preeclampsia among women initiating highly active antiretroviral therapy in pregnancy in the Mma Bana study, Botswana. *J Acquir Immune Defic Syndr.* 2013;62(5):517-24.
132. Conroy AL, McDonald CR, Gamble JL, Olwoch P, Natureeba P, Cohan D, et al. Altered angiogenesis as a common mechanism underlying preterm birth, small for gestational age, and stillbirth in women living with HIV. *Am J Obstet Gynecol.* 2017;217(6):684.e1-.e17.
133. Pore N, Gupta AK, Cerniglia GJ, Maity A. HIV Protease Inhibitors Decrease VEGF/HIF-1 α Expression and Angiogenesis in Glioblastoma Cells. *Neoplasia.* 2006;8(11):889-95.
134. Sgadari C, Barillari G, Toschi E, Carlei D, Bacigalupo I, Baccarini S, et al. HIV protease inhibitors are potent anti-angiogenic molecules and promote regression of Kaposi sarcoma. *Nat Med.* 2002;8:225.
135. Papp E, Mohammadi H, Serghides L. Changes in placental vasculature and pregnancy outcomes in HIV-antiretroviral drug exposed mice. *Placenta.* 2014;35(9):A17.
136. Lapointe N, Kakkar F, Lamarre V, Boucher M, Boucoiran I, Renaud C, et al. Évaluation des facteurs associés à la transmission du VIH de la mère à l'enfant et à la progression de la maladie: La Cohorte mères-enfants du CMIS. Protocole version 2.0. 2017.
137. Lambert-Messerlian G, Palomaki GE, Canick JA. Examination of the pregnancy-associated plasma protein-A assay on the Beckman Coulter Access[®] platform: suitability for use in first trimester Down's syndrome screening. *J Med Screen.* 2010;17(3):109-13.
138. Polliotti B, Gnall-Sazenski S, Laughlin T, Miller R. Inhibitory effects of human chorionic gonadotropin (hCG) preparations on HIV infection of human placenta in vitro. *Placenta.* 2002;23:S102-S6.

139. Lin J, Lojun S, Lei Z, Wu W, Peiner S, Rao CV. Lymphocytes from pregnant women express human chorionic gonadotropin/luteinizing hormone receptor gene. *Mol Cell Endocrinol.* 1995;111(1):R13-R7.
140. Gagnon A, Wilson RD, Audibert F, Allen VM, Blight C, Brock J-A, et al. Complications obstétricales associées aux analytes anormaux des marqueurs sériques maternels. *Journal of Obstetrics and Gynaecology Canada.* 2008;30(10):933-49.
141. Geyl C, Subtil D, Vaast P, Coulon C, Clouqueur E, Deruelle P, et al. Interprétation des valeurs atypiques des marqueurs sériques. *Journal de Gynécologie Obstétrique et Biologie de la Reproduction.* 2014;43(1):5-11.
142. Mizejewski GJ. Levels of alpha-fetoprotein during pregnancy and early infancy in normal and disease states. *Obstet Gynecol Surv.* 2003;58(12):804-26.
143. Duc-Goiran P, Mignot T, Robert B, Machavoine F, Mondon F, Hagnere A, et al. Expression and localization of alpha-fetoprotein mRNA and protein in human early villous trophoblasts. *Placenta.* 2006;27(8):812-21.
144. Newby D, Dalglish G, Lyall F, Aitken D. Alphafetoprotein and alphafetoprotein receptor expression in the normal human placenta at term. *Placenta.* 2005;26(2):190-200.
145. Mizejewski GJ. Alpha-fetoprotein structure and function: relevance to isoforms, epitopes, and conformational variants. *Exp Biol Med.* 2001;226(5):377-408.
146. Schulte J, Dominguez K, Sukalac T, Bohannon B, Fowler MG. Declines in low birth weight and preterm birth among infants who were born to HIV-infected women during an era of increased use of maternal antiretroviral drugs: *Pediatric Spectrum of HIV Disease, 1989-2004.* *Pediatrics.* 2007;119(4):e900-6.
147. Kakkar F, Boucoiran I, Lamarre V, Ducruet T, Amre D, Soudeyns H, et al. Risk factors for pre-term birth in a Canadian cohort of HIV-positive women: role of ritonavir boosting? *J Int AIDS Soc.* 2015;18(1):19933.
148. Balogun KA, Lenis MG, Papp E, Loutfy M, Yudin MH, MacGillivray J, et al. Elevated levels of estradiol in HIV-positive pregnant women on protease inhibitor-based regimens. *Clin Infect Dis.* 2017.
149. Wimalasundera RC, Larbalestier N, Smith JH, de Ruiter A, Mc GTSA, Hughes AD, et al. Pre-eclampsia, antiretroviral therapy, and immune reconstitution. *Lancet.* 2002;360(9340):1152-4.
150. Cowans N, Kisanga M, Khan A, Spencer K. A comparison of two immunoassay methods for the measurement of maternal serum placental growth factor in early pregnancy. *Fetal Diagn Ther.* 2012;31(4):254-9.
151. Mandelbrot L, Tubiana R, Le Chenadec J, Dollfus C, Faye A, Pannier E, et al. No perinatal HIV-1 transmission from women with effective antiretroviral therapy starting before conception. *Clin Infect Dis.* 2015;61(11):1715-25.
152. UNAIDS. UNAIDS data 2017 2017 [Available from: http://www.unaids.org/sites/default/files/media_asset/2017_data-book_en.pdf.
153. Salters K, Loutfy M, de Pokomandy A, Money D, Pick N, Wang L, et al. Pregnancy incidence and intention after HIV diagnosis among women living with HIV in Canada. *PLoS One.* 2017;12(7):e0180524.

Annexe 1 : Études évaluant l'association entre la TAR et les issues périnatales défavorables

Tableau 1 : Principales études sur les traitements antirétroviraux et le risque de prématurité d'après Sibiude (39)

| Auteur | | | | | | Comparaison principale | | | Facteurs d'ajustement |
|------------------------|-------|----------------------------|-----------|--|---|---|----------------------------------|------------------------------|---|
| | Année | N | Pays | Période étudiée | Traitements comparés | % préma (n/N) | AOR | IC 95% | |
| Lorenzi 1998 | 594 | Suisse | 1996-1998 | Aucun monothérapie INTI bithérapie INTI ou plus | 14% (63/452) 17% (19/112) 33% (10/30) | 1 2.3 | ref [1.17-7.10] | <0.05 | toxicomanie, stade SIDA voie d'accouchement |
| Cooper 2002 | 1542 | Etats-Unis | 1990-2000 | Aucun monothérapie INTI bithérapie INTI cART | 21% (85/396) 17% (116/710) 19% (34/186) 17% (42/250) | Chi2 sur ensemble des traitements | | 0.71 | Aucun |
| Tuomala 2002 | 3266 | Etats-Unis | 1990-1998 | Aucun monothérapie INTI multithérapie sans IP cART-IP | 20% (228/1143) 16% (254/1590) 14% (55/396) 18% (25/137) | ARV vs aucun multi vs mono IP vs pas d'IP | | 0.02 0.65 0.15 | CD4, toxicomanie, âge, ethnie antécédent obs., année, tabac, alcool |
| Thorne 2004 | 4372 | 9 pays d'Europe | 1986-2004 | Aucun monothérapie INTI bithérapie INTI cART | 17% (402/2339) 17% (118/704) 13% (34/254) 25% (274/1075) | référence : mono et bi regroupés | 2.1 [1.4-2.7] | <0.002 | CD4, toxicomanie, âge ethnie, voie d'accouchement |
| Szyld 2006 | 681 | Amérique Lat. Caraïbes | 2002-2005 | mono ou bi INTI cART-INNTI cART-IP | 6% (7/94) 6% (15/257) 11% (35/330) | 1 0.6 1.1 | [0.2-1.7] [0.5-2.8] | 0.11 | pays, stade SIDA, CV diabète, IMC, HTA voie d'accouchement |
| Cotter 2006 | 1337 | Etats-Unis Unicentrique | 1990-2002 | Aucun monothérapie INTI multithérapie sans IP cART-IP | 26% (89/338) 24% (118/492) 27% (101/373) 37% (49/134) | ARV vs aucun multi vs mono IP vs pas d'IP AOR= 1.6 | | 0.42 0.86 0.03 | CD4, atcd obs., toxicomanie ethnie, alcool, IST, année |

Tableau 1(suite) : Principales études sur les traitements antirétroviraux et le risque de prématurité d'après Sibiude (39)

| Auteur Année | N | Pays | Période étudiée | Traitements comparés | % préma (n/N) | Comparaison principale AOR | p | Facteurs d'ajustement |
|---|----------------|---------------------------------------|---------------------|-------------------------------|----------------|-------------------------------|--------------|--|
| Townsend 2007 | 4939 | Royaume Uni et Irlande | 1/90-12/05 | Aucun | 16% (77/494) | 1 1.39 [1.05-1.83] | 0.02 | toxicomanie, ethnie, âge stade SIDA |
| | | | | mono ou bi INTI | 10% (107/1061) | | | |
| | | | | cART | 14% (476/3384) | | | |
| | | | | cART-3 INTI | 9% (6/69) | | | |
| | | | | cART-INNTI | 14% (261/1831) | | | |
| cART-IP | 14% (169/1256) | cART-IP vs cART sans IP AOR = 0.96 | 0.74 | | | | | |
| | | | Début cART <= 12 SA | 16% (150/914) | | | | |
| | | | Début cART 13-26 SA | 15% (188/1287) | AOR = 1.11 | | 0.46 | |
| Grosch 2008 | 183 | Allemagne Autriche | 1995-2001 | monothérapie INTI | 26% (20/76) | 1 1.57 [0.61-4.05] | 0.35 | CD4, toxicomanie, ethnie âge |
| | | | | bithérapie INTI | 44% (14/32) | | | |
| | | | | cART | 39% (29/75) | | | |
| | | | | cART-IP | 62% (13/21) | | | |
| Machado 2009 | 696 | Brésil Unicentrique | 1996-2006 | monothérapie INTI | 12% (21/179) | 5.1 [1.5-17.0] | 0.002 | Aucun |
| | | | | bithérapie INTI | 9% (18/204) | | | |
| | | | | cART-INNTI | 11% (11/100) | | | |
| | | | | cART-IP | 14% (30/213) | | | |
| | | | | Début cART avant gross. | 20% (20/99) | | | |
| Début cART > 13 SA | 10% (21/205) | 1(ref) | | | | | | |
| Patel 2010 | 777 | Etats-Unis | 2002-2008 | tout traitement sans IP | 13% (28/219) | 1(ref) 1.29 [0.77-2.15] | 0.33 | CD4, CV, stade SIDA âge, ethnie, toxicomanie, tabagisme, atcd obs. |
| | | | | cART-IP | 18% (102/558) | | | |
| | | | | prématurité spontanée tout | 9% (20/211) | | | |
| | | | | cART-IP | 11% (55/511) | | | |
| Essai Mma Bana Powis 2011 | 530 | Botswana | 2006-2008 | 3 INTI | 12% (31/263) | 1(ref) 2.03 [1.26-3.27] | 0.004 | |
| | | | | lopinavir/r + 2INTI | 21% (57/267) | | | |

Annexe 2 : Issues périnatales défavorables associées aux biomarqueurs

Tableau 2 : Issues périnatales défavorables associées aux biomarqueurs du dépistage sérique des aneuploïdies, adapté de Dugoff (51)

| | Biomarqueurs | Description | Seuil | Issues périnatales défavorables |
|--------------------------------------|---|---|-----------------------|---|
| Premier trimestre (10-14 SA) | Protéine plasmatique placentaire de type A (PAPP-A) | - Protéase de la protéine de liaison du facteur de croissance analogue à l'insuline (IGF) - ↑ biodisponibilité de l'IGF - module l'invasion trophoblastique - module le transport du glucose et des acides aminés dans le placenta | <0.4 MoM ¹ | -Prééclampsie - retard de croissance intratérin (RCIU) -avortement spontané -accouchement prématuré |
| | β-hCG libre | Maintient le corps jaune au début de la grossesse | <0.41 MoM | -Perte fœtale <24 SA |
| Deuxième Trimestre (15-21 SA) | Alpha fetoprotéine (AFP) | - glycoprotéine produite par le sac vitellin et le foie fœtal et le tractus gastro-intestinal du fœtus en développement. | ≥2.5 MoM | - accouchement prématuré - RCIU -prééclampsie - hypertension gestationnelle - perte fœtale > 24 SA - décollement placentaire |
| | | | ≤0.25 MoM | -avortement spontané - accouchement prématuré -mort-né -macrosomie |
| | œstriol non conjugué (uE3) | - Produit par le placenta - développement et maintien du phénotype, de la maturation des cellules germinales et de la grossesse | ≤0.5 MoM | -décès fœtal -anencéphalie -fausse couche |
| | gonadotrophine chorionique humaine (HCG) | | > 3.0 MoM | -prééclampsie -perte fœtale - accouchement prématuré -RCIU |
| | Inhibine-A | - régule la croissance cellulaire et la différenciation -rôle dans la reconnaissance immunologique | ≥2.0 MoM | -RCIU - accouchement prématuré -prééclampsie |

¹ Multiple de la médiane

Annexe 3 : Liste des variables collectées

Variables recueillies dans la cohorte du CMIS et la banque de données de la clinique Oak Tree

- informations sociodémographiques et sur les conditions de vie lors du recrutement : date de naissance, origine ethnique, pays de naissance, année d'immigration, statut migratoire, nationalité, langue maternelle, 3 premiers chiffres du code postal, activité professionnelle, statut marital et cohabitation avec le conjoint, origine ethnique du conjoint, statut VIH du conjoint,

- information sur les antécédents médicaux : usage de tabac, drogue, alcool, problème de santé comme diabète, hypertension artérielle, etc...date de diagnostic, évolution

- informations sur le VIH : date du diagnostic, date estimée d'acquisition, mode de contamination présumé, nombre de partenaires sexuels durant les 10 dernières années, CD4 nadir et date

- information sur le test de résistance : date du test, résultats

- information sur la TAR pré-grossesse : détail de la succession des traitements antirétroviraux reçus jusqu'à la date des dernières menstrues (molécules, date de début et fin de chaque séquence)

- informations sur la grossesse actuelle : date prévue de l'accouchement, date des dernières menstrues, taille, poids pré-grossesse, IMC, mode de conception, première pression artérielle prise durant la grossesse, moment du diagnostic par rapport à la grossesse

- informations sur les antécédents obstétricaux : nombre de grossesses antérieures, nombre d'accouchements antérieurs, prématuré, à terme, avortements spontanés, avortements thérapeutiques, enfants vivants, mort-né, décès néo-natal, statut VIH de chaque enfant

- informations sur les sérologies maternelles : date et résultats des tests, hépatites A,B,C, cytomégalovirus, virus varicelle-zona, parvovirus, toxoplasmose, virus herpès simplex, rubéole, syphilis

- informations sur les complications de grossesse : grossesse multiple, diabète gestationnel, hypertension gestationnelle, anomalies du liquide amniotique, retard de croissance intra-utérin, anomalie congénitale, rupture prématurée des membranes, menace d'accouchement prématuré, hospitalisation et date

- informations sur les infections sexuellement transmises actives durant la grossesse : verrue, gonorrhée, chlamydia, trichomonas, vaginose bactérienne, candidose, etc..., date de diagnostic et traitement

- informations sur le test de dépistage des aneuploïdies : date du test, valeurs des marqueurs, risque estimé, amniocentèse, test de dépistage non invasif

- informations sur la TAR durant la grossesse et observance du traitement : détail de la succession des traitements antirétroviraux reçus pendant la grossesse jusqu'à l'accouchement (molécules, date de début et fin de chaque séquence si changement)

- données sur les autres médicaments pris durant la grossesse

- informations sur des addictions à des substances durant la grossesse : cigarettes, marijuana, alcool, méthadone, héroïne, cocaïne/crack, crystal meth, autres

- informations sur les analyses de laboratoire : tous les bilans de CD4 et charge virale plasmatique effectués depuis le début de la grossesse jusqu'à l'issue, hémoglobine, plaquettes, ALAT, ASAT, lactate, créatinine, bilirubine, glycémie

- données sur l'accouchement : date, terme, déclenchement ou travail spontané, mode d'accouchement, mode de rupture des membranes, durée du travail, indication de césarienne, durée d'ouverture de l'œuf, perte sanguine, prise d'ARV, antibiotique, examen du placenta, poids du placenta

- données sur le suivi post-partum de la mère à 4-8 semaines et à 12-18 mois

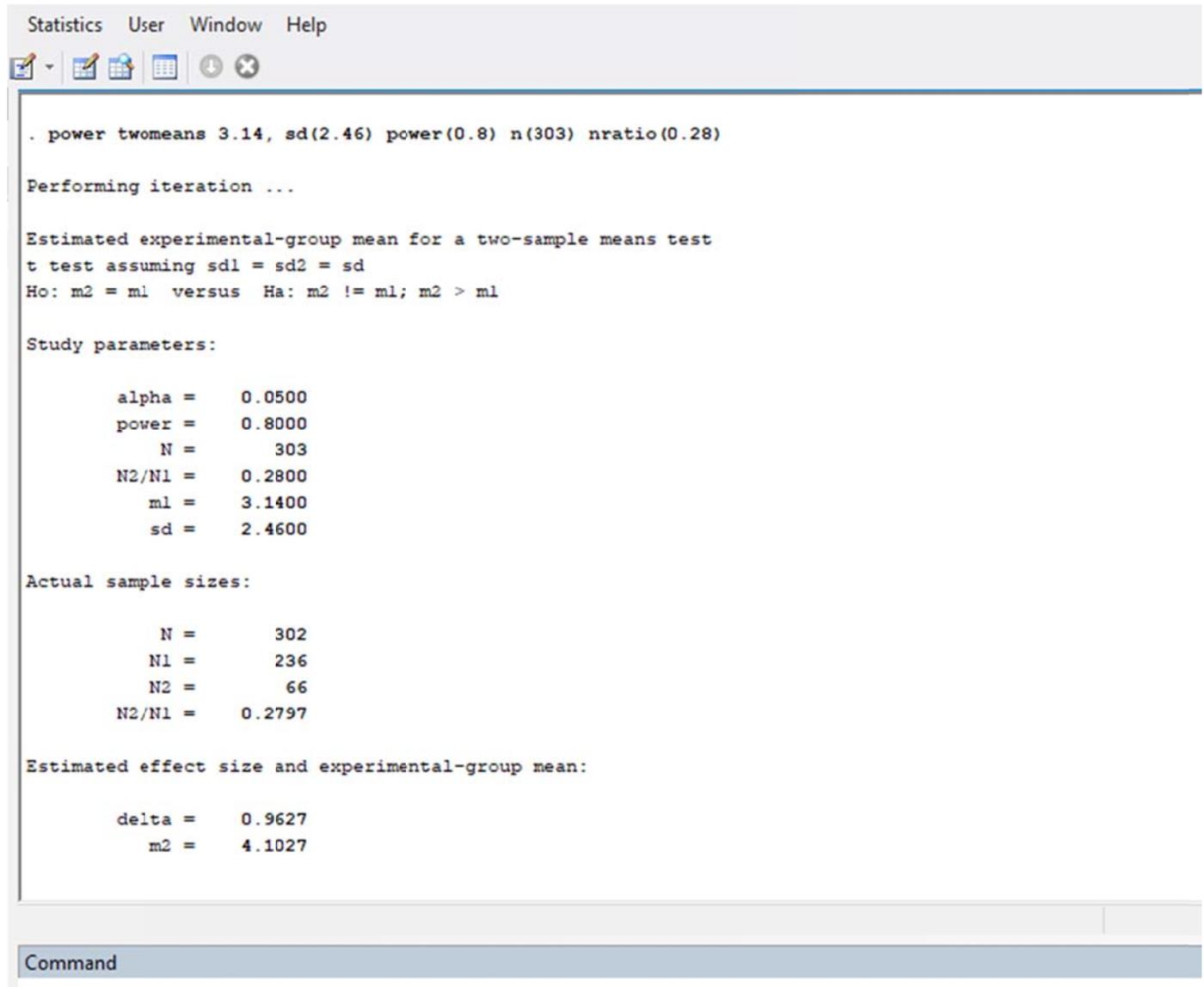
- données sur le nouveau-né : score d'Apgar, sexe, poids et taille à la naissance, périmètre crânien, diagnostic du VIH

Annexe 4 : Estimation de la taille de l'effet

Sortie STATA montrant le calcul de la différence de moyenne delta

Objectif 1

PAPP-A



```
Statistics User Window Help
. power twomeans 3.14, sd(2.46) power(0.8) n(303) nratio(0.28)

Performing iteration ...

Estimated experimental-group mean for a two-sample means test
t test assuming sd1 = sd2 = sd
Ho: m2 = m1 versus Ha: m2 != m1; m2 > m1

Study parameters:

      alpha =    0.0500
      power =    0.8000
         N =     303
      N2/N1 =    0.2800
         m1 =    3.1400
         sd =    2.4600

Actual sample sizes:

         N =     302
        N1 =    236
        N2 =     66
      N2/N1 =    0.2797

Estimated effect size and experimental-group mean:

      delta =    0.9627
         m2 =    4.1027

Command
```

Objectif 2

PIGF

```
Statistics User Window Help
[Icons]
. power twomeans 112.39, sd(69.83) power(0.8) n(159) nratio(0.46)

Performing iteration ...

Estimated experimental-group mean for a two-sample means test
t test assuming sd1 = sd2 = sd
Ho: m2 = m1 versus Ha: m2 != m1; m2 > m1

Study parameters:

    alpha =    0.0500
    power =    0.8000
     N =      159
  N2/N1 =    0.4600
    m1 = 112.3900
    sd =  69.8300

Actual sample sizes:

     N =      158
    N1 =      108
    N2 =       50
  N2/N1 =    0.4630

Estimated effect size and experimental-group mean:

    delta =  33.6717
     m2 = 146.0617
—more—

Command
```

sFLT1

```
Statistics User Window Help
[Icons]
. power twomeans 3945.82, sd(3950.99) power(0.8) n(159) nratio(0.46)

Performing iteration ...

Estimated experimental-group mean for a two-sample means test
t test assuming sd1 = sd2 = sd
Ho: m2 = m1 versus Ha: m2 != m1; m2 > m1

Study parameters:

    alpha =    0.0500
    power =    0.8000
     N =      159
  N2/N1 =    0.4600
    m1 = 3945.8200
    sd = 3950.9900

Actual sample sizes:

     N =      158
    N1 =      108
    N2 =       50
  N2/N1 =    0.4630

Estimated effect size and experimental-group mean:

    delta = 1905.1493
    m2 = 5850.9693
—more—

Command
```

Annexe 5 : Comparaison des participantes de la cohorte au recrutement

Tableau 3 : Comparaison des participantes de la cohorte au recrutement selon qu'elles aient eu ou non le test de dépistage des aneuploïdies

| Caractéristiques | Testé (n = 349) | Non testé (n = 568) | p | Valeurs manquantes | |
|--|----------------------|------------------------|--------------------|--------------------|-----------|
| | | | | Testé | Non testé |
| Année de recrutement | | | | | |
| 2003-2009 | 95 (27.2) | 373 (65.7) | 0.000 ^a | 0 | 0 |
| 2010-2012 | 91 (26.1) | 102 (18.0) | | 0 | 0 |
| 2013-2014 | 79 (22.6) | 46 (8.1) | | 0 | 0 |
| 2015-2016 | 84 (24.1) | 47 (8.3) | | 0 | 0 |
| Âge maternel à terme, années, moyenne ± ET | 32.11 ± 5.52 | 30.18 ± 5.61 | 0.000 ^a | 0 | 89 |
| Origine ethnique, n (%) | | | | 1 | 24 |
| Afro-caribéenne | 218 (62.6) | 246 (45.2) | 0.000 ^b | | |
| Caucasienne | 85 (24.4) | 141 (25.9) | | | |
| Autres | 45 (12.9) | 157 (28.9) | | | |
| IMC, kg/m2, médiane [ITQ] | 26.38 [23.03- 30.34] | 25.76 [23.29- 30.20] | 0.815 ^c | 22 | 407 |
| Nullipare, n (%) | 76 (24.4) | 110 (24.9) | 0.888 ^b | 38 | 126 |
| Tabagisme*, n (%) | | | | | |
| Premier trimestre | 72 (20.6) | 51 (9.0) | 0.000 ^b | 0 | 0 |
| Deuxième trimestre | 45 (12.9) | 32 (5.6) | 0.000 ^b | 0 | 0 |
| Conception spontanée, n (%) | 332 (1.8) | 251 (0.8) | 0.305 ^b | 11 | 315 |
| Sexe du fœtus, n (%) | | | | | |
| Masculin | 169 (48.8) | 230 (47.8) | 0.644 ^b | 3 | 87 |
| CD4[†], médiane [ITQ] | | | | | |
| Absolu, /mm ³ | 540 [341- 720] | 434 [280- 615] | 0.000 ^c | 15 | 325 |
| Pourcentage | 31 [24- 38] | 27 [19- 34] | 0.000 ^c | 24 | 381 |
| Charge virale indétectable[†], n (%) | 210 (65.7) | 124 (23.9) | 0.000 ^b | 1 | 119 |
| Sous TAR lors de la conception | 228 (65.7) | 117 (23.9) | 0.000 ^b | 2 | 79 |
| TAR[†], n (%) | | | | N/A | |
| Inhibiteur de protéase | 287 (82.2) | 370 (65.1) | 0.000 ^b | | |
| Inhibiteur nucléosidique | 346 (99.1) | 442 (77.8) | 0.000 ^b | | |
| Inhibiteur non nucléosidique | 34 (9.7) | 60 (10.6) | 0.691 ^b | | |
| Inhibiteur de l'intégrase | 28 (8.0) | 15 (2.6) | 0.000 ^b | | |

Abréviations : ET = écart type; IMC = Indice de Masse Corporelle; ITQ = intervalle interquartile; TAR = thérapie antirétrovirale; N/A = non applicable

Note: [†] au début des consultations prénatales

* correspond au statut de la patiente au cours de la grossesse

^a Test t pour échantillons indépendants

^b Test du Khi-carré de Pearson

^c Test de Mann-Whitney