

UNIVERSITE DE NANTES

FACULTE DE MEDECINE

EFFET DE LA SUPPLEMENTATION PAR LA L-ARGININE CHEZ
LA FEMME ENCEINTE SUR LE RETARD DE CROISSANCE INTRA
UTERIN VASCULAIRE FŒTAL

Thèse de Doctorat

Ecole doctorale : Biologie Santé

Dicipline : Sciences de la vie

Spécialité : Nutrition périnatale

Présentée et soutenue par

Norbert Winer

le 23 octobre 2008 devant le JURY :

Président :

Pr Luc Cynober, Laboratoire de biologie et Pharmacie de la nutrition, Paris

Rapporteurs :

Pr L Storme : Réanimation Pédiatrique, CHU Lille Hôpital Jeanne de Flandre

Pr D Subtil : Gynécologie Obstétrique, CHU Lille Hôpital Jeanne de Flandre

Examineurs :

Pr HJ Phillippe : Gynécologie Obstétrique, CHU de Nantes

Pr F Perrotin : Gynécologie Obstétrique, CHU de Tours

Pr JC Rozé : Réanimation Pédiatrique, CHU de Nantes

Directeur de thèse : Pr Dominique Darmaun, UMR 1280, CHU Nantes

PLAN

I- Introduction générale

II- Données bibliographiques

1-Le retard de croissance intra utérin (RCIU)

- i.Epidémiologie
- ii.Problème de la prise en charge périnatale
- iii.Position du problème périnatal et projet obstétrical

2-Physiologie et régulation de la circulation foetale

3-Physiopathologie de la prééclampsie et état des connaissances

4-Intérêt du doppler utérin dans la sélection du retard de croissance

5-Relation entre le RCIU et le NO

6-Nutrition et retard de croissance

- i.Acides aminés et retard de croissance intra utérin
- ii.Concentrations plasmatiques
- iii.Transport placentaire

7-Hypothèse de la L Arginine : Donneurs de NO et L Arginine en pratique clinique et en particulier en obstétrique

- i.Effets physiologiques
- ii.Les organes cibles de la L-Arginine et les indications médicales potentielles

III- L Arginine et retard de croissance intra utérin : L'essai randomisé

- i.Méthodologie de l'étude clinique multicentrique :
- ii.Résultats
- iii.Article

IV-Conclusions et Perspectives

V-Références

VI-Annexe et liste des abréviations

I- Introduction générale

La grossesse normale est un événement physiologique qui relève de l'intimité d'un couple, et requiert le plus souvent l'assistance d'une sage femme, sans qu'il soit même besoin de recourir au médecin. Toutefois, la mortalité maternelle et fœtale est encore trop élevée en France, particulièrement dans le cas du retard de croissance intra utérin (RCIU), pathologie grave qui mobilise une multitude de professionnels (sages femmes, obstétriciens, échographistes, réanimateurs pédiatres, nutritionnistes, réanimateurs adultes, psychologues, anesthésistes ...). Les petits poids de naissance ne sont pas uniquement un problème de santé périnatale mais également un problème de santé publique puisqu'il est désormais établi que ce groupe d'enfant est exposé à un risque accru de développer à l'âge adulte un diabète, une obésité, des complications vasculaires de type coronaropathie ischémique : ces risques justifient amplement la mobilisation médicale autour du RCIU dès la naissance, et idéalement avant même la naissance.

Le placenta joue un rôle fondamental dans la croissance fœtale, puisque l'apport nutritionnel fourni au fœtus dépend à la fois du passage des nutriments au travers du placenta, soit de façon passive, soit par transport actif, et des mécanismes d'invasion trophoblastique des vaisseaux utérins. Le retard de croissance peut rester isolé ou être associé à une prééclampsie maternelle dont les mécanismes sont complexes mais présentent de réelles similitudes avec celle du RCIU, pour ce qui concerne les fonctions placentaires: cette similarité justifie la part faite à la physiopathologie de la prééclampsie, dans le présent travail consacré au RCIU.

Nous nous sommes particulièrement intéressé à cette population sélectionnée des RCIU qualifiés de RCIU vasculaires (en raison de l'aspect caractéristique des dopplers utérins) : la recherche de l'augmentation du poids fœtal est un objectif central dans la prise en charge de cette pathologie, puisqu'il est démontré que le poids fœtal détermine le pronostic périnatal.

La L-arginine est un acide aminé qui joue un rôle nutritionnel fondamental et qui a la particularité d'être le seul précurseur endogène du monoxyde d'azote, molécule intéressante par son tropisme vasculaire, dont l'intérêt thérapeutique dans différentes branches de la médecine est établi de longue date.

Dans ce manuscrit, nous passerons en revue les données de la littérature concernant la L Arginine et les applications cliniques déjà proposées en insistant ensuite sur les indications obstétricales.

Nous détaillerons ensuite l'étude clinique que nous avons réalisée, mettant en œuvre une supplémentation orale en L Arginine chez des patientes entre 24 et 32 semaines d'aménorrhée qui présentaient un fœtus en restriction de croissance sévère (inférieur ou égal au 3^{ème} centile)

associé à des dopplers utérins pathologiques orientant l'étiologie de ces RCIU vers une cause placentaire vasculaire.

II- Données bibliographiques

i. Epidémiologie

Le retard de croissance intra-utérin est défini par un poids fœtal inférieur au 10^{ème} centile (RCIU modéré) ou au 3^{ème} centile (RCIU sévère) pour l'âge gestationnel, en utilisant les courbes Audipog (1). On recense en France près de 80 000 cas de RCIU par an (définis par un poids de naissance inférieur au 10^{ème} centile pour le terme). La proportion des RCIU a augmenté d'un quart entre 1995 et 2003, passant de 5,7 à 7,2% des naissances vivantes en métropole (2).

Le Retard de Croissance Intra-Utérin (RCIU) est responsable d'une morbidité et mortalité péri et néonatale très forte. Il s'agissait de la 1^{ère} cause de mortalité périnatale dans l'enquête départementale de Seine Saint-Denis (3). Dans une population de près de 20 000 grossesses avec RCIU égal ou en dessous du 10^{ème} percentile entre 25 et 30 semaines d'aménorrhée (SA) incluses entre 1991 et 1996 provenant de 196 établissements sur la « Vermont Oxford Network database » (4), la mortalité néonatale est 2,8 fois plus élevée [OR 2.77; 95% CI, 2.31-3.33] que dans une population de nouveau-nés de poids normal pour le terme, la morbidité également, en particulier pour ce qui concerne les entérocolites ulcéronécrosantes [OR, 1.27; 95% CI, 1.05-1.53] et les syndromes de détresses respiratoires [OR, 1.19; 95% CI, 1.03-1.36]. Les risques périnataux sont par ailleurs globalement tous diminués par la généralisation de la corticothérapie prénatale avec la même efficacité que chez les prématurités sans hypotrophie hormis le risque digestif (4).

Dans les populations de nouveau-nés de très petits poids (<550 g), la mortalité et la morbidité sont supérieures aux populations témoins de même âge gestationnel ($p < 0.001$). Cette surmortalité persiste lorsque l'on prolonge la grossesse sans y associer un gain de poids (5). L'objectif obstétrico-pédiatrique prioritaire n'est donc pas coûte que coûte de prolonger la grossesse mais aussi d'augmenter le poids fœtal pour améliorer le pronostic périnatal.

Le RCIU est non seulement responsable d'une augmentation de la morbidité fœtale et néonatale mais également d'une augmentation de la mortalité maternelle par le biais de la prééclampsie surajoutée (6)

Le RCIU peut être en rapport avec différentes étiologies et en particulier une insuffisance circulatoire utéro-placentaire. Le pronostic est directement corrélé à la précocité et à la sévérité du RCIU. Les traitements contre l'hypertension instaurés lors de prééclampsies (avec ou sans RCIU) ne sont que palliatifs, et malgré la multiplicité des thérapeutiques instaurées, on n'a pas mis en évidence d'effet thérapeutique permettant une diminution de la morbidité fœtale. En réalité le RCIU d'origine vasculaire semble être en relation avec des modifications apparaissant très tôt dans

la grossesse avant même l'apparition des signes cliniques ou échographiques (7, 8). La qualité de la colonisation des artères spiralées lors des invasions trophoblastiques conditionne la vascularisation placentaire et présente une étiopathogénie très comparable et commune sur de nombreux points à la prééclampsie (9). Même s'il semble qu'un traitement maternel préventif par aspirine à faible dose puisse améliorer le pronostic des grossesses ultérieures (10), la prudence reste toutefois nécessaire quant à son efficacité réelle (11). Des essais randomisés concluent en effet à l'absence d'efficacité de l'aspirine à faible dose pour réduire l'incidence de la prééclampsie et la morbidité périnatale (12). Le traitement préventif, aurait en fait une efficacité probable mais très modeste, seulement en cas d'antécédent de prééclampsie, et est surtout représenté par l'aspirine (> 75mg) en début de grossesse. Ce traitement diminue le risque de récurrence de prééclampsie seulement de 10 à 15% , le risque de prématurité de 8% et la mortalité périnatale de 14%. Il n'aurait en revanche aucune action préventive notable sur les retards de croissance intra utérin (RCIU) (13).

Après avoir rappelé les données de la littérature sur les pathologies vasculaires placentaires et la L-Arginine, nous présenterons les connaissances actuelles sur la prééclampsie, modèle de dysfonctionnement placentaire, en rapportant deux articles publiés dans le Journal de Gynécologie Obstétrique et Biologie de la Reproduction puis une étude clinique multicentrique sur les effets de la supplémentation orale par la L-Arginine chez des patientes dont le fœtus présente un RCIU sévère avec dopplers utérins pathologiques.

ii. Problème de la prise en charge périnatale

Le seul traitement du RCIU passe par sa reconnaissance, l'intensification de la surveillance de la grossesse, la corticothérapie et l'extraction fœtale avant la survenue des complications, et ce parfois au prix d'une grande prématurité. La prise en charge de ces patientes impose nécessairement l'implication des centres de type III. L'optimisation de cette prise en charge obstétricale comprend la recherche souvent décevante ou encore non évaluée des marqueurs précoces de pré-éclampsie et/ou de RCIU (fibronectine plasmatique, uricémie, leptine, la PAPP-A, l'hCG, l'inhibine, l'activine récepteur soluble au VEGF (vascular endothelial growth factor)(sVEGFR-1 ou sFlt-1...), la réalisation d'une échographie qui sera couplée aux dopplers utérins, dont le caractère prédictif des complications vasculaires est probablement le plus pertinent et le mieux évalué (8, 14, 15, 16).

La surveillance intensifiée des constantes materno-fœtales (pouls, TA, diurèse, ERCF, bandelette urinaire, examen clinique...), la prescription précoce d'aspirine à faible dose (100 mg/jour) chez les multipares ayant déjà présenté ce type d'accident obstétrical, ou encore de façon moins prouvée chez les patientes ayant présenté un RCIU avec doppler utérin pathologique (10), la maturation pulmonaire fœtale anténatale par cures de corticoïdes dès l'âge gestationnel où la prise

en charge néonatale est possible (26 SA), la surveillance rapprochée en échographie-doppler (score de Manning) et l'extraction fœtale le plus souvent (mais non exclusivement) par césarienne permet de confier à l'équipe pédiatrique ces petits nouveau-nés hypotrophes parfois très grands prématurés.

En effet, la prise en charge de ces patientes est difficile en raison du pronostic fœtal incertain voire parfois péjoratif et du risque de survenue d'une prééclampsie pouvant mettre également en jeu le pronostic maternel. Les obstétriciens restent toutefois très démunis vis à vis de cette pathologie et il n'y a actuellement pas de traitement à proposer.

Le pronostic de ces petits nouveaux-nés reste essentiellement corrélé au poids de naissance et au terme à la naissance (17).

Il nous semble donc particulièrement pertinent de chercher une thérapeutique, si elle existe, qui passe par l'augmentation de poids fœtal ou/et la prolongation de la grossesse.

iii. Position du problème périnatal et projet obstétrical

La physiopathologie du RCIU est complexe et plurifactorielle expliquant en outre la difficulté à proposer des thérapeutiques prénatales efficaces. De nombreuses hypothèses physiopathologiques ont été avancées. On a tendance à parler de défaut de croissance ou encore de restriction de croissance, ce qui exprime mieux le ralentissement de la vitesse de croissance estimée selon les courbes de référence. La difficulté de l'estimation du poids fœtal est en fait un des biais d'interprétation car il est plus facile pour un pédiatre de peser et de mesurer un nouveau né que de faire estimer par l'obstétricien avec des équations sujettes à caution, un poids fœtal estimé à partir des mesures biométriques des membres, du périmètre abdominal et des mesures céphaliques in utero. De plus, les définitions vont être modulées selon des critères multiples comme l'âge gestationnel, le sexe, la parité, la taille des parents (18).

Il est classique de chercher à classer ou à définir le type de RCIU en symétrique ou harmonieux dans lequel la croissance cérébrale du fœtus est également ralentie (avec atteinte des biométries céphaliques) dont le pronostic est le plus réservé et un RCIU asymétrique ou dysharmonieux (avec une croissance cérébrale conservée), plus tardif, dont l'étiologie est plus classiquement nutritionnelle ou utéro-placentaire. La dynamique de croissance va être à l'origine de décisions obstétrico-pédiatriques allant de la simple surveillance, à la prématurité (consentie ou non), jusqu'à l'interruption médicale de grossesse.

En outre, les travaux des dix dernières années ont révélé que le pronostic à long terme de ces enfants issus d'une restriction de croissance prénatale est grevé d'un risque ultérieur de maladies chroniques survenant à l'âge adulte (coronaropathie, obésité, diabète de type 2, hypertension). Ce phénomène a été qualifié d'empreinte nutritionnelle fœtale : en effet, la restriction d'apport nutritionnel au fœtus joue probablement un rôle majeur dans la survenue de ces pathologies

ultérieures (19, 20, 21). Ceci est probablement vrai également pour ce qui concerne le développement neuro-psychomoteur (17). La dénutrition (undernutrition) prénatale ou périnatale pourrait avoir un lien direct avec des conséquences neurocomportementales à plus long terme et est rapportée depuis plusieurs décennies (22). Des données suggèrent qu'une prise en charge nutritionnelle "aggressive" dans les premières heures de vie en particulier par une nutrition enrichie en acides aminés pourrait en réduire la morbidité, faciliter la croissance néonatale et améliorer le développement psychomoteur (23). Des apports trop élevés d'acides aminés par voie parentérale chez ces nouveau-nés pourrait cependant avoir une mauvaise tolérance (acidose métabolique) et la dose requise pour une bonne tolérance est évaluée à 4g/kg/jour (24). Le lien obstétrico-pédiatrique est donc fondamental pour chercher à optimiser cette prise en charge nutritionnelle et il paraît légitime d'explorer la supplémentation prénatale en acides aminés comme l'une des pistes thérapeutiques. L'équipe de nutrition est le troisième maillon soignant de cette chaîne de soins entre l'obstétrique et la pédiatrie.

Nous avons choisi de cibler notre travail sur une population très fragilisée et vulnérable que sont les RCIU sévères car dans ces situations graves, un gain de poids fœtal même minime, pourrait être favorable. De plus, aucune thérapeutique sauf l'arrêt de la grossesse pour éviter l'accident ou la souffrance ischémique délétère, n'est proposée aujourd'hui.

Nous avons choisi les RCIU en relation avec une ischémie utéro-placentaire car leur dépistage est possible par les dopplers utérins (figure 4), grâce à l'index élevé de résistance placentaire et la persistance de l'incisure protodiastolique, situations très proches à la fois sur le plan physiopathologique et le plan clinique, de la prééclampsie (25, 26). La population ainsi recrutée est ainsi homogène et comparable.

Le traitement de choix se concentre sur un acide aminé disponible qui a fait la preuve de son innocuité chez la femme enceinte et qui associe à la fois un caractère nutritionnel et un caractère favorisant l'action sur l'endothélium vasculaire. La L-arginine cumule ces qualités par son rôle dans la voie du NO que nous détaillerons plus loin.

2. Physiologie et régulation de la circulation foetale

Il nous paraît indispensable de faire un bref rappel préalable sur la physiologie placentaire normale avant d'aborder la physiopathologie de la prééclampsie et du RCIU. En effet, le déterminisme materno-foetoplacentaire qui aboutit à la prééclampsie est soit proche, soit identique à celui des RCIU qualifiés de vasculaires (9) lorsque les dopplers utérins sont pathologiques (26) avec une faible composante diastolique (haute résistance) et/ou une persistance de l'encoche protodiastolique (chapitre c). Aucun obstétricien ne prend en charge une patiente avec un fœtus porteur d'un RCIU avec doppler utérin pathologique sans évoquer le diagnostic ou le risque potentiel de prééclampsie. Des données récentes sur la physiopathologie de la pré-éclampsie

apportent d'ailleurs de nouveaux espoirs pour un dépistage précoce de cette pathologie. Le schéma physiopathologique inclut plusieurs étapes successives :

- un défaut de remodelage vasculaire utérin responsable d'une diminution de l'afflux sanguin maternel (donc de nutriments, d'acides aminés et d'oxygène) vers le placenta
- une hypoxie placentaire et un stress oxydant induisant un dysfonctionnement généralisé du syncytiotrophoblaste
- un dysfonctionnement de l'endothélium vasculaire maternel lié à diverses substances libérées par le placenta dans la circulation maternelle et conduisant aux signes cliniques de la maladie.

La connaissance de la circulation fœtoplacentaire est nécessaire en raison de sa capacité de flux et de transfert. Son dysfonctionnement est associé à des pathologies ischémiantes et potentiellement nutritionnelles de la grossesse comme la pré-éclampsie et le retard de croissance intra-utérin. C'est vers le 22^e jour après la conception que le réseau vasculaire va s'anastomoser aux vaisseaux ombilico-allantoïdiens. La circulation fœtoplacentaire est établie et son développement va conditionner la maturation de la villosité chorale qui représente l'élément structurel et fonctionnel du placenta. La circulation fœtoplacentaire présente par rapport à d'autres lits vasculaires plusieurs particularités (27). Provenant du fœtus, le sang désaturé arrive au placenta par deux artères ombilicales qui se divisent au niveau de la plaque chorale formant les artères chorioniques. Il pénètre ensuite les villosités placentaires par un réseau complexe et extrêmement ramifié. Des divisions successives conduisent à des vaisseaux de calibre de plus en plus petit avec des artéριοles en continuité avec un réseau de capillaires riche en circonvolutions au niveau de la « barrière placentaire ». Le sang oxygéné et chargé de nutriments repart par un réseau veineux parallèle puis par la veine ombilicale vers le fœtus. Il est maintenant bien établi que l'organisation des tissus qui constituent la paroi des vaisseaux fœtoplacentaires varie suivant les différents niveaux de l'arbre vasculaire ainsi que leur réactivité aux agents vasoactifs (28).

Facteurs signalétiques

Des substances très diverses : facteurs de croissance, cytokines, hormones stéroïdes, eicosanoïdes, peptides vasoactifs... sont présentes dans la circulation fœtoplacentaire. Les interactions tensioactives sont d'autant plus favorisées que dans ces vaisseaux, l'absence de lame élastique interne dans le cadre d'une grossesse normale permet un contact direct entre les cellules endothéliales et les fibres musculaires lisses de la media sous-jacente.

Un certain nombre de « facteurs de croissance » ou certains des signaux vasoactifs vasoconstricteurs comme l'angiotensine II et l'endothéline-1 (ET-1) favorisent la prolifération des fibres musculaires lisses, alors que des agents vasodilatateurs comme le peptide intestinal vasoactif (VIP) et le NO sont inhibiteurs de la prolifération.

L'oxygène intervient également dans le contrôle de la croissance et de la réactivité des vaisseaux fœtoplacentaires. Les réponses adaptatives à l'hypoxie varient selon le degré et la durée de l'hypoxie et sont dépendantes du type cellulaire (29). Dans le trophoblaste, comme dans les cellules endothéliales et musculaires lisses des vaisseaux placentaires, les réponses vasodilatatrices sont perturbées par l'hypoxie. L'induction de la NO synthase évoquerait plutôt l'existence de mécanismes compensateurs transitoires. L'invasion des structures utérines maternelles par les cellules trophoblastiques conduisant à la fin du premier trimestre à des artères utérines spiralées très dilatées, insensibles aux agents vasoconstricteurs va permettre un débit élevé du sang maternel, riche en nutriments et en oxygène vers la chambre intervillieuse (30). Ces modifications induisant l'accroissement de la surface d'échange et l'établissement d'une réserve fonctionnelle afin de faire face à des flux sanguins maternel et fœtal élevés.

Des résistances vasculaires placentaires anormalement élevées sont observées avec la pré-éclampsie et/ou le retard de croissance intra-utérin. La réduction du flux sanguin fœtoplacentaire est alors associée à une situation d'hypoxie et à un déséquilibre dans la production de facteurs contractants et relaxants. L'intérêt porté initialement au couple antagoniste Thromboxane/Prostacycline (TXA₂/PGI₂) s'est progressivement déplacé vers le couple ET-1/NO, où l'ET-1 a été impliquée dans les mécanismes physiopathologiques de la pré-éclampsie (31). Il a été mis en évidence que ET-1 augmente la pression de perfusion alors que le NO exerce l'effet opposé (32).

Dans le vaisseau intact, l'effet contracturant de ET-1 est partiellement reproduit par un inhibiteur de la NO synthase. Les rapports entre ET-1 et les facteurs relaxants libérés par l'endothélium des vaisseaux villositaires ont déjà été analysés (33).

Ces résultats soulignent que si ET-1 exerce un effet vasoconstricteur direct et puissant sur la musculature lisse des vaisseaux villositaires, il peut également contrecarrer cet effet via un mécanisme endothélium dépendant impliquant pour une part importante la synthèse et la libération du NO. La diminution de l'effet vasodilatateur observé lors de perfusions à faible PO₂ serait liée à une production réduite du NO (34). L'endothélium ne paraît pas libérer de NO, alors que la musculature lisse reste sensible à l'effet relaxant du NO exogène (35). Dans les pathologies hypertensives de la grossesse et le retard de croissance intra-utérin, les cellules endothéliales et leur fonction sont altérées. La musculature lisse des vaisseaux placentaires doit pouvoir réagir à des taux anormalement élevés d'agents vasoconstricteurs et mitogènes (36).

La mise au point que nous avons publiée dans la revue nationale française en collaboration avec l'équipe de Cochin (Dr Tsatsaris) est retranscrite ici à la fois sur son versant physiopathologique et sur la prise en charge obstétricale de la prééclampsie.

3. Physiopathologie de la prééclampsie et état des connaissances.

Physiopathologie de la prééclampsie.

Pathophysiology of preeclampsia.

J Gynecol Obstet Biol Reprod . 2008;37:16-23

Vassilis Tsatsaris¹⁻²⁻³, Thierry Fournier²⁻³, Norbert Winer⁴.

¹, AP-HP, Groupe Hospitalier Cochin, Maternité Port-Royal, 75014 Paris, France

² Inserm Unité U767, Paris, F-75006, France

³ Université Paris Descartes, Faculté des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques, 75006 Paris, France

⁴ CHU de Nantes, Service de Gynécologie et Obstétrique, Nantes, France.

Correspondance:

Vassilis Tsatsaris

Maternité Port-Royal

Hopital Cochin, AP-HP

Université Paris 5 René Descartes

Paris , France.

Tel + 33 1 58 41 20 68

Fax + 33 1 58 41 20 55

(email : vassilis.tsatsaris@cch.aphp.fr)

Résumé :

La prééclampsie est une complication de la grossesse survenant au troisième trimestre de la grossesse et spécifique à la gestation humaine. Elle est secondaire à une dysfonction placentaire qui est responsable de la libération dans la circulation maternelle de diverses substances responsables d'une activation voire d'une lésion de l'endothélium maternel, avec pour conséquences une hypertension artérielle, une néphropathie glomérulaire et une augmentation de la perméabilité vasculaire. De récents travaux ont permis de mieux comprendre la physiopathologie de cette pathologie avec l'espoir de mettre en place de nouveaux outils de dépistage et de possibles perspectives thérapeutiques. Cet article illustre les mécanismes physiopathologiques du défaut de remodelage vasculaire utérin, de la dysfonction placentaire et de la dysfonction endothéliale survenant au cours de la prééclampsie

Abstract :

Preeclampsia is a human disease usually occurring during the third trimester of pregnancy. The underlying pathogenetic mechanisms of preeclampsia are much debated. Current hypotheses include placental dysfunction, inflammatory disease, genetic predisposition and immune maladaptation. Recent studies highlight the role of vascular-mediated factors in the pathophysiology of preeclampsia and allow new hopes for screening and therapeutic approaches. This article describes pathophysiological mechanisms involved in the defective utero-placental vascularization leading to placental and endothelial dysfunction.

Mots Clés : Prééclampsie, placenta, grossesse, trophoblaste, angiogenèse.

Key words : Preeclampsia, placenta, pregnancy, trophoblast, angiogenesis

La prééclampsie est une maladie de l'endothélium maternel dont l'origine est placentaire. Elle est spécifique à l'espèce humaine et à la gestation. En effet il n'existe pas de syndrome prééclampsique spontané chez l'animal ce qui ne facilite pas la compréhension de sa physiopathologie. Les arguments en faveur de l'origine placentaire de cette pathologie sont, la survenue exclusive pendant la grossesse, sa disparition après l'ablation du placenta, sa survenue possible en l'absence d'embryon comme en témoignent des cas de prééclampsie compliquant une grossesse molaire, et enfin l'absence de lien avec l'environnement utérin puisqu'elle peut survenir en cas de grossesse abdominale.

La physiopathologie de la prééclampsie reste imparfaitement comprise. Cependant les données moléculaires récentes confrontées aux études anatomopathologiques plus anciennes orientent vers un schéma physiopathologique incluant plusieurs étapes successives (figure 1). Le schéma physiopathologique classique comporte :

Un défaut de remodelage vasculaire utérin (en grande partie lié à un défaut d'invasion trophoblastique) responsable d'une hypoperfusion de la chambre intervillueuse

Une hypoxie placentaire et un stress oxydant induisant un dysfonctionnement généralisé du syncytiotrophoblaste

Un dysfonctionnement de l'endothélium maternel lié à diverses substances libérées par le placenta dans la circulation maternelle (radicaux libres, lipides oxydés, cytokines, sVEGFR-1) et conduisant aux signes cliniques de la maladie.

Nous décrirons successivement les trois étapes de ce schéma physiopathologique.

Le défaut de remodelage vasculaire utérin

a. Le défaut d'invasion trophoblastique

La placentation humaine est caractérisée par un processus d'invasion de la partie superficielle de l'utérus (décidue et myomètre) par des cytotrophoblastes extravilloux. Cette invasion trophoblastique est orientée vers les artères spiralées de l'utérus. Il en résulte une invasion de la paroi artérielle qui conduit à une disparition totale de la tunique musculaire lisse artérielle et des cellules endothéliales maternelles qui sont remplacées par des cytotrophoblastes extravilloux. La tunique de l'artère devient atone, insensible aux éléments vasoactifs permettant ainsi une perfusion facilitée de la chambre intervillueuse.

Au cours de la prééclampsie, l'invasion trophoblastique est altérée. L'invasion de la portion interstitielle de l'utérus est relativement préservée, mais l'invasion endo- et péri-vasculaire des artères utérines est fortement diminuée. Meekins¹ montre qu'en cas de prééclampsie, l'invasion des artères déciduales par les cytotrophoblastes extravilloux diminue de 56 % et que l'invasion des artères myométriales passe de 76 % à 18%. À ce défaut d'invasion des artères maternelles s'ajoute un défaut de leur remodelage par les cytotrophoblastes extravilloux. Les cellules endothéliales ne sont pas remplacées par les trophoblastes et la couche de cellules musculaires lisses n'est pas remaniée. Ainsi les artères utérines, lors de prééclampsie, ont un diamètre plus petit et conservent leur potentiel vasoconstricteur² à l'origine de l'hypoxie placentaire.

L'étude des facteurs responsables du défaut d'invasion trophoblastique est difficile car la prééclampsie n'est diagnostiquée qu'après le processus naturel d'invasion trophoblastique. Par conséquent, les anomalies observées en cas de prééclampsie ne permettent pas d'établir si elles sont la cause ou la conséquence de ce syndrome.

Plusieurs facteurs impliqués dans l'invasion trophoblastique semblent être altérés en cas de prééclampsie.

Les protéinases

L'implantation et la placentation humaine requièrent la sécrétion d'une variété de protéinases par les trophoblastes invasifs. Ces enzymes dégradent la membrane basale et la matrice extracellulaire et facilitent le remodelage des vaisseaux utérins. De plus, le système des activateurs du plasminogène contribuerait au maintien de la fluidité du sang placentaire, assurant ainsi un afflux utéro- et fœto-placentaire adéquate tout au long de la grossesse. L'urokinase-type plasminogen activator (uPA) est un activateur du plasminogène qui convertit le plasminogène en plasmine qui active d'autres protéinases. Les cytotrophoblastes extravilloux expriment l'uPA et son inhibiteur PAI-1 ainsi que les MMP-2 et MMP-9^{3, 4}. Au cours de la prééclampsie, la concentration plasmatique en urokinase diminue et le niveau d'expression placentaire de PAI-1 augmente. De plus, Graham et al ont mis en

évidence une diminution de la sécrétion de la forme activée de la MMP-9 et une diminution de l'activation du plasminogène à la surface des cellules trophoblastiques en cas de prééclampsie ⁵. Ces observations suggèrent qu'un défaut d'expression et/ou d'activité des protéinases par les cellules trophoblastiques serait impliqué dans la pathogénie de la prééclampsie. De plus une étude récente montre que le profil d'expression de la MMP-10, -13 et -15 ainsi que des TIMP-2 et -3 augmente dans les placentas prééclampsiques ⁶ suggérant leur implication dans le développement de ce syndrome.

La tension en oxygène

Un des facteurs intrinsèques trophoblastiques impliqués dans l'invasion des artères utéro-placentaires est la tension en oxygène environnant. Ainsi, les trophoblastes extravilleux rencontrent un gradient en oxygène croissant au cours de leur migration vers les artères utérines et plus la tension augmente, plus leur différenciation en un phénotype invasif est favorisée. À l'inverse, en condition hypoxique, les trophoblastes extravilleux continuent à proliférer et se différencient peu ⁷. Une des hypothèses serait que l'hypoxie placentaire préexiste longtemps avant les signes cliniques de prééclampsie et pourrait même être responsable du défaut d'invasion trophoblastique. Il a été montré que HIF-1 α , un facteur de transcription induit par l'hypoxie, est activé lorsque des explants placentaires sont cultivés en condition d'hypoxie ⁸. Par ailleurs HIF-1 α est hyper-exprimé dans le placenta en cas de prééclampsie ⁹. De plus HIF-1 α induit la transcription de TGF- β 3 qui inhibe l'invasion trophoblastique ^{8, 10}. Les connaissances actuelles ne permettent cependant pas d'établir si l'hypoxie placentaire décrite en cas de prééclampsie, est la cause ou la conséquence de ce défaut d'invasion trophoblastique et de remodelage artériel.

Les molécules d'adhésion

Les premières études ont révélé un profil de molécules anormal à la surface des cytotrophoblastes dans les biopsies de lit placentaire réalisées en cas de prééclampsie ^{11, 12}. Les cytotrophoblastes extravilleux perdent leur capacité à passer d'un phénotype prolifératif à un phénotype invasif. Ainsi, l'expression des intégrines α 6 β 4, α v β 6 et de la E-cadhérine persiste alors que l'intégrine α 1 β 1 n'apparaît pas à la surface des cytotrophoblastes extravilleux au cours de grossesses prééclampsiques. On constate également une absence d'apparition des molécules spécifiques des cellules endothéliales que sont α v β 3, VE-cadhérine, VCAM-1 (vascular endothelial cell adhesion molecule) et PECAM-1 (platelet-endothelial adhesion molecule) normalement exprimées par les cytotrophoblastes extravilleux les plus différenciés et invasifs. Cependant, ces données proviennent essentiellement des travaux d'une équipe et sont sujet à controverse car ne sont pas confirmées par d'autres équipes ¹³.

Le système immunitaire

Les mécanismes permettant à la cellule trophoblastique semi-allogénique d'envahir les tissus maternels en déjouant les processus maternels de reconnaissance du non-soi peuvent s'avérer défectueux. Une des hypothèses de l'étiologie de la prééclampsie repose sur l'activation des cellules immunitaires. En effet, au cours de la grossesse, la non-reconnaissance des trophoblastes par les cellules immunitaires limite l'activation de ces dernières et par conséquent la lyse des trophoblastes de la décidue. À l'inverse, au cours de la prééclampsie le nombre de cellules immunitaires activées augmenterait. Une étude récente montre que les macrophages sont très peu présents lorsque l'invasion artérielle trophoblastique se déroule normalement et à l'inverse, le nombre de macrophages activés augmente dans la paroi artérielle utérine de patientes prééclampsiques où très peu de trophoblastes extravilleux sont présents ¹⁴. D'autre part, l'apoptose des cytotrophoblastes extravilleux augmente au voisinage du mur artériel en cas de prééclampsie. En effet, les macrophages et les cellules NK de la décidue produisent et répondent à un large spectre de cytokines et seraient impliqués dans des mécanismes paracrines régulant l'invasion trophoblastique. Reister ¹⁵ montre que les macrophages maternels induisent *in vitro* l'apoptose des cytotrophoblastes extravilleux péri-artériels par la sécrétion de Tumor Necrosis Factor alpha (TNF α) dont le récepteur (TNF-R1) est exprimé par les cellules trophoblastiques extravilleuses et par la synthèse et la sécrétion de l'indolamine 2,3 dioxygénase, enzyme catabolisant le tryptophane, au voisinage des artères utéro-placentaires. Par ailleurs, la forte production de NO par les macrophages induit l'apoptose de divers types cellulaires. Il est donc possible que l'augmentation de la production de NO par les macrophages autour des artères spiralées utérines conduise à l'apoptose des trophoblastes invasifs. Cette théorie est soutenue par la mise en évidence d'une forte apoptose des trophoblastes extravilleux invasifs dans les tissus placentaires prééclampsiques ¹⁶.

Par ailleurs, des données récentes montrent que les cytotrophoblastes extravilloux expriment tous les facteurs moléculaires de l'apoptose tels que les récepteurs Fas, TNF-R1, ainsi que des inhibiteurs de la cascade apoptotique, Bcl-2 et Mcl-1¹⁷. À ce jour, il est difficile de déterminer si ce sont les macrophages activés qui induisent l'apoptose des trophoblastes ou si, à l'inverse, les trophoblastes apoptotiques attirent chimio-tactiquement les macrophages.

Un autre mécanisme du maintien de l'homéostasie immunitaire fait appel au processus d'apoptose des lymphocytes activés. Le système Fas antigen (CD95)/Fas ligand (FasL) est impliqué dans ce processus¹⁸. Ainsi, toute cellule immunitaire activée exprimant le récepteur CD95 à sa surface rentrera en apoptose après la fixation de FasL. Il a récemment été montré qu'au cours de la prééclampsie les lymphocytes T CD8+ de la mère sont activés et surexpriment CD95 à leur surface¹⁹. Or les trophoblastes de la villosité crampon secrètent FasL²⁰. Ces données suggèrent que l'expression de FasL par les trophoblastes extravilloux protégerait ces derniers de l'activité cytolytique des cellules immunitaires au cours de la grossesse en induisant l'apoptose des cellules immunitaires avoisinantes. Récemment, Hsu a montré que l'expression de FasL est réduite dans les placentas de prééclampsie²¹.

Enfin, un autre système défectueux semble être impliqué dans le défaut d'invasion des artères spiralées par la cellule trophoblastique. C'est le système HLA et notamment l'expression de HLA-G. HLA-G et HLA-E protègent les cytotrophoblastes extravilloux de l'effet cytotoxique des cellules NK. Or il a été montré que l'expression de HLA-G par les cellules trophoblastiques extravillouses était absente ou diminuée en cas de prééclampsie²²⁻²⁴.

b. Le remodelage indépendant de l'invasion trophoblastique.

Il semblerait qu'une partie des modifications vasculaires des artères spiralées au cours de la grossesse soit totalement indépendante des effets trophoblastiques. Les modifications initiales des artères utéro-placentaires comportent une désorganisation généralisée de ces artères avec une vacuolisation endothéliale, une désorganisation des cellules musculaires lisses et une dilatation luminale^{13, 25}. Ces modifications structurelles surviennent très précocement, avant le processus d'invasion trophoblastique, et surviennent aussi bien dans la zone d'implantation que dans la portion déciduale non concernée par la placentation²⁵. Par ailleurs ces modifications sont également retrouvées en cas d'implantation extra-utérine¹³. Elles seraient dues à une activation du système rénine-angiotensine décidual ou à des facteurs hormonaux circulants maternels²⁵.

c. Le remodelage vasculaire induit par des facteurs diffusibles issus du trophoblaste extravilloux interstitiel.

Le cytotrophoblaste extravilloux sécrète des facteurs angiogéniques qui pourraient être impliqués dans le remodelage vasculaire. Le plus connu parmi eux est le VEGF-A²⁶⁻²⁸. Le VEGF-A est sécrété par les cellules trophoblastiques de la villosité ainsi que par les cytotrophoblastes extravilloux tout au long de sa voie de différenciation dans l'utérus²⁹. Il pourrait donc être responsable de l'angiogenèse utéro-placentaire soit par un mode paracrine (VEGF sécrété par le trophoblaste extravilloux) soit par un mode endocrine (VEGF sécrété par les trophoblastes de la villosité). La cellule trophoblastique sécrète également du PlGF, du VEGF-C, facteurs stimulant la survie endothéliale et le remodelage vasculaire^{29, 30}. En revanche elle ne sécrète ni Angiopoïétine-1 ni Tie-1 ni Tie-2³⁰. L'angiogénine est un autre facteur de croissance angiogénique produit par le trophoblaste extravilloux³¹. Enfin, il a récemment été montré que l'hCG produite par les cytotrophoblastes villeux et extravilloux possède des propriétés angiogéniques similaires à celles du VEGF et que le récepteur de l'hCG (récepteur hCG/LH) est présent à la surface des cellules endothéliales des vaisseaux utérins^{32, 33}. Tous ces éléments suggèrent que des facteurs trophoblastiques sont directement impliqués dans des processus d'angiogenèse utérine et de remodelage des vaisseaux utérins indépendamment de l'invasion de la paroi des vaisseaux par les cellules trophoblastiques.

La dysfonction placentaire responsable du relargage dans la circulation maternelle de substances diverses.

La diminution de la perfusion placentaire secondaire au mauvais remodelage vasculaire utérin engendre progressivement une dysfonction placentaire. La cause de cette dysfonction est actuellement mal connue et débattue. Il est classiquement admis qu'il s'agit d'une hypoxie placentaire mais il n'y a actuellement pas de preuve directe en faveur de cette hypoxie. Il existe néanmoins des éléments indirects en faveur de l'hypoxie placentaire dans la prééclampsie comme, l'augmentation de l'index mitotique, l'augmentation de l'épaisseur du syncytium, l'augmentation de marqueurs moléculaires d'hypoxie comme HIF-1a^{9, 34}.

Par ailleurs le placenta des grossesses compliquées de prééclampsie présente des marqueurs de stress oxydatif ³⁵. En effet, des métabolites stables de la peroxydation lipidique générés par le stress oxydatif sont anormalement présents et produits dans les placentas prééclampsiques tels que des peroxydes lipidiques ^{36, 37} et l'isoprostane libre (8-iso-PGF_{2α}), produit spécifique de la catalyse de l'acide arachidonique par les radicaux libres doté d'activités vasoconstrictrices et agrégantes plaquettaire ^{35, 38}. À terme, la décidue basale est plus concentrée en hydroperoxydes lipidiques, phospholipides et cholestérol chez les patientes prééclampsiques ³⁹. Par ailleurs, la prééclampsie s'accompagne d'une nette diminution des activités anti-oxydantes par rapport à une grossesse normale ^{40, 41}, en accord avec la diminution de la concentration plasmatique en vitamine C et E ^{42, 43}. La xanthine oxydase, enzyme qui produit des espèces réactives de l'oxygène, est activée dans les trophoblastes humains et l'étude histologique de placentas prééclampsiques révèle une expression accrue de cette enzyme dans les cytotrophoblastes extravilloux invasifs. Les nitrotyrosines sont des produits stables dérivés de l'attaque radicalaire sur les protéines. Ces particules sont formées dans les villosités placentaires prééclampsiques, ce qui révèle un stress oxydatif local ⁴⁴. Le stress oxydatif placentaire semble être responsable en partie des changements physiopathologiques liés à la prééclampsie. En effet, il est responsable d'une augmentation de l'apoptose placentaire et de la libération de débris placentaires apoptotiques dans la circulation maternelle ⁴⁵. Le syncytium se renouvelle au cours de la grossesse par libération de débris apoptotiques dans la circulation maternelle. Ces débris (ADN fœtal circulant, micro-fragments syncytiotrophoblastiques, protéines cytoplasmiques) induisent une réponse inflammatoire systémique croissante mais normale au cours de la grossesse ^{17, 46}. Le stress oxydatif stimule l'apoptose du syncytium comme pour d'autres tissus, et augmente par conséquent la libération de membranes micro-villositaires syncytiales (STBM) et autres débris syncytiaux dans la circulation maternelle, comme observé en cas de prééclampsie ^{47, 48}. Huppertz rapporte que l'hypoxie favorise la libération de fragments de syncytium placentaire dans la circulation maternelle par nécrose plutôt que par apoptose ⁴⁹. Le concept « d'apoptose » du syncytium est proposé : en condition hypoxique, la formation du syncytium est bloquée de telle sorte que le syncytium, manquant d'ARN, de protéines et d'organelle « frais » ne peut terminer la cascade apoptotique et entame par conséquent une élimination secondaire par nécrose ⁴⁹. Ces débris activeraient davantage la réponse inflammatoire et seraient impliqués dans l'activation endothéliale, caractéristique de la prééclampsie. En accord avec cette théorie, la déportation de cellules trophoblastiques et de fragments syncytiaux est supérieure dans les veines utérines maternelles prééclampsiques ⁵⁰. Les membranes micro-villositaires syncytiotrophoblastiques isolées de placentas normaux ou prééclampsiques détruisent et inhibent spécifiquement la prolifération de cellules endothéliales humaines en culture ⁵¹. De plus, une élévation de la concentration en ADN libre d'origine maternelle et fœtale dans le plasma de femmes prééclampsiques serait corrélée à la sévérité de la maladie ⁵². Finalement, la prééclampsie s'accompagne d'une libération supérieure de fragments syncytiaux par rapport à la grossesse normale ⁵³. Ces fragments altèrent la fonction endothéliale *in vitro* ^{51, 54} et pourraient contribuer ainsi au dysfonctionnement endothélial lié à la prééclampsie ⁴⁸.

De plus, la réponse inflammatoire serait également secondaire à une activation des leucocytes circulants maternels lors de leur passage dans la chambre intervillieuse, au contact du syncytiotrophoblaste qui génère des peroxydes lipidiques. Ces leucocytes activés produiraient à leur tour des peroxydes lipidiques qui diffuseraient dans toute la circulation maternelle. Une augmentation des taux de peroxydes dans les plaquettes et dans les globules rouges a été rapportée chez des patientes prééclampsiques ainsi qu'une activation accrue des neutrophiles ⁵⁵.

Par ailleurs, la dysfonction placentaire génère d'autres facteurs qui sont libérés dans la circulation maternelle et qui sont impliqués dans les lésions endothéliales maternelles ⁵⁶. Une liste non exhaustive de ces facteurs est présentée dans le tableau 1.

Parmi ceux-ci, deux molécules semblent jouer un rôle prépondérant dans la physiopathologie de la prééclampsie, ce sont le sVEGFR-1 et l'endogline soluble ^{57, 58}.

Facteurs de croissance	Cytokines	Enzymes	Autres
EGF	TNF- α	PAI-1	Lipides oxydés
VEGF	IL-1	PAI-2	Phospholipides
sVEGFR-1	IL-6	MMP-2	Acides gras
Endogline soluble	IL-10	MMP-9	Endothélines
IGF-II	IFN		
TGF α/β	LIF		
	Prostaglandines		

Tableau n°1 : Facteurs sécrétés par le placenta dans la circulation maternelle et possiblement impliqués dans la physiopathologie de la prééclampsie

Table 1 : Placental factors secreted in maternal circulation and possibly involved in the pathophysiology of preeclampsia.

Plus récemment, une autre hypothèse a été proposée par l'équipe de Burton. L'idée serait que la dysfonction placentaire serait secondaire à des phénomènes d'hypoxie-réoxygénation plutôt qu'à une hypoxie placentaire ^{45, 59}. Ces phénomènes d'hypoxie-réoxygénation induisent un stress oxydant ⁶⁰ puis une activation de l'apoptose du syncytiotrophoblaste ⁴⁵, alors que l'hypoxie induit des phénomènes de nécrose ⁴⁵. De plus, l'hypoxie-réoxygénation induit la sécrétion par le placenta de TNF α , responsable d'une activation des cellules endothéliales *in vitro* ⁵⁹.

Enfin, il faut noter que le schéma précédemment proposé ne permet pas d'expliquer la survenue d'une prééclampsie chez des patientes présentant une vascularisation utéroplacentaire normale (Dopplers utérins normaux, absence de retard de croissance intra-utérin) comme c'est le cas pour les prééclampsies avec « gros placentas » (en cas de diabète maternel ou de grossesses multiples) ou pour les prééclampsies de fin de grossesse souvent associées à un dépassement de terme, ou encore pour les prééclampsies survenant dans un contexte infectieux. Actuellement, la prééclampsie est considérée comme une pathologie maternelle secondaire à une dysfonction placentaire (dont l'origine est diverse) responsable de la libération, dans la circulation maternelle, de diverses substances ayant la capacité d'altérer la fonction endothéliale systémique (Figure 2) ^{47, 48}.

La maladie endothéliale maternelle

Au cours de la prééclampsie, l'endothélium vasculaire maternel subit des modifications structurales et fonctionnelles conduisant à une altération de la réactivité vasculaire aux substances vasomodulatrices, à une activation de la cascade de la coagulation, et à une augmentation de la perméabilité capillaire.

Le dysfonctionnement endothélial se manifeste par la forte concentration de marqueurs de l'activation endothéliale dans la circulation ou les urines maternelles ⁶¹. Parmi ceux-ci, le facteur Von Willebrand, la fibronectine cellulaire, l'endothéline, et le VECAM. La dysfonction endothéliale peut parfois être associée à un processus de lésion endothéliale comme en témoigne l'augmentation de la thrombomoduline soluble.

La grossesse normale est associée à une vasodilatation systémique maternelle. On note une augmentation progressive de l'activité de la NOS endothéliale (eNOS) et de la cyclo-oxygénase responsables d'une production accrue de NO, de prostacycline (PGI₂) et de l'EDHF (endothelium-derived hyperpolarizing factor) ⁶². Le NO et la PGI₂ augmentent respectivement la production de GMPc et d'AMPc dans la cellule musculaire lisse. Il en résulte une diminution de la concentration intracellulaire de Ca²⁺ et de la sensibilité des myofilaments au Ca²⁺. De plus, l'EDHF ouvre les canaux K⁺ des cellules musculaires lisses induisant une hyperpolarisation. Ces modifications sont responsables d'une relaxation des cellules musculaires lisses et d'une diminution des résistances vasculaires périphériques et de la pression artérielle. En cas de prééclampsie, les cytokines produites par le placenta et déversées dans la circulation maternelle inhibent les facteurs myorelaxants précédemment décrits et augmentent la production de facteurs responsables d'une contraction des cellules musculaires lisses comme les endothélines (ET-1), le thromboxane (TXA₂). De plus ces cytokines libérées par le placenta sont capables d'activer le système rénine angiotensine induisant une production d'angiotensine II. Il en résulte une augmentation des résistances vasculaires périphériques et une hypertension artérielle ⁶².

Au niveau rénal, les cellules endothéliales qui délimitent les capillaires glomérulaires changent également de morphologie. Elles accumulent des lipides et obstruent fréquemment la lumière des capillaires glomérulaires. Ces lésions sont responsables du dysfonctionnement rénal à l'origine de la protéinurie associée à la prééclampsie⁶³. Ces lésions constituent une entité très particulière appelée « endothéliose glomérulaire », qui est retrouvée chez 80 % des femmes prééclamptiques.

De récents travaux ont montré que le VEGF joue un rôle important dans la physiopathologie de la dysfonction endothéliale au cours de la prééclampsie^{57, 64-67}. Le VEGF et le PlGF sont des facteurs de croissance impliqués dans les processus d'angiogenèse et de vasculogenèse. Ce sont des facteurs indispensables à la survie des cellules endothéliales. Au cours de la grossesse normale, la cellule trophoblastique sécrète une forme soluble du récepteur au VEGF de type 1 appelée sFLT-1, qui est libérée dans la circulation maternelle. Le sFLT-1 se fixe au VEGF et au PlGF et se comporte donc comme un antagoniste compétitif de ces molécules^{66, 67}. L'affinité de sFLT-1 pour le VEGF est plus importante que pour le PlGF, ce qui explique qu'au cours de la grossesse normale les taux sériques de VEGF libre sont effondrés alors que les taux sériques de PlGF sont relativement préservés^{66, 67}. En cas de prééclampsie, probablement du fait de l'hypoxie placentaire, la production placentaire de sFLT-1 est considérablement accrue ce qui entraîne un effondrement des taux sériques de VEGF et PlGF. Il a été montré que cette carence en VEGF et PlGF est responsable de la dysfonction endothéliale maternelle systémique et de la néphropathie glomérulaire^{64, 65}.

Plus récemment le rôle de l'endogline soluble, un autre récepteur soluble, a été mis en évidence dans la physiopathologie de la dysfonction endothéliale de la prééclampsie. L'endogline (Eng) ou CD105 est un récepteur membranaire pour les isoformes 1 et 3 du transforming growth factor β (TGF β 1 et TGF β 3). Ce récepteur est fortement exprimé au niveau des cellules endothéliales et au niveau du syncytiotrophoblaste. L'Eng joue un rôle dans le développement et l'homéostasie vasculaire en grande partie par le biais de l'activation de la NO synthase endothéliale (eNOS)^{58, 68}. Comme pour le sFLT-1, le placenta humain produit une forme soluble de l'endogline qui est libérée dans la circulation maternelle et dont les taux sont accrus en cas de prééclampsie. L'endogline soluble potentialise la dysfonction endothéliale induite par sFLT-1, et a pour effets, une activation et une lésion endothéliale ainsi que augmentation de la perméabilité vasculaire^{58, 68}. L'endogline soluble est également impliquée dans la survenue du HELLP syndrome^{58, 68}. L'augmentation de sFLT-1 et de sEng est précoce et survient bien avant l'apparition des signes cliniques de prééclampsie. Ces marqueurs ouvrent donc de nouveaux espoirs pour un dépistage sérique précoce de la prééclampsie permettant d'envisager une prévention primaire de cette pathologie^{57, 69}. Une étude prospective multicentrique est actuellement en cours en France pour tenter de valider ce dépistage sérique de la prééclampsie.

Conclusion

La prééclampsie est une pathologie maternelle, spécifique de la grossesse, secondaire à une dysfonction placentaire. Les causes responsables de cette dysfonction placentaire sont en fait très variables, ce qui rend l'approche expérimentale de cette pathologie très complexe. Cette dysfonction placentaire est responsable de la libération dans la circulation maternelle de substances responsables d'une dysfonction endothéliale caractérisée par une activation des cellules endothéliales et une augmentation de la perméabilité vasculaire. Deux molécules produites par le placenta jouent un rôle crucial dans la physiopathologie de la prééclampsie ; ce sont le sFLT-1 et l'endogline soluble. Les travaux concernant ces deux molécules ouvrent de nouvelles voies de recherche sur le dépistage et probablement le traitement de la prééclampsie.

Références:

1. MEEKINS JW, PIJNENBORG R, HANSENS M, MCFADYEN IR, VAN ASSHE A. A study of placental bed spiral arteries and trophoblast invasion in normal and severe pre-eclamptic pregnancies. *Br J Obstet Gynaecol* 1994;101:669-74.
2. Redman CW. Current topic: pre-eclampsia and the placenta. *Placenta* 1991;12:301-8.
3. Mulhaupt HA, Mazar A, Cines DB, Warhol MJ, McCrae KR. Expression of urokinase receptors by human trophoblast. A histochemical and ultrastructural analysis. *Lab Invest* 1994;71:392-400.
4. Polette M, Nawrocki B, Pintiaux A, et al. Expression of gelatinases A and B and their tissue inhibitors by cells of early and term human placenta and gestational endometrium. *Lab Invest* 1994;71:838-46.
5. Graham CH, McCrae KR. Altered expression of gelatinase and surface-associated plasminogen activator activity by trophoblast cells isolated from placentas of preeclamptic patients. *Am J Obstet Gynecol* 1996;175:555-62.

6. Pang ZJ, Xing FQ. Expression profile of trophoblast invasion-associated genes in the pre-eclamptic placenta. *Br J Biomed Sci* 2003;60:97-101.
7. Genbacev O, Zhou Y, Ludlow JW, Fisher SJ. Regulation of human placental development by oxygen tension. *Science* 1997;277:1669-72.
8. Caniggia I, Grisaru-Gravnosky S, Kuliszewsky M, Post M, Lye SJ. Inhibition of TGF-beta 3 restores the invasive capability of extravillous trophoblasts in preeclamptic pregnancies. *J Clin Invest* 1999;103:1641-50.
9. Rajakumar A, Whitelock KA, Weissfeld LA, Daftary AR, Markovic N, Conrad KP. Selective overexpression of the hypoxia-inducible transcription factor, HIF-2alpha, in placentas from women with preeclampsia. *Biol Reprod* 2001;64:499-506.
10. Caniggia I, Mostachfi H, Winter J, et al. Hypoxia-inducible factor-1 mediates the biological effects of oxygen on human trophoblast differentiation through TGFbeta(3). *J Clin Invest* 2000;105:577-87.
11. Zhou Y, Damsky CH, Chiu K, Roberts JM, Fisher SJ. Preeclampsia is associated with abnormal expression of adhesion molecules by invasive cytotrophoblasts. *J Clin Invest* 1993;91:950-60.
12. Zhou Y, Damsky CH, Fisher SJ. Preeclampsia is associated with failure of human cytotrophoblasts to mimic a vascular adhesion phenotype. One cause of defective endovascular invasion in this syndrome? *J Clin Invest* 1997;99:2152-64.
13. Kaufmann P, Black S, Huppertz B. Endovascular trophoblast invasion: implications for the pathogenesis of intrauterine growth retardation and preeclampsia. *Biol Reprod* 2003;69:1-7.
14. Reister F, Frank HG, Heyl W, et al. The distribution of macrophages in spiral arteries of the placental bed in pre-eclampsia differs from that in healthy patients. *Placenta* 1999;20:229-33.
15. Reister F, Frank HG, Kingdom JC, et al. Macrophage-induced apoptosis limits endovascular trophoblast invasion in the uterine wall of preeclamptic women. *Lab Invest* 2001;81:1143-52.
16. DiFederico E, Genbacev O, Fisher SJ. Preeclampsia is associated with widespread apoptosis of placental cytotrophoblasts within the uterine wall. *Am J Pathol* 1999;155:293-301.
17. Huppertz B, Frank HG, Kaufmann P. Apoptosis along the invasive trophoblastic pathway. *Placenta* 1998;19:A35.
18. Lynch DH, Ramsdell F, Alderson MR. Fas and FasL in the homeostatic regulation of immune responses. *Immunol Today* 1995;16:569-74.
19. Darmochwal-Kolarz D, Leszczynska-Gorzelak B, Rolinski J, Oleszczuk J. The expression and concentrations of Fas/APO-1 (CD95) antigen in patients with severe pre-eclampsia. *J Reprod Immunol* 2001;49:153-64.
20. Runic R, Lockwood CJ, Ma Y, Dipasquale B, Guller S. Expression of Fas ligand by human cytotrophoblasts: implications in placentation and fetal survival. *J Clin Endocrinol Metab* 1996;81:3119-22.
21. Hsu CD, Gutierrez LS, Meaddough E, et al. Expression of FasL by pre-eclamptic placenta. *Am J Obstet Gynecol* 1999;180(1S-II) Supplement:p43S.
22. Lim KH, Zhou Y, Janatpour M, et al. Human cytotrophoblast differentiation/invasion is abnormal in pre-eclampsia. *Am J Pathol* 1997;151:1809-18.
23. Goldman-Wohl DS, Ariel I, Greenfield C, et al. Lack of human leukocyte antigen-G expression in extravillous trophoblasts is associated with pre-eclampsia. *Mol Hum Reprod* 2000;6:88-95.
24. Colbern GT, Chiang MH, Main EK. Expression of the nonclassic histocompatibility antigen HLA-G by preeclamptic placenta. *Am J Obstet Gynecol* 1994;170:1244-50.
25. Craven CM, Morgan T, Ward K. Decidual spiral artery remodelling begins before cellular interaction with cytotrophoblasts. *Placenta* 1998;19:241-52.

26. Ferrara N, Davis-Smyth T. The biology of vascular endothelial growth factor. *Endocr Rev* 1997;18:4-25.
27. Carmeliet P, Collen D. Role of vascular endothelial growth factor and vascular endothelial growth factor receptors in vascular development. *Curr Top Microbiol Immunol* 1999;237:133-58.
28. Carmeliet P. Mechanisms of angiogenesis and arteriogenesis. *Nat Med* 2000;6:389-95.
29. Clark DE, Smith SK, Licence D, Evans AL, Charnock-Jones DS. 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;159:459-67.
30. Zhou Y, Bellingard V, Feng KT, McMaster M, Fisher SJ. Human cytotrophoblasts promote endothelial survival and vascular remodeling through secretion of Ang2, PlGF, and VEGF-C. *Dev Biol* 2003;263:114-25.
31. Pavlov N, Hatzi E, Bassaglia Y, Frendo JL, Brion DE, Badet J. Angiogenin distribution in human term placenta, and expression by cultured trophoblastic cells. *Angiogenesis* 2003;6:317-30.
32. Zygmunt M, Hahn D, Munstedt K, Bischof P, Lang U. Invasion of cytotrophoblastic JEG-3 cells is stimulated by hCG in vitro. *Placenta* 1998;19:587-93.
33. Zygmunt M, Herr F, Keller-Schoenwetter S, et al. Characterization of human chorionic gonadotropin as a novel angiogenic factor. *J Clin Endocrinol Metab* 2002;87:5290-6.
34. Benirschke K, Kaufmann P. Nonvillous parts and trophoblast invasion. *Pathology of the human placenta*. New York: Springer-Verlag, 2000.
35. Hubel CA. Oxidative stress in the pathogenesis of preeclampsia. *Proc Soc Exp Biol Med* 1999;222:222-35.
36. Walsh SW, Wang Y. Trophoblast and placental villous core production of lipid peroxides, thromboxane, and prostacyclin in preeclampsia. *J Clin Endocrinol Metab* 1995;80:1888-93.
37. Wang Y, Walsh SW, Kay HH. Placental lipid peroxides and thromboxane are increased and prostacyclin is decreased in women with preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol* 1992;167:946-9.
38. Staff AC, Halvorsen B, Ranheim T, Henriksen T. Elevated level of free 8-iso-prostaglandin F2alpha in the decidua basalis of women with preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol* 1999;181:1211-5.
39. Staff AC, Ranheim T, Khoury J, Henriksen T. Increased contents of phospholipids, cholesterol, and lipid peroxides in decidua basalis in women with preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol* 1999;180:587-92.
40. Davidge ST. Oxidative stress and altered endothelial cell function in preeclampsia. *Semin Reprod Endocrinol* 1998;16:65-73.
41. Davidge ST, Hubel CA, Brayden RD, Capeless EC, McLaughlin MK. Sera antioxidant activity in uncomplicated and preeclamptic pregnancies. *Obstet Gynecol* 1992;79:897-901.
42. Kharb S, Gulati N, Singh V, Singh GP. Lipid peroxidation and vitamin E levels in preeclampsia. *Gynecol Obstet Invest* 1998;46:238-40.
43. Kharb S. Vitamin E and C in preeclampsia. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2000;93:37-9.
44. Many A, Hubel CA, Fisher SJ, Roberts JM, Zhou Y. Invasive cytotrophoblasts manifest evidence of oxidative stress in preeclampsia. *Am J Pathol* 2000;156:321-31.
45. Hung TH, Skepper JN, Charnock-Jones DS, Burton GJ. Hypoxia-reoxygenation: a potent inducer of apoptotic changes in the human placenta and possible etiological factor in preeclampsia. *Circ Res* 2002;90:1274-81.
46. Huppertz B, Frank HG, Kingdom JC, Reister F, Kaufmann P. Villous cytotrophoblast regulation of the syncytial apoptotic cascade in the human placenta. *Histochem Cell Biol* 1998;110:495-508.
47. Redman CW, Sargent IL. Placental debris, oxidative stress and pre-eclampsia. *Placenta* 2000;21:597-602.

48. Redman CW, Sargent IL. The pathogenesis of pre-eclampsia. *Gynecol Obstet Fertil* 2001;29:518-22.
49. Huppertz B, Kingdom J, Caniggia I, et al. Hypoxia favours necrotic versus apoptotic shedding of placental syncytiotrophoblast into the maternal circulation. *Placenta* 2003;24:181-90.
50. Chua S, Wilkins T, Sargent I, Redman C. Trophoblast deportation in pre-eclamptic pregnancy. *Br J Obstet Gynaecol* 1991;98:973-9.
51. Smarason AK, Sargent IL, Starkey PM, Redman CW. The effect of placental syncytiotrophoblast microvillous membranes from normal and pre-eclamptic women on the growth of endothelial cells in vitro. *Br J Obstet Gynaecol* 1993;100:943-9.
52. Zhong XY, Laivuori H, Livingston JC, et al. Elevation of both maternal and fetal extracellular circulating deoxyribonucleic acid concentrations in the plasma of pregnant women with preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol* 2001;184:414-9.
53. Knight M, Redman CW, Linton EA, Sargent IL. Shedding of syncytiotrophoblast microvilli into the maternal circulation in pre-eclamptic pregnancies. *Br J Obstet Gynaecol* 1998;105:632-40.
54. Cockell AP, Learmont JG, Smarason AK, Redman CW, Sargent IL, Poston L. Human placental syncytiotrophoblast microvillous membranes impair maternal vascular endothelial function. *Br J Obstet Gynaecol* 1997;104:235-40.
55. Dekker GA, Sibai BM. Etiology and pathogenesis of preeclampsia: current concepts. *Am J Obstet Gynecol* 1998;179:1359-75.
56. Conrad KP, Benyo DF. Placental cytokines and the pathogenesis of preeclampsia. *Am J Reprod Immunol* 1997;37:240-9.
57. Levine RJ, Maynard SE, Qian C, et al. Circulating angiogenic factors and the risk of preeclampsia. *N Engl J Med* 2004;350:672-83.
58. Venkatesha S, Toporsian M, Lam C, et al. Soluble endoglin contributes to the pathogenesis of preeclampsia. *Nat Med* 2006;12:642-649.
59. Hung TH, Charnock-Jones DS, Skepper JN, Burton GJ. Secretion of tumor necrosis factor- α from human placental tissues induced by hypoxia-reoxygenation causes endothelial cell activation in vitro: a potential mediator of the inflammatory response in preeclampsia. *Am J Pathol* 2004;164:1049-61.
60. Hung TH, Skepper JN, Burton GJ. In vitro ischemia-reperfusion injury in term human placenta as a model for oxidative stress in pathological pregnancies. *Am J Pathol* 2001;159:1031-43.
61. Roberts JM. Endothelial dysfunction in preeclampsia. *Semin Reprod Endocrinol* 1998;16:5-15.
62. Khalil RA, Granger JP. Vascular mechanisms of increased arterial pressure in preeclampsia: lessons from animal models. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2002;283:R29-45.
63. Gaber LW, Spargo BH, Lindheimer MD. Renal pathology in pre-eclampsia. *Baillieres Clin Obstet Gynaecol* 1994;8:443-68.
64. Eremina V, Sood M, Haigh J, et al. Glomerular-specific alterations of VEGF-A expression lead to distinct congenital and acquired renal diseases. *J Clin Invest* 2003;111:707-16.
65. Maynard SE, Min JY, Merchan J, et al. Excess placental soluble fms-like tyrosine kinase 1 (sFlt1) may contribute to endothelial dysfunction, hypertension, and proteinuria in preeclampsia. *J Clin Invest* 2003;111:649-58.
66. Luttun A, Carmeliet P. Soluble VEGF receptor Flt1: the elusive preeclampsia factor discovered? *J Clin Invest* 2003;111:600-2.
67. Tsatsaris V, Goffin F, Munaut C, et al. Over expression of the soluble vascular endothelial growth factor receptor (sVEGFR-1) in preeclamptic patients: pathophysiological consequences. *J Clin Endoc Metab* 2003.

68. Gougos A, St Jacques S, Greaves A, et al. Identification of distinct epitopes of endoglin, an RGD-containing glycoprotein of endothelial cells, leukemic cells, and syncytiotrophoblasts. *Int Immunol* 1992;4:83-92.
69. Levine RJ, Lam C, Qian C, et al. Soluble endoglin and other circulating antiangiogenic factors in preeclampsia. *N Engl J Med* 2006;355:992-1005.

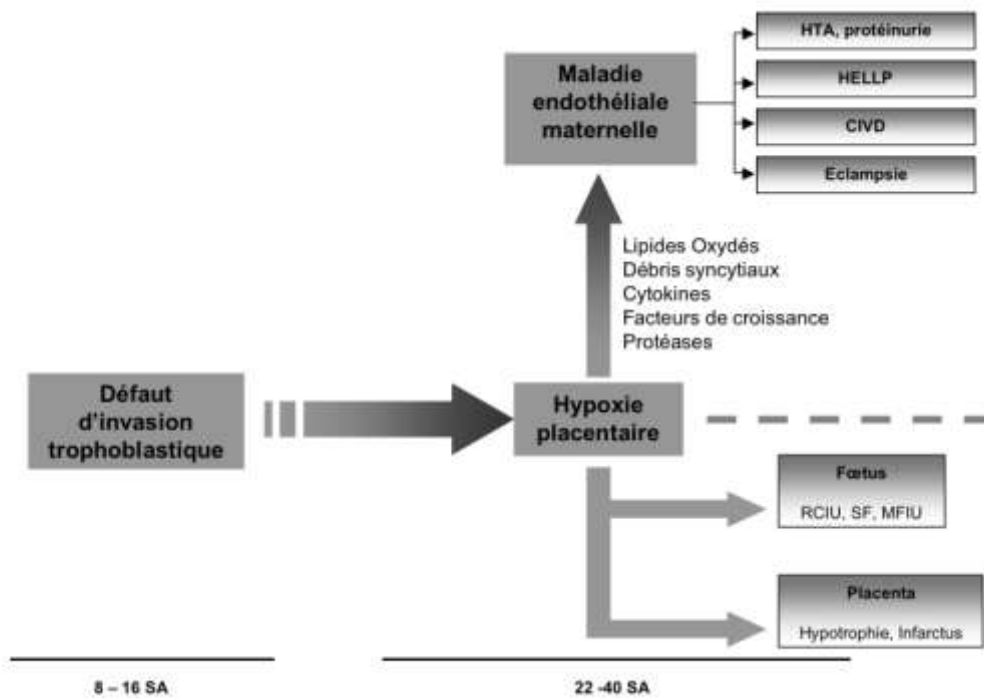


Figure 1: Schéma classique de la physiopathologie de la prééclampsie.

CIVD: Coagulation intravasculaire disséminée, HTA: hypertension artérielle. MFIU: Mort Fœtale in utero, RCIU : retard de croissance intra-utérin, SF : souffrance fœtale.

Figure 1 : Pathophysiology of preeclampsia.

CIVD: disseminated intravascular coagulation, HTA: hypertension, MFIU : intrauterine fetal death, RCIU : intrauterine growth retardation, SF: fetal asphyxia

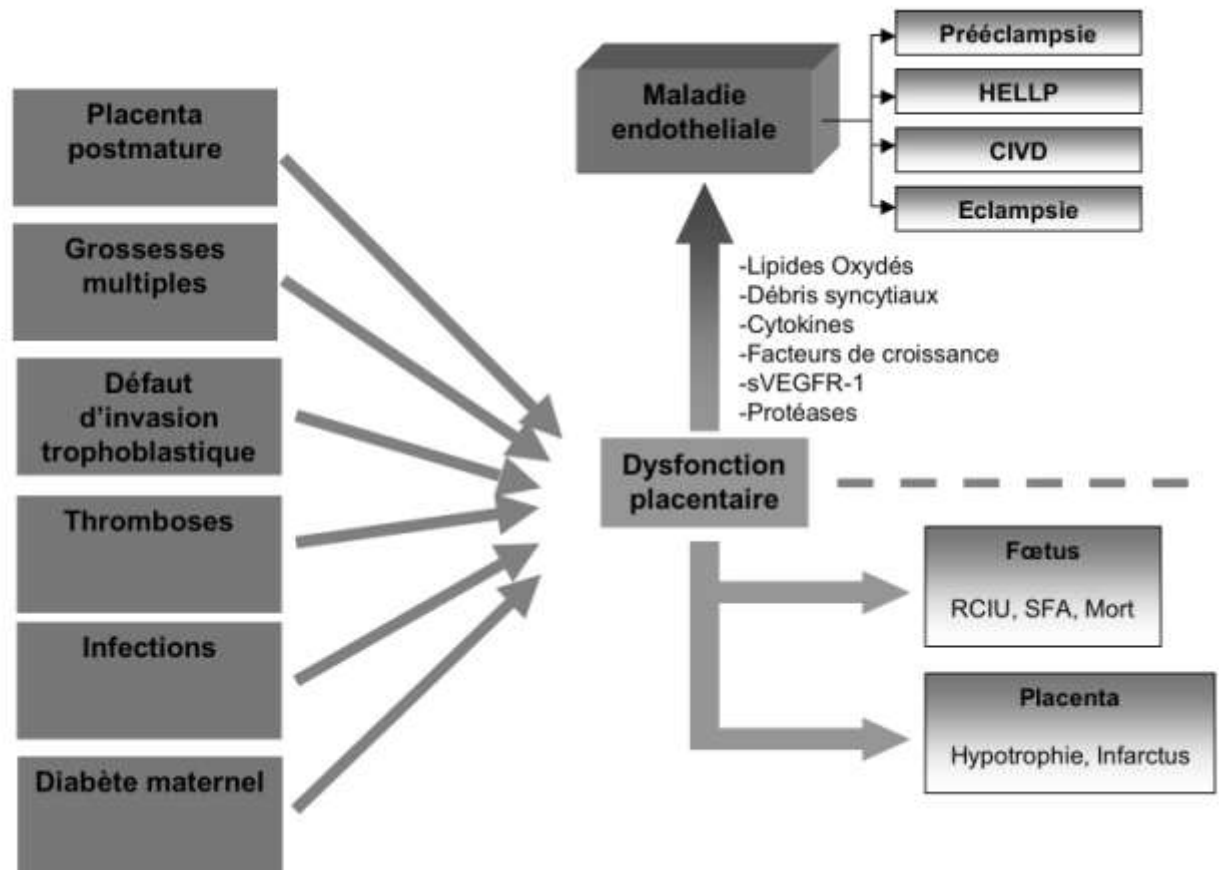


Figure 2 : Schématisation des données actuelles de la physiopathologie de la prééclampsie.

CIVD: Coagulation intravasculaire disséminée, HTA: hypertension artérielle. MFIU: Mort Fœtale in utero, RCIU : retard de croissance intra-utérin, SF : souffrance fœtale.

Figure 2 : New concepts in the pathophysiology of preeclampsia.

CIVD: disseminated intravascular coagulation, HTA: hypertension, MFIU : intrauterine fetal death, RCIU : intrauterine growth retardation, SF: fetal asphyxia

Etat des connaissances : Prise en charge thérapeutique de la prééclampsie

Latest developments: Management and treatment of preeclampsia

N Winer*, V Tsasaris**

* Service de Gynécologie Obstétrique, médecine fœtale et biologie de la reproduction
44093 CHU Nantes

** Service de Gynécologie Obstétrique CHU Cochin, Paris

Winer N, Tsasaris V. Latest developments: management and treatment of preeclampsia : Review
J Gynecol Obstet Biol Reprod . 2008 ;37:5-15.

Correspondance:

Dr Norbert Winer,

Maternité CHU Nantes

38, boulevard Jean Monnet

44093 Nantes

France.

Téléphone : 02 40 08 31 76 (+33 2 40 08 31 76)

Fax : 02 40 08 47 90 (+33 240 084 790)

(email : norbert.winer@chu-nantes.fr)

RESUME :

La prééclampsie est définie par l'association d'une hypertension artérielle gravidique (pression artérielle systolique supérieure ou égale à 140 mmHg et diastolique supérieure à 90 mmHg) et d'une protéinurie supérieure ou égale à 300mg/ 24h00 après 20 semaines d'aménorrhée (SA). Elle complique 0.5 à 7 % des grossesses. C'est une pathologie gravidique sévère avec une mortalité et une morbidité fœtale persistante et également des accidents maternels à type d'hématome rétroplacentaire, HELLP syndrome (*hemolysis, elevated liver enzymes, low platelets*), et éclampsie. Le pronostic vital maternel est engagé en l'absence de traitement qui, une fois la maladie installée, est basé sur l'arrêt de la grossesse et la délivrance du placenta. La corticothérapie doit toujours être privilégiée dans la mesure du possible si le terme le justifie. Le traitement antihypertenseur a pour objectif de limiter les complications maternelles en particulier neurologiques. Les anticalciques sont de plus en plus utilisés en thérapeutique de première ligne. Le sulfate de magnésium probablement sous utilisé en France, doit être prescrit en respectant les règles de prudence et de surveillance. L'objectif est de prévenir les récides de crises d'éclampsie (prévention secondaire). Dans les prééclampsies sévères et précoces, la prévention primaire est plus controversée mais pourrait être réservée aux patientes présentant une excitation pyramidale lorsque le risque convulsif semble imminent. Le traitement préventif chez les femmes à risque, dont l'efficacité réelle reste cependant modérée, est surtout représenté par l'aspirine (100 à 160 mg) en début de grossesse. Ce traitement diminuerait le risque de récidence de pré-éclampsie de 15%, la prématurité de 8% et la mortalité périnatale de 14%. Ces chiffres sont tout récemment ramenés à 10% aussi bien pour le risque de récidence de pré-éclampsie RR 95%CI 0.90 (0.84.0.97) que pour la prématurité RR 95% CI 0.90 (0.83.0.98). Il n'y aurait par ailleurs pas d'action préventive notable sur la mortalité périnatale ni sur les retards de croissance intra utérin (RCIU). Les sous groupes à risques comme les greffées rénales, les diabétiques, les HTA chroniques ne bénéficient pas aussi formellement de la réduction de risque de prééclampsie par l'aspirine.

Abstract

Pre-eclampsia is defined as the association of pregnancy induced hypertension and proteinuria of 300mg/24hours or more after 20 weeks gestation. It complicates 0.5 to 7% of pregnancies. It is a severe complication of pregnancy which leads to persisting fetal morbidity and mortality. It is also responsible for maternal morbidity as placental abruption, HELLP syndrome (hemolysis, elevated liver enzymes, low platelets) and eclampsia. Without treatment, maternal risks are high. Once the disease is confirmed, the treatment consists of ending the pregnancy.. Corticosteroids for lung maturity have to be prioritised depending on the term. Antihypertensive drugs are used to limit maternal complications, in particular in neurological form. Calcium pump inhibitors are increasingly used as a first line choice. Magnesium Sulfate, which is probably not used enough in France, needs to be administered with care and strict monitoring. It can be used to prevent a recurrence of eclamptic fits or in the context of early severe pre-eclampsia with neurological irritability where an eclamptic fit seems imminent. Preventive treatment of pre-eclampsia consists essentially of low dose aspirin. The efficacy of this treatment is real but moderate. It decreases the risk of recurrence of pre-eclampsia by 10 to 15%, of prematurity by 8% and of perinatal mortality by 14%. These figures were recently corrected to 10% for the risk of recurrence of pre-eclampsia RR 95%CI [0.90 (0.84.0.97)] and prematurity RR 95% CI [0.90 (0.83.0.98)]. It seems that it has no significant effect on intra-uterine growth restriction (IUGR) and perinatal death prevention. For the main outcome of pre-eclampsia, there was no evidence that women in any of subgroups as pre-existing renal disease, pre-existing diabetes or hypertension benefited more or less from the use of antiplatelet agents than those in any other subgroup.

Mots-clés : Preeclampsie-Traitement préventif- traitement de la prééclampsie-sulfate de magnésium- antihypertenseurs- corticothérapie et traitement conservateur

Key words

Preeclampsia-Prevention treatment- Management preeclampsia- magnesium sulfate- antihypertensive drugs- corticosteroids and conservative management

INTRODUCTION

En France, l'épidémiologie de la pré-éclampsie est assez mal connue et survient dans 0.5 à 7 % des grossesses en fonction des facteurs de risques présentés par la patiente (1). La pré-éclampsie est responsable de près de 20 % de la mortalité maternelle liée à la grossesse aux Etats-Unis (2,3) et 15 % en Europe. La gravité de ce syndrome réside dans la possibilité de complications sévères maternelles en cas d'hypertension maligne ou d'état de mal éclamptique (mortalité 2 à 4/100 000, le plus souvent par hémorragie cérébrale (3), et fœtales (mortalité fœtale de l'ordre de 12 à 14 %). La pré-éclampsie reste encore un problème de santé publique du fait de ses conséquences périnatales à la fois sur le fœtus et sur la mère (4). En effet, elle est responsable d'une part importante de prématurité induite. Les données précises sont assez mal connues en France, mais aux Etats-Unis on estime à 15% la proportion de naissances prématurées du fait de la pré-éclampsie (soit 82000 naissances par an). La prévalence de la pré-éclampsie est nettement plus élevée en Afrique où elle est en moyenne de 4% dans la population générale mais peut atteindre jusqu'à 18% dans certaines ethnies. On estime que la preeclampsie est responsable de 50 000 à 76 000 morts maternelles dans le monde et de 35 000 crises d'éclampsie par an (5). La pré-éclampsie est définie par l'association d'une hypertension artérielle gravidique (pression artérielle systolique supérieure ou égale à 140 mmHg et diastolique supérieure à 90 mmHg) et d'une protéinurie supérieure ou égale à 300mg/ 24h00. Il s'agit d'une hypertension artérielle survenant après 20 SA et se normalisant dans les 3 mois après l'accouchement. Les oedèmes peuvent être présents ou absents. La gravité de cette pathologie est liée à ses complications maternelles (HELLP syndrome, éclampsie, troubles de l'hémostase, insuffisance rénale, œdème aigu pulmonaire, œdème papillaire, décollement séreux de la rétine, hématome retro-placentaire, rupture capsulaire du foie) et périnatales (hypotrophie, prématurité induite, décès in utero, extractions en urgence avec asphyxie périnatale) (6). Le seul traitement curatif est actuellement représenté par l'arrêt de la grossesse permettant l'extraction du fœtus et du placenta. Dans certains cas, l'interruption médicale de grossesse pour sauvetage maternel peut parfois être discutée en cas de sévérité majeure et en raison du mauvais pronostic postnatal et du risque maternel.

OBJECTIFS

Les critères décisionnels pour la naissance sont le terme, l'estimation du poids fœtal, les dopplers et l'entretien singulier avec le couple. Avant 24 SA, dans les prééclampsies graves l'expectative augmente le risque maternel sans réel bénéfice périnatal (7). Un algorithme décisionnel d'après Sibai (7) est résumé dans le tableau I. L'objectif est de prolonger la grossesse pour diminuer la morbidité néonatale liée à la prématurité, mais sans prendre de risque démesuré pour la mère. Après 34 semaines, l'accouchement doit classiquement être effectué sans délai (1, 7). Les attitudes habituelles permettant de prolonger la grossesse en absence de signes de gravité sont, le repos mais sans bénéfice démontré (8) et le contrôle prudent et modéré de la tension artérielle de la mère par un traitement modérément hypotenseur (ne pas trop baisser la perfusion utéro-placentaire). Les objectifs tensionnels recherchés par le traitement médical sont de maintenir la pression artérielle systolique entre 140 et 160 mm Hg pour protéger le cerveau et la pression diastolique entre 90 et 105 mm Hg pour la protection placentaire (9). Une corticothérapie est fréquemment administrée à la mère pour activer la maturité pulmonaire fœtale. En cas d'éclampsie, s'ajoutent au traitement hypotenseur, des anti-convulsivants et/ou du sulfate de magnésium. En cas de HELLP syndrome, un accouchement rapide, le plus souvent par césarienne compte tenu de l'immaturité cervicale, est de règle (6, 10). Etant donné qu'il n'existe pas de traitement curatif de la pré-éclampsie, l'objectif d'un certain nombre d'équipes est plutôt de tenter de chercher à en prévenir sa survenue. De nombreux traitements ont été proposés pour prévenir la survenue d'une pré-éclampsie. Parmi celles-ci on peut mentionner l'aspirine, le calcium, la vitamine C, la vitamine E, les donneurs de NO, les acides gras poly-insaturés. La plupart des données sont discordantes quant à l'efficacité de ces divers traitements. L'aspirine est néanmoins le médicament le plus largement évalué. Il permet de réduire de façon significative le risque de récurrence de la pré-éclampsie lorsqu'elle est administrée précocement (au cours du premier trimestre), à doses suffisantes (entre 100 et 160mg par jour) chez des patientes ayant un risque élevé de récurrence (antécédent de pré-éclampsie et ou de retard de croissance intra-utérin précoce vasculaire (avant 32 SA) et sévère) (11). L'objectif de cette revue est de faire le point sur la prise en charge préventive et thérapeutique de la prééclampsie.

PRISE EN CHARGE THERAPEUTIQUE DE LA PREECLAMPSIE

Une fois le diagnostic de prééclampsie posé, la prise en charge urgente médico-obstétricale s'impose compte tenu des risques à la fois sur le plan maternel et sur le plan fœtal. La physiopathologie est mieux comprise mais la thérapeutique a finalement assez peu progressée et reste symptomatique et basée sur la prévention de l'hypertension maligne et l'arrêt de la grossesse (12). Une évaluation clinico-biologique doit permettre rapidement de classer la prééclampsie en sévère ou non sévère (13). L'objectif du traitement anti-hypertenseur est de juguler la pression artérielle maternelle sans a-coups hypo ou hypertensifs afin d'éviter les complications vasculaires maternelles et la souffrance fœtale par vol hémodynamique en maintenant une pression artérielle moyenne (PAM) entre 105 et 125 mm Hg (1). Une revue assez exhaustive et une mise au point sur la façon de mesurer la pression artérielle chez les femmes enceintes, des différents traitements et des indications et d'une façon générale de la prise en charge de la prééclampsie est développée par Khedun et al (9). Nous passerons en revue les traitements les plus utilisés en cas de prééclampsie.

L'hospitalisation

Il est classique d'hospitaliser une patiente présentant une prééclampsie en raison des risques de souffrance fœtale, de la morbidité maternelle et de la mortalité maternelle non nulle (3). Le repos n'ayant pas montré une efficacité (8), l'objectif est de préparer la naissance par une corticothérapie, de contrôler le bien être fœtal et traiter ou prévenir une éventuelle éclampsie. Cette attitude n'est cependant pas universelle et certains en pratique courante organisent le suivi des prééclampsies modérées en ambulatoire. En effet l'hospitalisation dans ces cas n'apporte pas un bénéfice démontré et semble possible si les critères de gravité sont absents et si les conditions de surveillance sont adaptées. Ainsi, dans leur étude, les auteurs résument les caractéristiques cliniques et paracliniques permettant de surveiller à domicile ces patientes. La prééclampsie doit être modérée avec des chiffres tensionnels inférieurs à 150/100 mm Hg avec une protéinurie inférieure ou égale à 0.6g/24h00, absence de signes cliniques tels que céphalées, troubles visuels, barre épigastrique, mouvements cloniques. Les plaquettes doivent être supérieures à 120 000/l, une uricémie < 380 µmoles/l et un bilan hépatique normal. Il ne doit pas avoir de pathologie vasculaire sous jacente à risque telle que le diabète, lupus, ou métrorragies. Les patientes doivent être informées et partager le souhait d'être à domicile et accepter le suivi dans un centre d'obstétrique à risque (14). Sur les 321 patientes éligibles à ce programme de surveillance, aucune n'a présenté de complications telles que CIVD, hématome rétroplacentaire, ou éclampsie. Mais la prudence reste de mise car 43% de ces patientes ont été hospitalisées pour aggravation et 2% ont présenté une prééclampsie grave. C'est la raison pour laquelle, de nombreux experts recommandent l'arrêt de la grossesse lorsque le terme atteint ou dépasse 34 SA (1).

Les traitements antihypertenseurs

Le traitement antihypertenseur est utile car il protège des complications hypertensives maternelles et réduit de façon significative la pression artérielle (15, 16). La molécule de référence est restée longtemps la Dihydralazine (Népressol®) par son action vasodilatatrice artérielle et l'ancienneté du produit. Cependant ce produit de moins en moins délivré en Europe est quasi totalement remplacé par d'autres molécules plus récentes induisant moins d'effets secondaires maternels comme notamment les inhibiteurs calciques. Néanmoins, le traitement antihypertenseur doit être donné avec prudence et parcimonie compte tenu du risque de répercussion sur la croissance fœtale confirmée par une méta-analyse portant sur 14 essais (17). Les antihypertenseurs centraux ont longtemps été préconisés avec la méthildopa (Aldomet®) comme chef de file. Ce produit n'est ni le plus efficace ni dénué d'effets secondaires potentiellement graves et l'arrivée de nouvelles classes thérapeutiques ont fait quasi disparaître l'indication de cette prescription. La Clonidine (Catapressan®) est rarement utilisée en cas de PE sévère.

Les inhibiteurs calciques sont la classe thérapeutique qui est de plus en plus souvent utilisée en première intention avec un délai d'action rapide quel qu'en soit la voie d'administration. Le terme générique d'inhibiteurs calciques désigne les médicaments qui inhibent l'entrée du calcium dans la cellule par les canaux calciques voltage-dépendants capables de bloquer ainsi le couplage excitation-contraction de la fibre musculaire (18). En limitant l'entrée de calcium dans les cellules, les inhibiteurs calciques ont plusieurs sites d'actions: d'abord cardiaques (ralentissement de la dépolarisation diastolique et possibilité d'un effet inotrope négatif utile dans l'indication anti-arythmique), ensuite vasculaires. En effet, l'inhibition de l'entrée du calcium provoque une réduction du relargage du calcium par le réticulum sarcoplasmique, entraînant au niveau des cellules musculaires myocardiques une diminution de la force contractile et de la consommation d'oxygène. De même, au niveau des cellules musculaires lisses des artérioles, il existe

une diminution de l'activité des protéines contractiles aboutissant donc à un effet vasodilatateur en particulier artériel. Les habitudes françaises donnent souvent la préférence aux traitements intraveineux, mais le traitement oral est très souvent et avantageusement utilisé par de nombreuses équipes avec la nifédipine (Adalate®) en évitant toutefois la capsule sublinguale capable d'induire des hypotensions délétères pour le fœtus (19). Les anomalies du monitoring fœtal sont sensiblement comparables quelque soit le traitement antihypertenseur maternel et doivent plutôt être mis en rapport avec la pathologie placentaire jusqu'à preuve du contraire (20). Les doses de nifédipine sont très variables allant de 10 mg per os jusqu'à des doses de 50 à 120 mg (11) avec une efficacité comparable à la dihydralazine (Nepressol®)(21). Une remarquable revue de synthèse faite par Smith et al sur la Nifédipine pendant la grossesse permet de confirmer à la fois sa probable innocuité tant sur la mère que sur le fœtus mais également la faiblesse des études randomisées (22). La Nicardipine (Loxen®) est utilisée aussi bien par voie veineuse à la dose de 0.5 à 1 mg/heure que par voie orale avec une efficacité comparable (23). Néanmoins, il semble que la nicardipine intraveineuse puisse être plutôt considérée comme une arme thérapeutique efficace à la dose de 3 à 9mg/h mais plutôt de deuxième ligne après échec d'autres traitements (dihydralazine ou labétalol) (24). En effet, les effets secondaires maternels rapportés ne sont pas exceptionnels avec tachycardie, flushes, nausées, céphalées et vertiges (25). Cette possibilité pourrait être également confirmée par la comparaison Nifédipine-Labétalol qui penche en faveur des anticalciques pour la rapidité de contrôle de l'hypertension et pour l'amélioration de la diurèse maternelle (26). Le labétalol reste néanmoins une thérapeutique de première intention possible et cohérente par son efficacité, sa bonne tolérance et son éventuelle protection cérébrale. (26 ; 27 ,28). Une méta-analyse récente de la Cochrane Database (29) regroupant 24 essais et près de 3000 patientes ne permet pas de trancher sur le traitement présentant la meilleure efficacité au moindre risque. Les auteurs conseillent donc de choisir le traitement dont l'équipe a le plus d'expérience dans son utilisation. Cependant, il semble d'après ces mêmes auteurs, souhaitable d'éviter la diazoxide, la ketansérine (non commercialisée en France), la nimodipine et le sulfate de magnésium.

Place du traitement conservateur et de la corticothérapie

Parallèlement aux traitements antihypertenseurs, une prise en charge globale maternelle doit être débutée avec un contrôle des entrées et sorties proches de la surveillance d'une réanimation en fonction de la sévérité. Lorsqu'on parle de traitement conservateur, il faut garder à l'idée que seul l'arrêt de la grossesse avec délivrance du placenta aboutit au traitement curatif. Il n'est donc pas question de faire courir un risque vital fœtal mais encore moins maternel aux patientes. L'objectif est donc de gagner le temps nécessaire pour augmenter les chances fœtales sans faire de prendre de risques maternels. Les facteurs qui sont modulateurs de ce pronostic sont le terme (30) , la corticothérapie prénatale (31), et le poids fœtal (32) . Il est bien acquis qu'une prééclampsie met en jeu le pronostic fœtal et maternel justifiant l'arrêt de la grossesse au moins à partir de 34 SA (1, 33). Toutefois, plus le terme est précoce plus l'expectative devient bénéfique pour le fœtus sous réserve d'une extrême surveillance et d'une corticothérapie qui n'est pas contre-indiquée chez la femme pré-éclampsique au contraire et dont les bénéfices sont clairement démontrés (34) : En effet avant 34 SA, la corticothérapie divise par deux le risque de maladie des membranes hyalines [(RR= 0.53 (95% CI : 0.35-0. 82)] ainsi que la mortalité néonatale [RR=0.5 (95% CI : 0.28-0.89)]. Les bénéfices sur la morbidité néonatale concernent également le risque d'hémorragie intra-ventriculaire [RR=0.35 (95% CI : 0.15-0.86)] et l'infection périnatale [RR = 0.39 (95% CI 0.39-0.97)]. Le traitement conservateur permet de gagner en moyenne 7 à 15 jours sur le terme et de faire bénéficier du traitement corticoïde sans augmenter les complications maternelles (35, 36). D'autres auteurs ont confirmé cette possibilité conservatrice temporaire même sur les prééclampsies sévères (critères ACOG 2002) moyennant une surveillance accrue et rigoureuse (37). Le tableau II rappelle ces critères de prééclampsie sévère.

Sulfate de Magnésium : Il s'agit d'une molécule largement répandue dans les pays anglosaxons et utilisée avec beaucoup plus de parcimonie en France. Sa place initialement revendiquée dans la tocolyse (38) est en fait très contestée dans cette indication car n'a pas fait vraiment fait la preuve de sa supériorité (39). Son indication reste essentiellement la prééclampsie sévère en prévention de l'éclampsie et surtout en prévention de la récurrence de la crise d'éclampsie (40; 41). Son caractère protecteur neurologique (42, 43) semble alors dans cette indication particulièrement intéressant jusqu'à avoir été préconisée comme anticonvulsivant idéal (44). Sans aller jusqu'au sulfate de magnésium systématique qui n'a probablement pas d'intérêt majeur dans les prééclampsies modérées (45), cette molécule réduit significativement le risque de récurrences d'éclampsie (RR 0.41 ; IC 95 %,

0.32-0.51) ainsi que la mortalité maternelle (RR 0.62; IC 95 %, 0.39-0.99) par rapport aux autres anticonvulsivants (46). La comparaison avec la phénytoïne est en faveur du sulfate de magnésium en ce qui concerne la prévention de l'éclampsie (47).

Il faut également noter l'existence d'effets secondaires du sulfate de magnésium le plus souvent mineurs, essentiellement à type de nausées et flushs, ainsi que certains effets secondaires majeurs plus rares comme la détresse respiratoire, et l'hémorragie de la délivrance. (48, 49). Une toxicité grave est cependant possible, même si exceptionnelle, moyennant une surveillance adaptée des patientes. Néanmoins, des accidents rares sévères avec morts maternelles par surdosage ont été rapportés (50) justifiant des recommandations rigoureuses dans la surveillance. Toutefois, le travail remarquable multicentrique (33 pays) sur plus de 10 000 patientes avec randomisation contre placebo fait par le groupe du « Magpie trial » permet de confirmer l'intérêt du Sulfate de Magnésium chez les femmes prééclampsiques en diminuant également le risque d'HRP de près d'un tiers (RR 0.67, 99% CI 0.45–0.89) et sa sécurité d'emploi (40). De plus, cette molécule qui réduit le risque d'éclampsie chez les femmes prééclampsiques n'augmente pas la morbi-mortalité maternelle avec un recul de 2 ans (51). Le sulfate de magnésium est donc un traitement qui doit rester dans la panoplie thérapeutique obstétricale, probablement sous utilisée en France, mais qui doit être réservée aux formes sévères (52) et précoces de prééclampsie (Tableau II) pour gagner le temps de la corticothérapie. En effet pour les femmes présentant des signes d'éclampsie imminente, le nombre de patientes à traiter pour éviter 1 cas d'éclampsie était de l'ordre de 36 (53) à 71 (41) et est aussi formellement indiqué chez les femmes prééclampsiques ayant déjà convulsé (46). Une revue de synthèse sur le Sulfate de Magnésium permet de faire le point sur cette molécule et le schéma de prescription recommandé ne retrouve pas de consensus dans les essais randomisés publiés sur le moment optimal pour débiter le sulfate de magnésium, la dose (de charge et d'entretien), la voie d'administration (I.M. ou I.V.), ou la durée de traitement (53). Cependant dans les essais ayant utilisé la voie I.V., la dose d'attaque a varié de 4 à 6 g sur 20 à 30 minutes, et la dose d'entretien a varié de 1 à 2/heure. Il y a eu significativement plus d'effets secondaires avec la voie I.M. (28 % vs 5 %). En cas de césarienne, la perfusion était débutée au moins 1 heure avant l'intervention et poursuivie pendant la césarienne (53).

Le remplissage vasculaire

Le principe du remplissage vasculaire est lié à l'hypovolémie relative et à la fréquence des oliguries dans les prééclampsies. Le Ringer lactate® est le plus utilisé. Il peut être utilisé seul ou associé aux anticalciqes. Il faut cependant rester prudent car le risque spontané ou iatrogène avec passage en œdème pulmonaire est loin d'être exceptionnel et nécessite un contrôle étroit des apports et de la diurèse (54, 55; 56). Le remplissage n'est probablement pas autant bénéfique pour toutes les prééclampsies en particulier peu sévères mais pourrait permettre avec prudence de limiter les effets secondaires des traitements antihypertenseurs (57). La question du remplissage réservé aux prééclampsies sévères semblait pertinente. En effet, une étude plus récente compare le traitement conservateur avec traitement antihypertenseur et dont la randomisation porte sur le remplissage vasculaire systématique associé (250ml HES 6% IV sur 4heures et 2 fois par jour avec un garde veine de Nacl 9‰ entre les perfusions). L'effectif porte sur 216 prééclampsies sévères entre 24 et 34 SA avec Hellp syndrome et/ou retard de croissance intra utérin. Les résultats permettent de conclure que ce remplissage systématique ne modifie ni la mortalité périnatale, ni la mortalité ou la morbidité néonatale. De plus, la grossesse n'est pas prolongée par l'expansion volémique. On retrouve également une augmentation du nombre de césariennes (58). Il ne paraît ainsi pas raisonnable de préconiser un remplissage systématique des prééclampsies même sévères. Les études sur l'efficacité de l'albumine sont pauvres et ne permettent pas la production de recommandations sur cette molécule. Il faudrait pouvoir repérer plus précisément le profil des patientes dont le remplissage serait bénéfique et quelle classe de produits recommander. Quoiqu'il en soit le contrôle de la diurèse permet de mieux cibler les patientes nécessitant une charge volémique prudente.

HELLP SYNDROME

Il s'agit d'un syndrome défini par l'association : *Hemolysis, Elevated Liver Enzymes and Low Platelets* dans un contexte de prééclampsie. Ce syndrome, considéré comme grave, doit faire prendre des décisions obstétricales souvent urgentes, en général vers l'extraction fœtale. Sa fréquence dans les prééclampsies sévères est variable et varie selon les études de 4 à 27% (7). Il fait cependant l'objet d'une certaine controverse quant à l'urgence de la naissance dans les très grandes prématurités. Les séries publiées sur le traitement conservateur sont essentiellement représentées par Visser et Wallenburg et sont déjà anciennes (59). Les patientes incluses (n=256) avec et sans HELLP syndrome bénéficiaient d'une prise en charge très interventionniste et parfois invasive avec expansion volémique, monitoring sanglant pour évaluer les pressions centrales et large traitement médical antihypertenseur. Les

auteurs étaient optimistes en raison de la «disparition» du HELLP syndrome dans 43% des cas. Néanmoins la mortalité périnatale était tout de même de 14% dans les deux bras mais on ne notait aucune complication maternelle grave remettant ainsi en question le dogme d'arrêt immédiat de grossesse en cas de HELLP syndrome. Cette même équipe confirmait l'amélioration du pronostic respiratoire néonatal en temporisant sur le terme d'extraction (60). Il faut cependant rester très prudent car, dans une série de 442 HELLP syndrome, la morbi-mortalité reste très forte avec une mortalité maternelle de 1.1% (soit 5 patientes décédées !...), 21% de CIVD, 16% d'HRP, 7,7 % d'insuffisance rénale, 6% d'œdème pulmonaire et 0.9% d'hématome sous capsulaire du foie. Les accidents pouvant d'ailleurs encore arriver dans le post partum (61).

Les études plus récentes en France ou aux états unis sont plutôt rassurantes sur la mortalité périnatale avec traitement conservateur dans les prééclampsies graves y compris avec Hellp syndrome entre 24 et 33 SA (7, 62)

Traitement préventif

ASPIRINE

L'altération de l'endothélium aboutit à un relargage de substances vasoactives et à une activation plaquettaire. Cette situation perturbe l'équilibre prostaglandines/prostacyclines avec une classique inversion du rapport prostacycline (vasodilatatrice)/thromboxane A2 (vasoconstricteur). Lors d'une grossesse physiologique, la synthèse de prostacycline permet l'équilibre et la baisse des résistances vasculaires. Lors des prééclampsies, une augmentation de la sensibilité à l'angiotensine II avec un effet prépondérant du thromboxane par rapport à la prostacycline favorise les thromboses et les infarctus placentaires. La conséquence étant une moindre sensibilité aux régulations neuro-hormonales des messagers. Un traitement préventif pour être efficace passe par une administration précoce au cours de la grossesse pour avoir une action à la fois anti-thrombogène et agir sur un plan plus général par le rétablissement de la balance prostacycline/thromboxane en faveur de la prostacycline. C'est le mode d'action recherché par l'aspirine à faibles doses. Aucun traitement préventif n'a été mieux évalué que l'aspirine pour tenter de prévenir l'apparition d'une prééclampsie. La prééclampsie est associée à un défaut de remodelage vasculaire utérin et notamment à un défaut d'invasion trophoblastique. Les processus impliqués dans le remodelage vasculaire utérin débutent dès le premier trimestre de la grossesse. Le chapitre précédent en détaille le mécanisme physiopathologique..

Les premiers essais randomisés remontent à 1985 et sont français (63). L'effet bénéfique de l'association aspirine-dipyridamole chez les femmes enceintes à haut risque de prééclampsie lance le débat international. Les années qui suivent voient défiler une succession d'articles en faveur de l'efficacité de l'aspirine (64, 65, 66, 67). Ensuite, vint l'essai EPREDA (68) qui tend à **montrer** que l'efficacité suggérée est d'autant plus réelle que la patiente présente des antécédents obstétricaux vasculaires. Ensuite, est apparue la période de doutes voire de dénigrement de l'aspirine. L'essai CLASP (69) ne permettait pas d'affirmer que l'aspirine produisait une réduction significative des accidents gravidiques vasculaires et met un coup d'arrêt aux espoirs préventifs de l'aspirine qui tendait à être prescrit dans des indications de plus en plus élargies. Cet essai avait cependant l'avantage de montrer une relative sécurité du médicament sur l'absence de complications materno-fœtales hémorragiques. L'essai CLASP pouvait comporter un certain nombre de réserves par son hétérogénéité quant aux critères d'inclusions (groupes non homogènes de primigestes et multigestes, inclusions à des termes tardifs au troisième trimestre alors même qu'un traitement préventif est illusoire...). L'essai était multicentrique avec randomisation de 9634 femmes recevant soit de l'aspirine mais à faibles doses probablement insuffisantes à 60 mg/j (n = 4 683) soit un placebo (n = 4 681). Ces femmes étaient incluses soit en prévention de la prééclampsie (74 %) soit en prévention d'un retard de croissance intra-utérin (12 %), soit encore en traitement de la prééclampsie (12 %) ou d'un retard de croissance intra-utérin (3 %) entre 12 et 32 SA ; 28 % étaient également des primipares sans aucun antécédent. L'utilisation de l'aspirine n'a finalement été associée qu'à une réduction de 12 % seulement de l'incidence de la prééclampsie, ce qui n'était pas significatif. Il existait pourtant une diminution significative du risque d'apparition d'une prééclampsie sévère et précoce chez les patientes sous aspirine par rapport au placebo.

Un certain nombre de publications ensuite sont venues semer le doute de l'intérêt de ce traitement même dans les situations d'antécédents obstétricaux, voire même en suggérant l'augmentation des complications (70, 71, 72). En 1999, les essais Erasme dans le Nord de la France et en Seine st Denis ne viennent que confirmer l'absence d'intérêt de l'aspirine en prescription systématique chez les primipares et retrouvent même une tendance (mais non statistiquement significative) à l'augmentation des complications hémorragiques (73) qui peut ainsi justifier la prudence et la recherche ciblée des bonnes indications. La Publication

de la Cochrane Review en 2000 détaille une méta-analyse de 39 essais publiés sur plus de 30 000 patientes (74, 75). Les auteurs concluent alors à une efficacité modérée mais significative de l'aspirine, pour réduire le risque de récurrence de la pré-éclampsie de 15% (RR= 0.85, [95% IC :0.78-0.92]), la prématurité de 8% (RR= 0.92, [95%IC :0.88- 0.97]) et la mortalité périnatale de 14% (RR=0.86, [95%IC 0. 75- 0.98]). Il n'y aurait par ailleurs pas d'action préventive de l'aspirine sur les RCIU. Ces mêmes auteurs confirment l'ordre de grandeur de ces chiffres par la métaanalyse de 2006 concernant 36500 femmes (76) avec un bénéfice de 19% (RR 0.81, [95% IC ; 0.75 - 0.88]) sur le risque de prééclampsie, de 7% sur le risque de prématurité (RR 0.93, [95% CI ; 0.89 - 0.98]) et 16% de réduction sur la mortalité périnatale (RR 0.84, [95% CI ;0.74 - 0.96]). Une mise à jour récente par l'équipe de Duley (77) portant sur une métaanalyse avec 32217 patientes et 32819 nouveaux nés issus de 31 essais randomisés avec analyse individuelle des données et en excluant les essais de méthodologie insuffisante, retrouve une diminution significative de 10% de risque de développer une prééclampsie [RR 0.90 (95% CI 0.84–0.97)]. L'action préventive sur les sous groupes (greffées rénales, hypertension chronique, hypotrophies....) n'est pas significative. Jusqu'à preuve du contraire, ces chiffres peuvent être considérés comme raisonnables et cohérents confirmant une efficacité réelle mais modérée de ce produit sur la prévention de la récurrence de prééclampsie. De plus, il n'est pas totalement exclu (ni d'ailleurs démontré) qu'un petit sur-risque hémorragique (et /ou d'hématome rétro-placentaire) existe (73, 61) justifiant la non prescription systématique de l'aspirine chez toutes les primipares et chez les femmes à bas risque de prééclampsie (balances bénéfices-risques). Des travaux randomisés à forte puissance manquent pour les situations intermédiaires telles que les diabètes, les greffées rénales, les thrombophilies...

Autres traitements préventifs

CALCIUM

L'origine de cette question tient au fait que les patientes prééclamptiques ont une calciurie et une calcémie basse (78) et que la supplémentation en calcium pourrait tendre à diminuer la pression artérielle chez les sujets jeunes (79). Le calcium est un messager bien connu dans la physiopathologie de la contraction musculaire et des essais randomisés ont cherché à évaluer le bien fondé de ce traitement peu onéreux et bien supporté en prévention de la prééclampsie dont les résultats sont cependant contradictoires. En effet, aucun effet favorable ne semblait appuyer la recommandation du calcium en prévention de la prééclampsie (80). Néanmoins, si l'efficacité n'est pas spectaculaire, une tendance vers une sévérité moindre des complications maternelles et une baisse de la mortalité néonatale est suggérée par une méta-analyse récente (12 essais) avec des doses de Ca^{++} d'au moins 1 g/j (81, 82). Les risques d'hypertension sévère seraient diminués de 30% par rapport au placebo (RR 0.70, [95% CI ; 0.5- 0.86]) et d'environ la moitié sur le risque de prééclampsie (RR 0.48, [95% CI 0.33 - 0.69]) mais chez des femmes ayant une alimentation pauvre en calcium. Aucune action bénéfique significative n'est retrouvée sur le risque de prématurité (RR 0.81, [95% CI 0.64 to 1.03]). Il est donc probable qu'une enquête alimentaire soit justifiée pour éviter les risques de lithiases chez les femmes à risques et bénéficiant déjà d'une alimentation riche en calcium. Par contre chez les femmes aux conditions socioéconomiques défavorisées, avec un régime pauvre en calcium et n'ayant jamais eu de coliques néphrétiques, la supplémentation en calcium semble être réellement bénéfique et à faible risque.

ANTIOXYDANTS

Le stress oxydatif est une des voies potentielles étiologiques (cf chapitre précédent physiopathologie) de la prééclampsie par l'existence de lésions mitochondriales et la production de radicaux libres et de lipides oxydés dans la circulation maternelle (83). On observe ainsi chez les femmes pré-éclamptiques une diminution des taux sériques des apolipoprotéines A et du HDL cholestérol, et des vitamines antioxydantes (84). En effet, le rôle des vitamines C et E sont souvent citées comme pouvant avoir un rôle protecteur et certaines études (mais avec des puissances assez faibles) auraient montré un bénéfice de ces vitamines par rapport au placebo sur la prévention de la prééclampsie (OR 0.39 [95% CI 0.17-0.90] (85). D'autres essais multicentriques récents ne confirment cependant pas ces bénéfices (86, 87). Dans le premier cas l'étude randomisée en double aveugle chez des nullipares (1877 femmes) entre 14 et 22 SA avec deux bras (1g vit C + 400 UI Vit E versus placebo jusqu'à l'accouchement) ne montre aucune différence ni sur le risque de prééclampsie (RR 1.20; [95 %CI, 0.82 - 1.75]) ni sur la mortalité périnatale (86) (RR 0.79; [95%CI, 0.61 - 1.02]). Dans le deuxième essai (86), 2410 femmes sont incluses dans un essai multicentrique randomisé contre placebo (même doses) et aucun effet préventif sur la survenue de prééclampsie n'est ici retrouvé (RR 0.97 [95% CI 0.80-1.17]). Deux essais randomisés

récents sur des populations respectivement à haut et à bas risque ont comparé les vitamines C/E au placebo et n'ont pas montré de différence sur l'incidence de la prééclampsie et pourraient même avoir des effets délétères sur la morbidité péri et néonatale (88). De plus, une revue récente confirme l'absence d'intérêt des suppléments par des dérivés des huiles de poissons ou des précurseurs des prostaglandines (oméga3) dans le but unique de réduire l'incidence de la pré-éclampsie (89). En l'état actuel des connaissances, la prescription systématique de vit C ou E chez les femmes enceintes n'est pas justifiée uniquement dans le but de diminuer le risque de pré éclampsie.

LES HÉPARINES DE BAS POIDS MOLÉCULAIRE (HBPM)

On voit de plus en plus apparaître des prescriptions d'HBPM chez les patientes ayant eu une prééclampsie ou chez des femmes ayant une thrombophilie héréditaire ou acquise appuyée par l'observation histologique de lésions thrombotiques et ischémiques placentaires et par l'effet favorable dans les syndromes antiphospholipides (90). Certains auteurs avancent que les HBPM pourraient réduire le risque de complications maternelles et périnatales (91) et pourraient diminuer le risque de récurrence chez les femmes à risque de prééclampsie (92). Il faut cependant être prudent car cette étude comporte un effectif restreint (80 patientes) et l'effet favorable n'a pas été confirmé par d'autres essais à plus grande échelle. L'utilisation des HBPM (non dénué d'incidents même rares) chez les patientes aux antécédents de prééclampsie n'est pas actuellement justifiée en prévention avec un niveau de preuve suffisant. Des essais randomisés doivent être réalisés pour affiner le niveau de preuve.

Conclusion :

La connaissance de la physiopathologie avance doucement et devrait pouvoir permettre de développer des axes nouveaux de recherche sur la prééclampsie. Il est néanmoins possible que les efforts portent plus sur le dépistage et la prévention que sur la thérapeutique qui demeure globalement le choix optimal du moment de l'arrêt de la grossesse. La consultation préconceptionnelle, le travail des réseaux, la formation continue des médecins généralistes, des anesthésistes et des gynécologues obstétriciens restent la clé de voûte d'une optimisation de cette prise en charge de ces grossesses hautement pathologiques. Le gain de quelques jours avec une bonne prise en charge pluridisciplinaire permet d'améliorer le pronostic des formes très sévères et très prématurées. Le sulfate de magnésium est probablement sous utilisé en France, et doit être utilisé de façon formelle chez les patientes ayant fait une éclampsie pour limiter la récurrence et probablement aussi dans les prééclampsies sévères et précoces.

Références

- 1-T. Pottecher et al, Réanimation des formes graves de pré-éclampsie : Conférence d'experts, Société Française d'Anesthésie et de Réanimation, Société Française de Médecine Périnatale, Société Française de Pédiatrie , Collège National des Gynécologues Obstétriciens Français; J Gynecol Obstet Biol Reprod . 2001;30:121-32.
- 2-Espinoza J, Romero R, Nien JK, Gomez R, Kusanovic JP, Goncalves LF, et al ; Identification of patients at risk for early onset and/or severe preeclampsia with the use of uterine artery Doppler velocimetry and placental growth factor. Am J Obstet Gynecol. 2007 ;196:326.e1-13 .
- 3- MacKay AP, Berg CJ, Atrash HK. Pregnancy-related mortality from preeclampsia and eclampsia. Obstet Gynecol. 2001 ; 97:533-8
- 4-Rochat RW, Koonin LM, Atrash HK, Jewett JF. The maternal mortality collaborative . Maternal mortality in the US: Report from the the maternal Collaborative. Obstet Gynecol 1988; 72: 91-7
- 5- Preeclampsia foundation : www.preeclampsia.org
- 6-Sibai BM, Ramadan MK, Usta I, Salama M, Mercer BM, Friedman SA. Maternal morbidity and mortality in 442 pregnancies with hemolysis, elevated liver enzymes, and low platelets (HELLP syndrome); Am J Obstet Gynecol. 1993 ;169:1000-6.
- 7- Sibai BM, Barton JR Expectant management of severe preeclampsia remote from term: patient selection, treatment, and delivery indications. Am J Obstet Gynecol. 2007 ;196:514.e19.
- 8- Meher S, Duley L. Rest during pregnancy for preventing pre-eclampsia and its complications in women with normal blood pressure. Cochrane Database Syst Rev. 2006 19;:CD005939
- 9-Khedun SM, Moodley J, Naicker T, Maharaj B Drug management of hypertensive disorders of pregnancy. Pharmacol Ther. 1997;74:221-58
- 10-Haddad B , M Beaufils, F Bavoux; Prise en charge de la prééclampsie, EMC (elsevier SAS Paris), Gynecologie-Obstétrique, 2006, 5-036-A20
- 11-Duley L, Henderson-Smart DJ, Knight M, King JF. Antiplatelet agents for preventing pre-eclampsia and its complications. Cochrane Database Syst Rev. 2004;CD004659
- 12-Desvaux D, Haddad B. Prevention de la prééclampsie , Presse Med. 2003 ;32:1559-65
- 13-National high blood pressure education program working group on high blood pressure in pregnancy Report Am J Obstet Gynecol 2000, 183, Suppl: S1-S22
- 14- Helewa M, Heaman M, Robinson MA, Thompson L. Community-based home-care program for the management of pre-eclampsia: an alternative; CMAJ. 1993 ;149:829-34
- 15-Levin AC, Doering PL, Hatton RC; Use of nifedipine in the hypertensive diseases of pregnancy. Ann Pharmacother. 1994 ;28:1371-8
- 16-Brown MA, Buddle ML, Farrell T, Davis GK. Efficacy and safety of nifedipine tablets for the acute treatment of severe hypertension in pregnancy, Am J Obstet Gynecol 2002;187:1046-50.
- 17-Von Dadelszen P, Ornstein MP, Bull SB, Logan AG, Koren G, Magee LA. Fall in mean arterial pressure and fetal growth restriction in pregnancy hypertension: a meta-analysis Lancet. 2000 ;355:87-92.
- 18-Nayler WG, Poole-Wilson P. Calcium antagonists: definition and mode of action. Basic Res Cardiol 1981;76:1–15.
- 19-Impey L. Severe hypotension and fetal distress following sublingual administration of nifedipine to a patient with severe pregnancy induced hypertension at 33 weeks. Br J Obstet Gynaecol. 1993 ;100: 959-61.

- 20-Waterman EJ, Magee LA, Lim KI, Skoll A, Rurak D, von Dadelszen P. Do commonly used oral antihypertensives alter fetal or neonatal heart rate characteristics? A systematic review. *Hypertens Pregnancy*. 2004;23:155-69
- 21-Jegasothy R, Paranthaman S. Sublingual nifedipine compared with intravenous hydralazine in the acute treatment of severe hypertension in pregnancy: potential for use in rural practice. *J Obstet Gynaecol Res*. 1996 ;22:21-4.
- 22-Smith P, Anthony J, Johanson R. Nifedipine in pregnancy. *Br J Obstet Gynaecol* 2000;107:299-307
- 23-Carbonne B, Jannet D, Touboul C, Khelifati Y, Milliez J. Nicardipine treatment of hypertension during pregnancy. *Obstet Gynecol*. 1993 ;81:908-14.
- 24-Hanff LM, Vulto AG, Bartels PA, Roofthoof DW, Bijvank BN, Steegers EA, Visser W. Intravenous use of the calcium-channel blocker nicardipine as second-line treatment in severe, early-onset pre-eclamptic patients. *J Hypertens*. 2005 ;23:2319-26
- 25-Aya AG, Mangin R, Hoffet M, Eledjam JJ. Intravenous nicardipine for severe hypertension in pre-eclampsia--effects of an acute treatment on mother and foetus. *Intensive Care Med*.;1999;25:1277-81
- 26-Vermillion ST, Scardo JA, Newman RB, Chauhan SP. A randomized, double-blind trial of oral nifedipine and intravenous labetalol in hypertensive emergencies of pregnancy. *Am J Obstet Gynecol*. 1999;181:858-61.
- 27-Saotome T, Minoura S, Terashi K, Sato T, Echizen H, Ishizaki T. Labetalol in hypertension during the third trimester of pregnancy: its antihypertensive effect and pharmacokinetic-dynamic analysis. *J Clin Pharmacol*. 1993 ;33:979-88
- 28-Belfort MA, Anthony J, Saade GR, Allen JC, for the Nimodipine Study Group. A comparison of magnesium sulfate and nimodipine for the prevention of eclampsia. *N Engl J Med* 2003;348:304-311.
- 29-Duley L, Henderson-Smart DJ, Meher S. Drugs for treatment of very high blood pressure during pregnancy. *Cochrane Database of Systematic Reviews* 2006, Issue 3. , CD001449.
- 30-Friedman SA, Schiff E, Kao L, Sibai BM.; Neonatal outcome after preterm delivery for preeclampsia., *Am J Obstet Gynecol*. 1995 ;172:1785-92.
- 31-Crowley PA. ; Antenatal corticosteroid therapy: a meta-analysis of the randomized trials, 1972 to 1994. *Am J Obstet Gynecol*. 1995 ;173:322-35
- 32-Bernstein IM, Horbar JD, Badger GJ, Ohlsson A, Golan A. ; Morbidity and mortality among very-low-birth-weight neonates with intrauterine growth restriction. The Vermont Oxford Network. *Am J Obstet Gynecol*. 2000 ;182:198-206.
- 33-Sibai BM. Preeclampsia as a cause of preterm and late preterm (near-term) births. *Semin Perinatol*. 2006 ;30:16-9.
- 34-Amorim MM, Santos LC, Faundes A. Corticosteroid therapy for prevention of respiratory distress syndrome in severe preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol*. 1999 ;180:1283-8.
- 35-Odendaal HJ, Pattinson RC, Bam R, Grove D, Kotze TJ. Aggressive or expectant management for patients with severe preeclampsia between 28-34 weeks' gestation: a randomized controlled trial. *Obstet Gynecol*. 1990 ;76:1070-5.
- 36-Sibai BM, Mercer BM, Schiff E, Friedman SA. : Aggressive versus expectant management of severe preeclampsia at 28 to 32 weeks' gestation: a randomized controlled trial. *Am J Obstet Gynecol*. 1994 ;171:818-22.
- 37-Schiff E, Friedman SA, Sibai BM. Conservative management of severe preeclampsia remote from term. *Obstet Gynecol*. 1994 ;84:626-30.
- 38-Terrone DA, Rinehart BK, Kimmel ES, May WL, Larmon JE, Morrison JC A prospective, randomized, controlled trial of high and low maintenance doses of magnesium sulfate for acute tocolysis. *Am J Obstet Gynecol*. 2000 ;182:1477-82.
- 39-Grimes DA, Nanda K , Magnesium sulfate tocolysis: time to quit. *Obstet Gynecol*. 2006;108:986-9.

- 40-Altman D, Carroli G, Duley L, Farrell B, Moodley J, Neilson J, Smith D; Magpie Trial Collaboration Group. Do women with pre-eclampsia, and their babies, benefit from magnesium sulphate? The Magpie Trial: a randomised placebo-controlled trial. *Lancet*. 2002 ;359:1877-90.
- 41-Sibai BM, Diagnosis, Prevention, and Management of Eclampsia; *Obstet Gynecol* 2005;105:402–10.
- 42-Chan MT, Boet R, Ng SC, Poon WS, Gin T. Magnesium sulfate for brain protection during temporary cerebral artery occlusion. *Acta Neurochir Suppl*. 2005;95:107-11.
- 43-Sameshima H, Ota A, Ikenoue T. Pretreatment with magnesium sulfate protects against hypoxic-ischemic brain injury but postasphyxial treatment worsens brain damage in seven-day-old rats. *Am J Obstet Gynecol*. 1999 ;180:725-30.
- 44-Sibai BM. Magnesium sulfate is the ideal anticonvulsant in preeclampsia-eclampsia. *Am J Obstet Gynecol* 1990;162:1141-1145.
- 45-Villar J, Abalos E, Nardin JM, Merialdi M, Carroli G; Strategies to prevent and treat preeclampsia: evidence from randomized controlled trials.. *Semin Nephrol*. 2004 ;24:607-15.
- 46-The Eclampsia Collaborative Group. Which anticonvulsant for women with eclampsia? Evidence from the Collaborative Eclampsia Trial. *Lancet* 1995;345:1455-63.
- 47-Lucas MJ, LeVeno KJ, Cunningham FG. A comparison of magnesium sulfate with phenytoin for the prevention of eclampsia. *N Engl J Med* 1995;333:201-205.
- 48-Witlin AG, Friedman SA, Sibai BM. The effect of magnesium sulfate therapy on the duration of labor in women with mild preeclampsia at term: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Am J Obstet Gynecol* 1997;176:623-627
- 49-Belfort MA, Tooke-Miller C, Allen JC Jr, Dizon-Townson D, Varner MA. Labetalol decreases cerebral perfusion pressure without negatively affecting cerebral blood flow in hypertensive gravidas. *Hypertens Pregnancy*. 2002;21:185-97.
- 50-Richards A, Stather-Dunn L, Moodley J. Cardio-pulmonary arrest after the administration of magnesium sulfate. *S Afr Med J* 1985;67:145.
- 51-The Magpie Trial: a randomised trial comparing magnesium sulphate with placebo for pre-eclampsia. Outcome for women at 2 years. Magpie Trial Follow-Up Study Collaborative Group. *BJOG*. 2007 ;114:300-9.
- 52-ACOG practice bulletin. Diagnosis and management of preeclampsia and eclampsia. *Obstet Gynecol* 2002; 99: 159-67.
- 53-Rozenberg P. Interêt du sulfate de magnesium dans la prise en charge de la prééclampsie ;*Gynecol Obstet Fertil*. 2006;34:54-9.
- 54-Benedetti TJ, Kates R, Williams V; Hemodynamic observations in severe preeclampsia complicated by pulmonary edema. *Am J Obstet Gynecol*. 1985 ;152:330-4.
- 55-Belfort MA, Anthony J, Kirshon B. Respiratory function in severe gestational proteinuric hypertension: the effects of rapid volume expansion and subsequent vasodilatation with verapamil. *Br J Obstet Gynaecol*. 1991; 98:964-72.
- 56-Hupuczi P, Sziller I, Hruby E, Rigo B, Szabo G, Papp Z. The rate of maternal complications in 107 pregnancies complicated with HELLP syndrome; *Orv Hetil*. 2006 ;147:1377-85.
- 57-Kirshon B, Moise KJ Jr, Cotton DB, Longmire S, Jones M, Tessem J, Joyce TA 3rd. Role of volume expansion in severe pre-eclampsia; *Surg Gynecol Obstet*. 1988 ;167:367-71.

- 58-Ganzevoort W, Rep A, Bonsel GJ, Fetter WP, van Sonderen L, De Vries JI, Wolf H; PETRA investigators. A randomised controlled trial comparing two temporising management strategies, one with and one without plasma volume expansion, for severe and early onset pre-eclampsia. *BJOG*. 2005;112:1358-68.
- 59-Visser W, Wallenburg HC. Temporising management of severe pre-eclampsia with and without the HELLP syndrome. *Br J Obstet Gynaecol*. 1995 ;102:111-7.
- 60-Withagen MI, Wallenburg HC, Steegers EA, Hop WC, Visser W. Morbidity and development in childhood of infants born after temporising treatment of early onset pre-eclampsia. *BJOG*. 2005 ;112:910-4.
- 61-Sibai BM, Caritis SN, Thom E, Klebanoff M, McNellis D, Rocco L, Paul RH, Romero R, Witter F, Rosen M, et al. Prevention of preeclampsia with low-dose aspirin in healthy, nulliparous pregnant women. The National Institute of Child Health and Human Development Network of Maternal-Fetal Medicine Units. *N Engl J Med*. 1993 ;329:1213-8.
- 62-Haddad B, Deis S, Goffinet F, Paniel BJ, Cabrol D, Siba BM. Maternal and perinatal outcomes during expectant management of 239 severe preeclamptic women between 24 and 33 weeks' gestation. *Am J Obstet Gynecol*. 2004 ;190:1590-5; discussion 1595-7.
- 63-Beaufils M, Uzan S, Donsimoni R, Colau JC. Prevention of pre-eclampsia by early antiplatelet therapy. *Lancet*. 1985 ;1:840-2
- 64-Wallenburg HC, Rotmans N. Prevention of recurrent idiopathic fetal growth retardation by low-dose aspirin and dipyridamole. *Am J Obstet Gynecol*. 1987; 157:1230-5.
- 65-Trudinger BJ, Cook CM, Thompson RS, Giles WB, Connelly A. Low-dose aspirin therapy improves fetal weight in umbilical placental insufficiency. *Am J Obstet Gynecol*. 1988; 159:681-5.
- 66-Benigni A, Gregorini G, Frusca T, Chiabrando C, Ballerini S, Valcamonico A, Orisio S, Piccinelli A, Pincioli V, Fanelli R, et al. Effect of low-dose aspirin on fetal and maternal generation of thromboxane by platelets in women at risk for pregnancy-induced hypertension. *N Engl J Med*. 1989; 321 :357-62.
- 67-Imperiale TF, Petrusis AS. A meta-analysis of low-dose aspirin for the prevention of pregnancy-induced hypertensive disease. *JAMA*. 1991; 266 :260-4.
- 68-Uzan S, Beaufils M, Breart G, Bazin B, Capitant C, Paris J. Prevention of fetal growth retardation with low-dose aspirin: findings of the EPREDA trial. *Lancet*. 1991 ;337:1427-31.
- 69-CLASP: a randomised trial of low-dose aspirin for the prevention and treatment of pre-eclampsia among 9364 pregnant women. CLASP (Collaborative Low-dose Aspirin Study in Pregnancy) Collaborative Group. *Lancet*. 1994 ;343:619-29.
- 70-Caritis S, Sibai B, Hauth J, Lindheimer MD, Klebanoff M, Thom E, VanDorsten P, Landon M, Paul R, Miodovnik M, Meis P, Thurnau G. Low-dose aspirin to prevent preeclampsia in women at high risk. National Institute of Child Health and Human Development Network of Maternal-Fetal Medicine Units. *N Engl J Med*. 1998 ;338:701-5.
- 71-Golding J. A randomised trial of low dose aspirin for primiparae in pregnancy. The Jamaica Low Dose Aspirin Study Group. *Br J Obstet Gynaecol*. 1998 ;105:293-9
- 72-Rotchell YE, Cruickshank JK, Gay MP, Griffiths J, Stewart A, Farrell B, Ayers S, Hennis A, Grant A, Duley L, Collins R. Barbados Low Dose Aspirin Study in Pregnancy (BLASP): a randomised trial for the prevention of pre-eclampsia and its complications. *Br J Obstet Gynaecol*. 1998;105:286-92.
- 73-Subtil D, Goeusse P, Puech F et al; Aspirin (100mg) used for prevention of preeclampsia in nulliparous women: The Essai Regional Aspirin Mere Enfant study (part 1) *Br J Obstet Gynaecol*. 2003 ; 110: 475-84.

- 74-Knight M, Duley L, Henderson-Smart D, King J. Antiplatelet agents for preventing and treating pre-eclampsia. In: Cochrane Collaboration: *Cochrane Library*. Issue 3. Oxford: Update Software, 2000.
- 75-Duley L, Henderson-Smart D, Knight M, King J; Antiplatelet drugs for prevention of preeclampsia and its consequences : Systematic review . Br Med J. 2001;322: 329-33.
- 76-L Duley, DJ Henderson-Smart, M Knight, JF King
Antiplatelet agents for preventing pre-eclampsia and its complications ; Cochrane Database of Systematic Reviews 2006 Issue
- 77- Askie LM, Duley L, Henderson-Smart DJ, Stewart LA; PARIS Collaborative Group Antiplatelet agents for prevention of pre-eclampsia: a meta-analysis of individual patient data. Lancet. 2007 ;369:1791-8.
- 78- Taufield PA, Ales KL, Resnick LM, Druzin ML, Gertner JM, Laragh JH. Hypocalciuria in preeclampsia N Engl J Med. 1987;316:715-8.
- 79-Belizan JM, Villar J, Pineda O, Gonzalez AE, Sainz E, Garrera G, Sibrian R. Reduction of blood pressure with calcium supplementation in young adults. JAMA. 1983 ;249:1161-5.
- 80-Levine RJ, Hauth JC, Curet LB, Sibai BM, Catalano PM, Morris CD, DerSimonian R, Esterlitz JR, Raymond EG, Bild DE, Clemens JD, Cutler JA. Trial of calcium to prevent preeclampsia N Engl J Med. 1997 ;337:69-76.
- 81-Villar J, Abdel-Aleem H, Merialdi M, Mathai M, Ali MM, Zavaleta N, et al ; World Health Organization Calcium Supplementation for the Prevention of Preeclampsia Trial Group. World Health Organization randomized trial of calcium supplementation among low calcium intake pregnant women. Am J Obstet Gynecol. 2006;194:639-49.
- 82-Hofmeyr GJ, Atallah AN, Duley L. Calcium supplementation during pregnancy for preventing hypertensive disorders and related problems Cochrane Database Syst Rev. 2006; 3:CD001059;.
- 83-Poston L, Chappell LC ; Is oxidative stress involved in the aetiology of pre-eclampsia?. Acta Paediatr Suppl. 2001 ;90:3-5.
- 84-Bayhan G, Kocyigit Y, Atamer A, Atamer Y, Akkus Z. Potential atherogenic roles of lipids, lipoprotein(a) and lipid peroxidation in preeclampsia; Gynecol Endocrinol. 2005 ;21:1-6
- 85-Chappell LC, Seed PT, Briley AL, Kelly FJ, Lee R, Hunt BJ, Parmar K, Bewley SJ, Shennan AH, Steer PJ, Poston L. Effect of antioxidants on the occurrence of pre-eclampsia in women at increased risk: a randomised trial. Lancet. 1999 ;354:810-6
- 86-Rumbold AR, Crowther CA, Haslam RR, Dekker GA, Robinson JS; ACTS Study Group. Vitamins C and E and the risks of preeclampsia and perinatal complications. N Engl J Med. 2006 ;354:1796-806.
- 87-Poston L, Briley AL, Seed PT, Kelly FJ, Shennan AH; Vitamins in Pre-eclampsia (VIP) Trial Consortium. Vitamin C and vitamin E in pregnant women at risk for pre-eclampsia (VIP trial): randomised placebo-controlled trial.; Lancet. 2006 ;367:1145-54.
- 88-Spinnato JA, New therapies in the prevention of preeclampsia Curr Opin Obstet Gynecol ; 2006 ,18 601-4
- 89-Makrides M, Duley L, Olsen SF ; Marine oil, and other prostaglandin precursor, supplementation for pregnancy uncomplicated by pre-eclampsia or intrauterine growth restriction.. Cochrane Database Syst Rev. 2006 ;3:CD003402
- 90-Petri M, Qazi U. Management of antiphospholipid syndrome in pregnancy. Rheum Dis Clin North Am. 2006;32:591-607.
- 91-Kupferminc MJ, Fait G, Many A et al. Low-molecular-weight heparin for the prevention of obstetric complications in women with thrombophilias. Hypertens Pregnancy 2001; 20: 35-44.

92-Mello G, Parretti E, Fatini C et al Low-molecular-weight heparin lowers the recurrence rate of preeclampsia and restores the physiological vascular changes in angiotensin-converting enzyme DD women. Hypertension. 2005 ;45:86-91

Tableau I : Recommandations (expectative ou délivrance) pour la prise en charge de la prééclampsie sévère avant 34 SA d'après Sibai et al 2007 [7]

Table I : Recommended treatment for patients with severe preeclampsia at <34 weeks of gestation (Sibai et al 2007 [7])

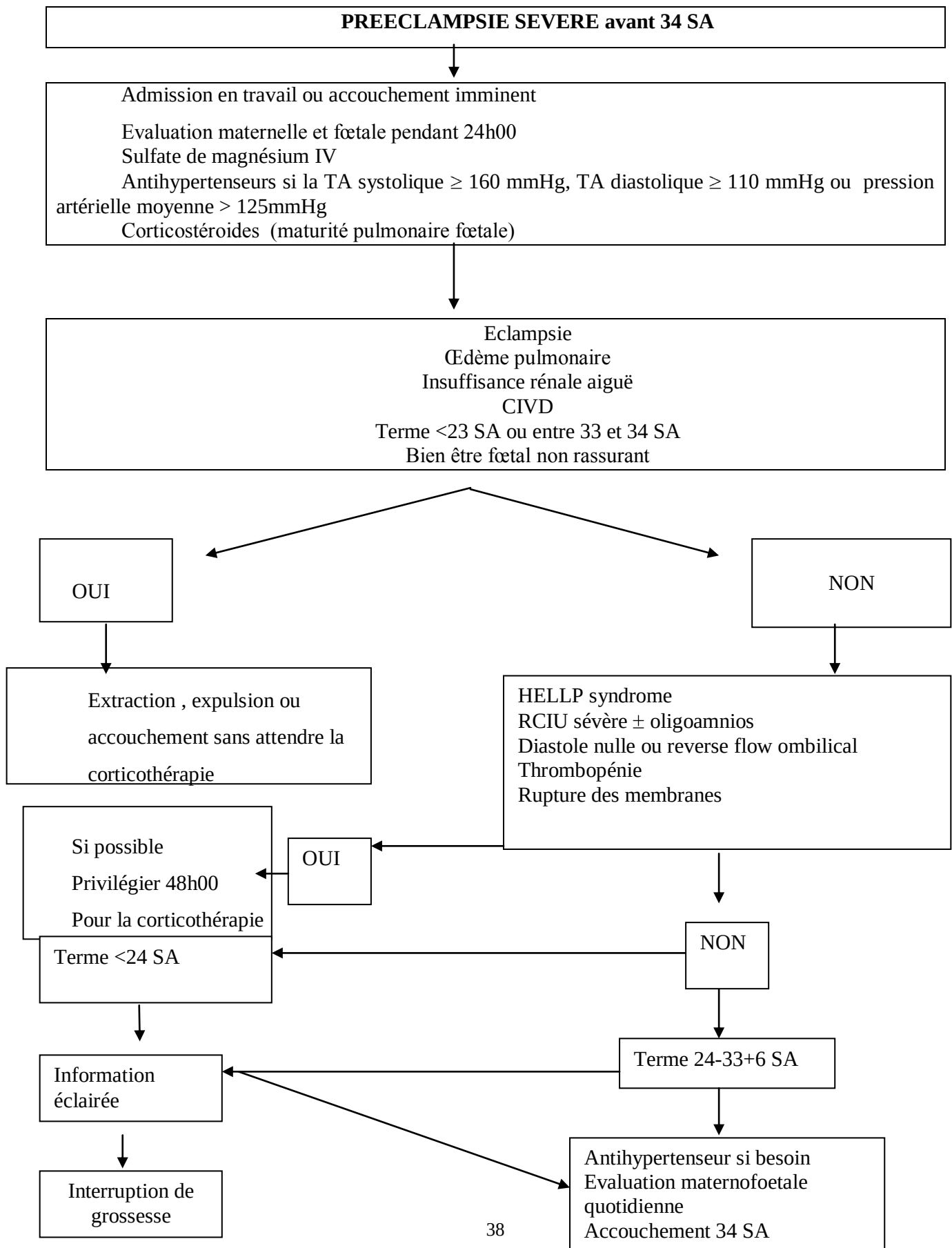


Tableau II : Critères de la prééclampsie sévère selon l' ACOG avec au moins un critère présent
(Obstet Gynecol 2002; 99: 159-67 [52])

Table II: Criteria for diagnosis of severe preeclampsia (ACOG Practice Bulletin No. 33)

Critères maternels et fœtaux :
• HTA sévère (160/110 mm Hg) à 2 reprises avec au moins 6 heures de délai au repos allongé • Céphalées, troubles visuels, barre épigastrique, réflexes vifs • Protéinurie/24h00 $\geq$ 5 g (3 croix d'albuminurie sur un recueil d'au moins 4h00) • oligurie < 500 ml/24h • Éclampsie, troubles visuels • OEdème aigu pulmonaire ou cyanose • Barre épigastrique, hématome rétroplacentaire, insuffisance hépatocellulaire • HELLP syndrome • Thrombopénie • Retard de croissance intra-utérin sévère • Oligoamnios sévère

4. Intérêt du doppler utérin dans la définition du type de retard de croissance intra-utérin

- Rappel sur la vélocimétrie doppler

Le bien-être fœtal peut et doit être apprécié par la vélocimétrie Doppler, technique d'investigation la mieux évaluée et la plus pertinente pour l'étude hémodynamique de la circulation fœto-placentaire, (25, 37). Elle est reproductible, non invasive, et de faible coût. Suivant les sites vasculaires explorés, elle fournit des informations à la fois étiologiques et pronostiques devant un retard de croissance intra-utérin ou une grossesse à risque de retard de croissance intra-utérin.

- Technique

L'exploration Doppler permet d'estimer les résistances vasculaires par l'étude des spectres de vélocité des flux sanguins. L'effet Doppler est défini par la différence entre la fréquence d'émission et de réception du faisceau ultra-sonore lorsqu'il est réfléchi par une ou des structures en mouvement, notamment les globules rouges. Cette variation de fréquence permet d'estimer la vitesse de déplacement des éléments (éléments figurés du sang). La répartition des vitesses est reportée sur l'écran sous la forme d'un spectre de vélocité, systolo-diastolique (S : Vitesse systolique maximale, D : vitesse diastolique minimale) pour une artère.

- Le site vasculaire artériel principalement étudié pour l'étiologie

Les artères utérines maternelles

L'analyse du signal Doppler s'effectue sur chaque artère utérine, au niveau de sa crosse ou de la partie initiale de son segment pariétal ascendant. Le spectre systolo-diastolique obtenu est normalement de type basse résistance, avec une composante diastolique élevée (figure 4) . En cas de pathologie liée à un défaut de perfusion placentaire par défaut de colonisation trophoblastique des artères myométriales et un défaut de remodelage par les cytotrophoblastes extravilloux , le spectre utérin s'altère, associant un flux télédiastolique trop faible et la persistance anormale d'une incisure proto-diastolique ou Notch correspondant physiologiquement à la persistance de la limitante élastique interne de type artériel aboutissant donc à une circulation à haute résistance (figure 4). L'index de résistance (IR) $[S-D/S]$ est considéré comme pathologique au-delà de 60 à 65 %. Un Doppler utérin pathologique permet de prédire à plus ou moins long terme un risque d'accident dysgravidique et ce dans une population à risque.

Pour une population à risque élevé de pré-éclampsie et de RCIU, le Doppler utérin est un bon test de dépistage avec assez peu de faux négatifs. Pour prédire l'hypotrophie, le Doppler utérin a une sensibilité de 60 à 70 %, une spécificité de 67 à 80 %, une valeur prédictive positive de 20 à 54 %, et une bonne valeur prédictive négative de 84 à 88 % (38, 39). Sa période optimale de réalisation se situe entre 22 et 26 semaines d'aménorrhée. Si un RCIU est

dépisté, le Doppler utérin oriente le bilan étiologique vers une probable origine vasculaire maternelle s'il est pathologique.

- Artéfact et erreurs

Le doppler utérin est un examen vélocimétrique obstétrical sensible aux pièges et artéfacts. La répétition des mesures, comme cela est réalisé dans notre étude, annule quasi totalement ce risque

- Paramètres modifiant le flux diastolique, donc l'index Doppler

- Le syndrome cave, qui peut être corrigé par un décubitus latéral même léger. Ce syndrome n'est pas obligatoirement perçu par la patiente et devant un index diastolique bas, l'opérateur doit systématiquement mobiliser la patiente. Si l'index est bas en raison d'un problème positionnel, il peut se normaliser.
- Les contractions utérines : même non perçues par la patiente, les contractions entraînent une diminution de la diastole, maximum à l'acmé de la contraction. La diastole va se normaliser progressivement avec la fin de la contraction, encore faut-il que l'enregistrement du doppler utérin ne soit pas interrompu avant la fin de la contraction et le retour à la normale de l'index utérin.
- La pression sur la paroi, souvent involontaire et inconsciente de la part de l'opérateur, peut entraîner une modification du spectre utérin. En cas de doppler utérin pathologique, la pression sur la sonde doit être diminuée.
- Le niveau de prélèvement du signal est essentiel : le spectre de l'artère utérine peut être différent suivant le niveau. Le signal doit être prélevé au niveau du pseudo-croisement avec l'artère iliaque externe (figure 5).

Pour sélectionner notre population, il nous semblait fondamental d'éviter un écueil que l'on retrouve dans l'analyse de la littérature et qui consiste à confondre tous les RCIU quelle qu'en soit la cause, en ne tenant compte que de la biométrie. En définissant le RCIU par un défaut d'apport nutritionnel ou plus schématiquement par défaut de vascularisation (insuffisance placentaire) on peut espérer cibler le RCIU qui pourrait bénéficier d'un apport exogène d'acide aminé. Le RCIU doit être dysharmonieux, et prépondérant sur le périmètre abdominal. La sévérité du RCIU nous a paru également nécessaire pour juger de l'utilité d'un traitement pour qu'un gain de poids fœtal soit utile au pronostic néonatal.

En effet, un gain de poids de quelques centaines de grammes au delà de 2Kg ou un gain de quelques jours sur le terme au delà de 34 SA comme celui observé dans l'étude de Xiao et al, qui améliore le poids du groupe traité (2900g) par rapport au groupe non traité (2700g) (40), nous paraissait d'un intérêt limité, mais encourageant pour des poids plus petits.

Le doppler utérin permet de discriminer la cause probable du RCIU par son caractère ischémique ou vasculaire comme dans le cas d'une prééclampsie (PE). En effet si le RCIU dit inexplicable est radicalement différent dans sa physiologie, et dans le pronostic, de nombreuses composantes physiopathologiques deviennent communes lorsque le doppler utérin est à haute résistance avec notch (9, 41).

Plusieurs auteurs ont cherché de plus à isoler précocément (1^{er} trimestre) des populations à risque vasculaire au cours de la grossesse, et ils ont confirmé que la présence de notchs bilatéraux avec résistance élevée augmente considérablement le risque de survenue de PE et de RCIU (42) allant jusqu'à un *odds ratio* respectivement de 22 et de 8 [PE : OR 21.99, 95% CI 6.55-73.79] et [RCIU : (OR 8.63, 95% CI 3.95-18.84]. (43). L'absence de traitement préventif ou thérapeutique limite cependant la portée médicale et obstétricale de cette évaluation.

5-Relations entre le le RCIU et le NO

Les bases scientifiques de l'utilisation de la L-Arginine dans des situations où la cible prépondérante est l'endothélium vasculaire tiennent aux relations entre arginine et libération du monoxyde d'azote ou oxyde nitrique (NO). C'est en 1980 qu'un médiateur régulant le tonus vasomoteur est mis en évidence, l' *Endothelium Derived Relaxing Factor* : (EDRF), qui sera identifié secondairement (44) comme étant le NO, molécule endogène gazeuse hydro et liposoluble ayant la particularité d'être vasodilatatrice. Sa biosynthèse s'effectue exclusivement à partir d'un substrat endogène, la L-Arginine et nécessite une enzyme, la NO synthétase (eNOS) qui est une enzyme particulièrement impliquée dans la modulation du tonus vasculaire et endothélial (45). La demi vie du NO est très brève, de l'ordre de la seconde, avec une interaction biochimique avec le fer, l'oxygène et les groupes thiols (46). Le NO est inactivé par les ions superoxyde ou converti au contact de l'oxygène en métabolites inactifs : les nitrates (NO_3^-) et les nitrites (NO_2^-). Certains cofacteurs participent à la production de NO endogène en stimulant la eNOS. La L-Arginine en présence de ces messagers ou cofacteurs est donc le substrat des « *Nitric Oxyde Synthase* » (NOS) nécessaire à la synthèse du NO (47). Trois isoenzymes sont décrites dans la famille des NOS. Deux sont constitutives (cNOS) avec un site privilégié endothélial (NOS-3 ou eNOS) et un autre site, neuronal (nNOS ou NOS1). La troisième forme de l'isoenzyme est la iNOS ou NOS-2 qui n'est pas active à l'état basal. Son activation nécessite l'activation d'une réaction inflammatoire avec mise en jeu des cytokines. Contrairement aux autres formes, la iNOS n'est pas régulée par le calcium et son activation fournit une forte concentration en NO (48). L'activation de la chaîne du NO nécessite également l'action de la guanylate cyclase cytosolique soluble pour catalyser la formation de GMPc à partir du GTP. Cette augmentation du GMPc active la protéine kinase G qui provoque la phosphorylation de protéines impliquées dans la relaxation musculaire et l'agrégation plaquettaire (46). Une forte concentration intra-cellulaire en Ca^{++} est nécessaire à la liaison

Ca⁺⁺/calmoduline qui stimule l'activité de la NOSe. Cette enzyme génère du NO et de la citrulline à partir de la L-arginine et de l'oxygène (fig 6). La production de NO est loin d'avoir un site unique et de nombreuses cellules peuvent en produire comme les cellules endothéliales, les macrophages, les neurones, les hépatocytes, ou encore les adipocytes et les cellules musculaires. Cette libération de NO nécessite une stimulation de la iNO synthase inductible (iNOS) que l'on observe dans des situations telles que l'inflammation, les désordres vasculaires associés à l'athérosclérose, au diabète, ou à l'obésité (49). Un déficit en NO placentaire est retrouvé dans les grossesses présentant une prééclampsie ou un RCIU et pourrait être un facteur déterminant dans la physiopathologie de ces maladies dites vasculaires (50).

La production de NO par les cellules endothéliales joue un rôle pivot dans le tonus vasculaire, dans l'adhésion plaquettaire, dans l'inhibition de l'agrégation plaquettaire et dans la relaxation des cellules musculaires lisses. Une perturbation de la production de NO est retrouvée dans les maladies à composante vasculaire comme le diabète de type 2. Ainsi l'hyperglycémie via les cytokines inhibe la production de NO (51). Plusieurs travaux ont montré l'intérêt et le rôle du NO pendant la gestation.

L'administration d'un inhibiteur de la synthèse de NO, la NG-nitro-L-arginine methyl ester (L-NAME), provoque expérimentalement les mêmes expressions cliniques et biologiques que la prééclampsie (52), un retard de croissance intra utérin et une hypertension maternelle significativement plus importante chez les rattes gestantes que les rattes non gravides (53). Ces observations sont un argument en faveur d'un rôle physiologique du NO dans la baisse des résistances vasculaires qui survient normalement pendant la grossesse. De plus, des études ont montré l'intérêt potentiel du monoxyde d'azote (NO) dans la prévention du RCIU et de la prééclampsie chez l'animal (54). Lorsqu'un inhibiteur de la NO synthase est administré à la ratte gravide, la thrombose glomérulaire est majeure et mime parfaitement le syndrome néphrotique des prééclampsies (52). Les traitements donneurs de NO peuvent alors prévenir la thrombose glomérulaire rénale (55). Des travaux expérimentaux ont également démontré que la réduction du NO endogène par l'inhibition de la NO synthétase (L-NAME) chez la ratte induisait des RCIU sévères avec nécrose hémorragique des membres. Cette pathologie était également prévenue par l'administration concomitante de nitroprussiate de sodium qui est un des chef de file des donneurs de NO (54).

Le rôle du monoxyde d'azote semble réel dans la physiopathologie du syndrome vaculo-rénal de la grossesse (52, 56, 57). Ainsi, l'administration *in vivo* de L-arginine au troisième trimestre de grossesse favoriserait la vasodilatation artérielle en améliorant la vascularisation utéro-placentaire lorsqu'il existe un syndrome vasculo-rénal avec retard de croissance fœtal intra-utérin (RCIU) et sans retentissement sur l'hémodynamique maternelle (58). D'autres auteurs avaient déjà montré l'intérêt de la trinitrine (donneur de NO) sur l'amélioration de la vascularisation placentaire (59)

chez des femmes présentant un RCIU avec ou sans prééclampsie avec une amélioration significative du doppler ombilical (60).

L'administration de dérivés nitrés chez des femmes enceintes permettrait une amélioration des flux doppler au niveau des artères utérines (diminution de l'index utérin (S-D/S) et disparition des notch) sans diminution de la pression artérielle maternelle donc avec une excellente tolérance (61).

Un cas clinique de prééclampsie traité favorablement par la molsidomine est rapporté avec amélioration de la tension artérielle, diminution de la protéinurie et amélioration de l'index amniotique fœtal permettant un gain sur le terme de 6 semaines (27 à 33 SA), apportant un argument supplémentaire pour accorder au NO un rôle clé dans la réduction des résistances vasculaires placentaires (56).

Boulanger, dans une mise au point sur le rôle du NO dans la grossesse (62), compare l'importance du rôle du NO à celui des prostaglandines (Prostacyclines) et suggère que la L-arginine pourrait être une molécule d'avenir dans le traitement des patientes présentant une prééclampsie ou un RCIU vasculaire. L'administration intra veineuse de L-Arginine (30 grammes) au 3^{ème} trimestre de la grossesse, dans un contexte obstétrical de RCIU, permet une amélioration du doppler utérin lorsque celui-ci objective des résistances élevées, sans chute de la tension artérielle maternelle mais semble par contre sans effet sur les sujets témoins (58). La bonne tolérance hémodynamique de la L-Arginine orale chez l'adulte (20 g/jour en moyenne pendant plusieurs semaines) est confirmée par différents auteurs (63 ; 64). De même, l'administration orale de la même dose pendant 28 jours confirme que, chez les sujets sains en dehors de la grossesse, la L-arginine n'a aucun effet ni sur les concentrations plasmatiques de L-Arginine ni sur la tension artérielle (65). La L-Arginine proposée à la phase aigue de l'infarctus du myocarde sur un essai contrôlé en double aveugle à la dose de 3g trois fois par jour pendant 6 mois confirme la bonne tolérance même si son efficacité dans cette indication n'est pas démontrée (66).

Ainsi, l'analyse de la littérature permet de penser que le NO endogène pourrait être une arme thérapeutique à la fois bien tolérée et potentiellement efficace chez les femmes présentant une prééclampsie ou un RCIU avec doppler utérin pathologique.

6.Nutrition et retard de croissance intra-utérin

i.Acides aminés (AA) et RCIU

Le RCIU sévère, peut avoir plusieurs mécanismes. L'insuffisance placentaire et le défaut d'apport d'oxygène ne peuvent pas tout expliquer. Il est probable que la survenue d'un RCIU soit plurifactorielle, et implique plusieurs mécanismes plus ou moins associés : insuffisance placentaire, défaut d'apport nutritionnel, stress oxydatif, thrombophilie...

Le rôle des acides aminés est fondamental pour une bonne croissance fœtale. Durant le 3^{ème} trimestre de la grossesse, le triplement normal du poids fœtal implique une accréation protéique

(donc d'acides aminés) nette de plusieurs centaines de grammes. Les effets d'une restriction protéino-énergétique globale du régime maternel sur le poids fœtal, la masse placentaire et le périmètre céphalique sont bien connus depuis le siège de Rotterdam (67). La restriction en protéines du régime maternel durant la gestation est un modèle expérimental 'classique' utilisé de longue date pour produire des animaux RCIU (68). La restriction en acides aminés spécifiques a été décrite plus récemment pour la proline par exemple (69). La relation entre la dénutrition maternelle et la santé de l'enfant est bien étayée en particulier en ce qui concerne la taille finale atteinte à l'âge adulte, les difficultés scolaires, le rendement économique moindre et pour les femmes, une descendance d'enfants de petits poids (70).

Cependant, l'embolisation placentaire chez l'animal, modèle qui se rapprocherait le plus de l'insuffisance placentaire des RCIU vasculaires chez la femme, ne semble pas modifier radicalement le métabolisme protéique des fœtus (71). Ces auteurs montrent que l'apport de L Arginine IV seule et l'administration d'une perfusion d'un mélange d'acides aminés accroissent le gain protéique chez le fœtus de façon similaire, mais par un mécanisme différent (71), l'arginine induisant une baisse simultanée de la dégradation et de la synthèse protéique, tandis que les acides aminés stimulent la synthèse et freinent la dégradation protéique.

La littérature sur la relation entre le métabolisme protéique et le RCIU est assez discordante avec un bilan azoté plus élevé chez les hypotrophes en comparaison avec un groupe témoin (72), ou au contraire des modifications du métabolisme protéique à la fois modestes et comparables dans les deux groupes (73). De plus, les connaissances sur les altérations de la synthèse et de la dégradation protéique lors des RCIU sont fragmentaires en raison des différences entre les méthodes d'étude utilisées (74).

Un bref rappel est utile sur les acides aminés qui sont de petites molécules en majorité hydrosolubles pouvant circuler sous forme libre dans la circulation sanguine ou les espaces extra-cellulaires. Le tryptophane à l'inverse est liposoluble. Chez l'adulte, en dehors de la période fœtale, les concentrations circulantes d'acides aminés libres représentent la résultante entre 1) les flux d'acides aminés provenant des apports alimentaires, de la libération d'acides aminés provenant de la dégradation des protéines de l'organisme, (et de la synthèse *de novo*, pour ce qui concerne les acides aminés non essentiels), d'une part, et 2) d'autre part, l'utilisation des acides aminés, que ce soit dans la synthèse des protéines de l'organisme ou d'autres voies du métabolisme cellulaire, par exemple l'oxydation des acides aminés et la production d'urée. Chez le fœtus, le schéma est plus complexe, les acides aminés du sang fœtal ont en effet 3 sources différentes : a) les acides aminés provenant de la circulation maternelle et apportés par la veine ombilicale, d'une part, b) la libération d'acides aminés libres par la protéolyse fœtale d'autre part, et enfin c) la synthèse *de novo* d'acides aminés par le fœtus (pour les acides aminés non-essentiels). De même, les acides aminés circulants dans le sang fœtal peuvent être soit a) oxydés

ou métabolisés par le fœtus, soit b) incorporés dans les protéines fœtales, soit enfin c) « éliminés » vers la circulation maternelle, via les artères ombilicales :

Les acides aminés peuvent être classés d'après leur présence ou non dans les protéines et leur structure. Les acides aminés essentiels doivent être apportés par l'alimentation. Ils sont au nombre de 8 chez l'adulte en bonne santé en dehors de la grossesse (ILE, THR, LEU, PHE, TRP, VAL, MET, LYS). Certains sont considérés comme semi essentiels, c'est à dire qu'un apport exogène est indispensable dans certaines situations. Par exemple, chez l'enfant ARG ou HIS sont indispensables.

Les acides aminés ont un rôle majeur dans le métabolisme protéique, non seulement comme constituants des protéines, mais par une action directe dans la régulation de la synthèse des protéines (75) en particulier dans le placenta par le biais des facteurs de croissance et/ou de la voie de régulation de mTOR que nous envisagerons plus loin.

ii. Concentrations plasmatiques

Chez le fœtus ne présentant pas de restriction de croissance, la concentration des acides aminés reste stable entre le 2^{ème} et le 3^{ème} trimestre de la grossesse alors que les concentrations maternelles de PHE, ARG, HIS, et ALA sont élevées lorsque les fœtus présentent une situation pathologique de RCIU (76). Cette équipe rapporte que la concentration maternelle de la plupart des acides aminés chez les femmes enceintes avec grossesse normale est nettement plus faible aux deuxième et troisième trimestre par rapport aux femmes non enceintes. A l'inverse, lors des grossesses avec RCIU, quelle qu'en soit la sévérité, les concentrations maternelles des acides aminés sont sensiblement plus élevées que pour les grossesses normales et plus basses dans la circulation fœtale (77). Ainsi, si les concentrations plasmatiques fœtales sont diminuées chez les fœtus souffrant d'un RCIU (76, 77) on note également que ces concentrations basses persistent après la naissance chez le nouveau né (78). Cette relation entre l'hypotrophie fœtale et la diminution des acides aminés dans la circulation foetale et persistant après la naissance, milite pour un rôle participatif de la carence protéique dans la genèse des RCIU. Un cas très particulier est celui de l'homocystéine en raison de son rôle comme facteur de risque vasculaire, thrombotique et d'insuffisance placentaire en cours de grossesse (79). L'homocystéine maternelle diminue progressivement au cours du 1^{er} et du 2^{ème} trimestre de la grossesse et réaugmente progressivement en fin de grossesse. Ces concentrations restent inférieures au groupe témoin des femmes non enceintes (80). Ces concentrations sont de plus directement corrélées à l'albumine qui diminue physiologiquement pendant la gestation ainsi que chez les patientes prenant un traitement par de l'acide folique (80). L'hyperhomocystéinémie augmente le risque des complications vasculaires des grossesses comme le HELLP syndrome, la prééclampsie et enfin les RCIU (81). Les mécanismes sont mal élucidés, la recherche des mutations des gènes codant pour la méthyl

tetrahydrofolate reductase (MTHFR) peut être proposée, la consommation de l'homocystéine maternelle par le fœtus a été également proposée (82) Les indications multiples de l'arginine sont rappelées plus loin (chapitre 7)

iii. Transport placentaire des acides aminés

Le placenta est tapissé par un épithélium mettant en communication les circulations placentaires et fœtales (figure 1). L'apport net d'un acide aminé au fœtus via le placenta est déterminé chez l'animal plus par sa capture ombilicale que par l'augmentation de la concentration maternelle. Il existe un métabolisme actif fœtal des AA (83, 84). Le transport actif des acides aminés à travers le placenta comporte trois phases fondamentales (75).

- a. La capture des AA, provenant de la circulation maternelle en traversant la membrane intervillueuse (Gradient de concentration)
- b. Le transport à travers le cytoplasme trophoblastique
- c. Le transport au delà du trophoblaste par la traversée de la membrane (85)

Les systèmes de transport sont nécessaires pour les phases qui impliquent un passage à travers les membranes plasmiques. Les études de transport placentaire in vitro sont nécessaires pour corréler les flux d'acides aminés in vivo (85) ; ils sont classés selon leur dépendance ionique, l'interaction chaînes lourdes-chaînes légères, et la nature de l'acide aminé (anionique, cationique ou neutre) (75, 86). Fournir par voie exogène des acides aminés est certainement une thérapeutique insuffisante si une déficience en transporteur en limite l'accès au fœtus. Un certain nombre d'auteurs ont ainsi démontré qu'il existait une corrélation entre les restrictions de croissance fœtale et une altération de la fonction de transport placentaire (87, 88). Un certain nombre d'acides aminés maternels neutres nécessitent des transporteurs membranaires Na^+ dépendants pour accéder au fœtus (89, 90). Ainsi, il a été suggéré qu'une régulation des transports placentaires pourrait être un mécanisme de compensation pour les fœtus qui présenteraient une insuffisance d'apport exogène ou un défaut nutritionnel placentaire (91). Des travaux récents suggèrent que le dysfonctionnement du transport placentaire des acides aminés pourrait d'ailleurs être plutôt une cause qu'une conséquence du RCIU (92). Il est donc possible d'envisager que pour permettre une bonne croissance fœtale, il faille associer à la fois la source de nutriments (apports suffisants des AA) et la faculté de les transporter via le placenta (transporteurs). Le modèle des transports placentaires d'après Jones et al (93), est complexe et la régulation des transporteurs (fig 3) met en jeu entre autres, des facteurs de croissance (IGF1) pouvant directement moduler l'activité de transporteurs d'acides aminés Na^+ dépendant (système A) qui est diminué de l'ordre de 50% dans le placenta en cas de RCIU (86, 89 ; 94) ou encore la régulation par la voie de mTOR (Mammalian target of rapamycin)

- **Les facteurs de croissance :**

Le déficit en hormone de croissance (GH) se traduit par une insuffisance staturopondérale parfois sévère à la fois *in utero* et post-natale (95). Les IGF1 et 2 (Insulin-like Growth Factors), anciennement connues sous le nom de somatomédines ont d'abord été connues comme des polypeptides d'origine hépatique servant de médiateurs à l'action de l'hormone de croissance. L'action de ces molécules nécessite des récepteurs membranaires dont la régulation est médiée par des protéines de liaison : les IGFBP (insulin growth factor binding protein). Il existe une corrélation inverse entre le taux foetal d'IGFBP1 et le poids de naissance (96).

Les taux plasmatiques d'IGF1 et 2 s'élèvent progressivement pendant la gestation (97). Les taux circulants d'IGF2 sont par ailleurs nettement plus élevés que ceux de l'IGF1 qui sont abaissés dans les RCIU par rapport aux grossesses normales suggérant le rôle prépondérant de l'IGF1 dans les derniers mois de la grossesse (97, 98, 99). Si les taux circulants maternels d'IGF1 sont abaissés dans les RCIU (96), on ne peut séparer leur évolution des taux sériques des IGFBP-1 qui est augmentée suggérant alors aussi un rôle clé du transport placentaire dans la cause du RCIU (100). On note également que des expériences d'inactivation des gènes de l'IGF1 chez la souris conduisent à un RCIU très sévère parfois léthal avec hypoplasie généralisée de certains organes, de l'ossification et une altération de la croissance post natale (101).

D'autres systèmes de transports placentaires sont probablement également mis en jeu, en particulier la voie de mTOR (Mammalian target of rapamycin).

- **Mammalian target of rapamycin (mTOR) (fig 2):**

La rapamycine est un antibiotique de la classe des lactones macrocycliques, connue pour sa puissante inhibition d'une serine/threonine kinase, appelée *mammalian Target of Rapamycin* ou mTOR. mTOR possède d'abord un rôle dans l'initiation de la traduction des protéines, par interaction avec le facteur EPB I (inhibiteur d'un facteur d'élongation, mais contrôle aussi positivement la S6 kinase, constituant du ribosome). Cependant, mTOR est de plus en plus considéré comme un élément intégrateur de voies de signalisation, d'une part de signaux de facteurs de croissance et d'autre part de la disponibilité des nutriments. La rapamycine a été découverte pour son action antifongique et connue pour son effet immunosuppresseur. Mais les altérations génétiques et métaboliques des cellules transformées peuvent être à l'origine d'une hypersensibilité à cet agent. Appartenant à la famille des phosphatidylinositol kinase, mTOR, (possédant sur le carbone terminal une serine/threonine kinase protéine), régule la croissance et la prolifération cellulaire ainsi que la synthèse des protéines et leur transcription. On sait que des inhibiteurs de mTOR sont explorés pour limiter la prolifération cellulaire dans les pathologies cancéreuses (102, 103) et qu'à l'inverse la voie de mTOR semble fortement impliquée dans le syncytiotrophoblaste pour le transport des acides aminés (104). La voie de mTOR serait peut être directement impliquée lors de l'insuffisance d'apports en acides aminés (Leu) pour la stabilisation,

la translation et la transcription des protéines (105). De multiples facteurs viennent alors interagir avec mTOR comme les apports nutritionnels, les facteurs de croissance, l'oxygénation cellulaire (106).

La croissance du muscle fœtal bovin est clairement régulée par mTOR en réponse à la restriction nutritionnelle (107), et cette voie est sous le contrôle de la famille des acides aminés avec comme chefs de file la L Arginine et la leucine (108).

Enfin, il a été montré récemment que l'inhibition placentaire de mTOR diminue fortement le transport placentaire des acides aminés en particulier de la leucine (LEU) dans les RCIU (104). De même, puisqu'il existe une relation directe entre un défaut d'apport en acides aminés et la restriction de croissance fœtale (76, 109) et que l'inhibition de mTOR pourrait en être un des mécanismes (104), la recherche d'un dysfonctionnement des transports placentaires dans les RCIU vasculaires est en soi une thématique de recherche qui déborde l'objet initial de notre travail mais qui retient toute notre attention dans le cadre des projets ultérieurs. La figure 8 (d'après Wu et al, 2006) montre l'interconnexion des différentes voies empruntées par les acides aminés, le substrat donneur de NO et les transports potentiels dans les RCIU

7.Hypothèse de la L Arginine en médecine : espoir ou désuétude

Donneurs de NO et L Arginine en obstétrique : arguments bibliographiques

i-Effets physiologiques: De multiples espoirs sont suscités par cette molécule dans le domaine de la santé (110) à la fois par son rôle dans la synthèse et le métabolisme protéique et par son rôle de précurseur de NO et son action sur l'endothélium vasculaire. La supplémentation en L-arginine pourrait ainsi être indiquée dans le cadre d'une restauration de la production de NO chez le sujet présentant une dysfonction endothéliale. Cet acide aminé aux vertus thérapeutiques réelles ou supposées a suscité de nombreux travaux. Sur la base du moteur de recherche « medline » plus de 12575 articles sont référencés lors de la recherche « Arginine therapy ». En effet, cet acide aminé outre le fait d'être un maillon de la chaîne protéique possède des propriétés propres immuno, vasculo et pharmacomodulatrices: c'est un pharmaconutrimement (111). La L-Arginine joue un rôle métabolique et nutritionnel fondamental par son implication dans la biosynthèse des protéines tissulaires. Son action biologique a de multiples tropismes sur la synthèse du collagène, l'immunité cellulaire, la synthèse des polyamines et l'anabolisme cellulaire (112). La synthèse endogène de L-Arginine se fait à partir de son précurseur, la citrulline, principalement au niveau rénal. Les enzymes qui interviennent sont l'arginosuccinate synthase (ASS) et l'arginosuccinate lyase (ASL) (113). Cet acide aminé est original par son rôle à la fois nutritionnel en tant que maillon de la synthèse protéique et par son rôle vasculaire grâce à son métabolisme libérant la citrulline et le NO. Le tableau I résume les principales études montrant un

bénéfice des donneurs de NO dans les RCIU et également les prééclampsies en raison des similitudes physiopathologiques rencontrées dans les deux pathologies (114 ; 9) seules ou associées.

On peut finalement en résumé classer les effets de la L-Arginine en 5 axes (115) :

- Stimulation de la sécrétion d'insuline et de l'hormone de croissance
- Immunostimulation
- Effet trophique et cicatrisant avec action sur la synthèse du collagène
- Amélioration du bilan azoté, anabolisme accru de la synthèse protéique
- Effet vasculaire par son action sur la synthèse de NO

Aucune étude randomisée à grande échelle n'a à ce jour été réalisée pour étudier l'effet des donneurs ou précurseurs de NO que ce soit dans le traitement ou dans la prévention des RCIU sévères ou des prééclampsies. Cela aboutit logiquement à ne pas recommander ces traitements, faute d'un niveau de preuve suffisant (116). Cependant, un certain nombre de travaux à la fois chez l'animal et chez les patientes ont été menés justifiant l'intérêt persistant pour cette molécule à la fois comme nutriment et comme donneur de NO.

ii. Les organes cibles de la L-Arginine et les indications médicales potentielles

a. Immunité et Cancérologie

Le métabolisme de la L-Arginine joue un rôle dans l'immunité cellulaire en limitant la prolifération des cellules T Activées. Une possible efficacité thérapeutique est ainsi suggérée dans le traitement de certaines tumeurs malignes (117). Les cancers se nourrissent des apports nutritionnels et azotés que sont les acides aminés pour se développer et croître de façon autonome. Ainsi la privation nutritionnelle sélective d'un acide aminé comme la L Arginine est une méthode thérapeutique proposée pour traiter certains cancers en particulier dans les cas où l'argininosuccinate synthetase (ASS) fait défaut. C'est le cas des mélanomes, des carcinomes hépatocellulaires, des mésothéliomes ou certains cancers du rein (117). L'Arginine est dégradée par des enzymes comme l'arginine déiminase (ADI) ayant une forte affinité pour cet acide aminé qu'elle convertit en citrulline et en ammonium. La citrulline peut être retransformée ensuite en Arginine dans les cellules saines possédant l'ASS alors que les cellules tumorales dépourvues de cet enzyme ne le pourront pas. Ainsi des essais cliniques de phase I et II avec des résultats encourageants ont été conduits chez des patients ayant des mélanomes, des carcinomes hépatocellulaires (118). Si le rôle des enzymes iNOS ou Arginase est encore mal élucidé dans la régulation immunitaire dans les pathologies tumorales ou les situations d'agression, la L Arginine

en reste le substrat clé et appelle la communauté médicale à proposer des projets de recherche sur cette thématique (119).

b. Néphrologie

La voie du NO par la L Arginine est également impliquée dans les situations où l'inflammation peut jouer un rôle déterminant. C'est le cas au cours de la glomérulonéphrite expérimentale où des auteurs ont montré que l'activité de l'Arginase était augmentée de 500% par rapport au groupe contrôle avec des mécanismes de régulation et de compétition entre les voies de la NOS et de l'arginase au sein même du glomérule (120) ouvrant ainsi des perspectives thérapeutiques séduisantes. Ainsi, cette équipe suggère que la réponse inflammatoire répond à un équilibre subtil entre la voie de la iNOS avec production de NO et de citrulline et la voie de l'Arginase avec production d'ornithine et d'urée (fig 7).

Le NO joue alors un rôle cytotoxique et vasodilatateur et la L-ornithine se comporte comme un promoteur de la prolifération cellulaire. Les mesures de l'activité de la NOS et de l'arginase dans les macrophages isolés provenant des cellules glomérulaires ont montré une forte prédominance de la NOS par rapport à l'arginase. Au contraire l'activité de l'arginase est très forte dans les cultures de cellules mésangiales avec en corollaire une faible production de NO.

La concentration de la L Arginine est une des clés de cette chaîne de régulation de l'inflammation (121) ouvrant la porte à des perspectives thérapeutiques dans le domaine vasculaire par l'apport exogène de L Arginine.

c. L-Arginine en Endocrinologie (diabétologie, obésité, hypercholestérolémie)

Un certain nombre de travaux scientifiques en particulier sur l'animal permet de suggérer que la L-arginine, par libération du NO et inhibition de l'activation des cytokines, pourrait protéger le pancreas de la destruction des cellules des îlots de Langerhans dont la résultante est le diabète (122). Ainsi, la L-arginine pourrait restaurer le niveau de NO utile pour rétablir une action antioxydante. Un inhibiteur spécifique de la iNOS, le N^G-monométhyl-L-arginine (L NMMA) agissant en inhibiteur compétitif de la L Arginine bloque également son action spécifique. De plus, il a été montré que l'apport exogène de L-Arginine induisait une amélioration clinique et métabolique chez les rats diabétiques en diminuant le stress oxydatif au niveau du foie et du cerveau (123), effets dont l'explication passe indiscutablement par son action directement NO dépendante. Par ailleurs, sur le rat rendu diabétique par la streptozotocine, l'augmentation de l'activité de l'arginase (compétition avec la NO synthase par rapport à la L Arginine, leur substrat commun) contribue clairement à la détérioration de la fonction vasculaire endothéliale coronaire

en réduisant la biodisponibilité de la L Arginine. (124). Chez le rat obèse diabétique (ZDF ; fa/fa), un déficit en arginine et glutamine est retrouvé confirmant le rôle clé de cet acide aminé (125).

Un inhibiteur endogène de la NOS, la diméthylarginine asymétrique (asymmetric dimethylarginine, ou ADMA) a des effets opposés à ceux de la L Arginine. Une corrélation significative est en outre démontrée entre la concentration plasmatique élevée de l' ADMA et la morbidité cardiovasculaire (126) à la fois chez le sujet non diabétique (127) et encore plus sur les complications micro et macroangiopathiques des patients diabétiques de type 1 (128).

Si on compare les concentrations de l'ADMA et de la L-Arginine chez les sujets présentant une hyperthyroïdie, une hypothyroïdie et des sujets euthyroïdiens, on constate une augmentation significative de l'ADMA et de la L-Arginine dans les dysthyroïdies (hyper et hypothyroïdie) par rapport aux sujets contrôles (129). Toutefois, c'est dans le contexte d'hyperthyroïdie que le rapport L-arginine/ADMA, reflet de la production de NO est le plus diminué (129 ; 130)

L'obésité est également source de complications vasculaires, métaboliques et infectieuses significativement augmentées dont la mortalité et la morbidité représentent un réel problème de santé publique. Si la prise en charge classique repose sur la prescription de régimes hypocaloriques, la supplémentation orale par la L-Arginine est préconisée comme pharmaconutriments susceptible d'améliorer la morbidité de ces patients (131). De même, des études déjà anciennes ont montré une altération de l'endothélium vasculaire chez les patients hypercholestérolémiques, altérations d'ailleurs en partie réversibles lors d'une perfusion de L Arginine (132). La relation entre la concentration élevée de l'ADMA bloquant la synthèse de NO et l'obésité, l'hypercholestérolémie, et l'ingestion chronique d'alcool est également démontrée (133).

d. Chirurgie digestive et infection

Des travaux expérimentaux sur les tissus anastomotiques lors de la cicatrisation des sutures digestives chez le rat ont mis en évidence un rôle régulateur favorable de l'isoforme I de l'Arginase (AI) par rapport au groupe contrôle. Ainsi, certains auteurs ont suggéré que la conversion de la L-Arginine en proline et en ornithine par l'activation de la voie de l'arginase jouait un rôle clé dans la synthèse du collagène et la cicatrisation. La cicatrisation lors de la chirurgie pour cancer gastrique semble favorisée par un cocktail nutritionnel post opératoire associant Arginine et, acides gras riches en omega 3 (134). La L-Arginine pourrait donc jouer un rôle soit dans les pathologies vasculaires en favorisant la voie du NO soit dans la prolifération cellulaire, la stabilisation de membranes et la cicatrisation par la synthèse de l'ornithine et de l'urée par la voie de l'arginase (135). Des résultats comparables avec augmentation de l'AI sont observés lors de modèles expérimentaux de traumatismes abdominaux (136).

L'activation des arginases par leur principal substrat (la L-Arginine) est observée dans des tableaux d'infections sévères (117). Des études récentes suggèrent également une efficacité de la L-arginine dans le traitement de la Leishmaniose en particulier chez l'enfant et le jeune adulte (137).

Une méta-analyse de 13 essais a montré que lors d'interventions chirurgicales pour cancer digestif, une préparation par nutrition parentérale préopératoire diminuerait de 10% le taux de complications (138). De même, une préparation préopératoire par un soluté de nutrition entérale associant L Arginine, ARN et acides gras polyinsaturés, diminue l'incidence des infections postopératoires (139). Cependant il est difficile de discriminer le rôle spécifique de la L Arginine *per se* plutôt que du 'cocktail' nutritionnel dans la responsabilité de ce bénéfice. Ces résultats enthousiasmants sont globalement contrastés et modulés par d'autres travaux qui ne retrouvent pas de bénéfices à la préparation nutritionnelle en particulier avec ou sans supplémentation par L-Arginine (140).

Même s'il n'est pas établi que la supplémentation orale par la L-Arginine soit responsable d'une meilleure cicatrisation et d'une réduction des infections post opératoires, des recommandations de supplémentation préopératoire ont été énoncées par la société européenne de nutrition entérale et parentérale (ESPEN) pour les patients devant subir une chirurgie pour cancer digestif : un mélange nutritif associant arginine, acides gras poly-insaturés oméga3, ARN et taurine (Impact®) est préconisé avant chirurgie digestive lourde (139, 141, 142, 143).

e. Pathologies vasculaires, rénales et hépatiques

L'hypertension artérielle pulmonaire (HTAP) idiopathique est une maladie rare et grave avec des mécanismes étiologiques complexes et mal élucidés. Des études cliniques, certes préliminaires, montrent cependant une relation entre les taux plasmatiques de L Arginine et la pression artérielle droite, la fonction et l'index cardiaque suggérant un rôle régulateur de la L-Arginine (144). Par ailleurs, la baisse du rapport arginine/ornithine, reflet prédominant de la voie de l'arginase est associée à une augmentation par 2,5 de la sévérité de l'hypertension artérielle pulmonaire et de la mortalité qui lui est directement reliée (OR, 2.5; 95% CI, 1.2-5.2) (145). C'est sur ces bases que la "L-Arginine therapy" par voie orale pourrait être une possible thérapeutique à proposer dans l'HTAP avec des résultats déjà prometteurs (146).

Cependant, les limites de la supplémentation orale par la L-Arginine sont évoquées par Wilcken et al. Un des mécanismes limitant l'efficacité potentielle de l'arginine pourrait être la compétition avec l'« asymmetric dimethylarginine » (ADMA), qui est un inhibiteur endogène de la NOS. L'ADMA pourrait avoir une affinité supérieure pour les cellules endothéliales qui augmenterait lors de l'augmentation exogène de L Arginine avec inhibition de la synthèse de NO (147).

L'ADMA provient du catabolisme de protéines tissulaires contenant des dérivés d'arginine méthylés. Lors du catabolisme azoté, les dérivés d'arginine méthylés sont relargués dans la circulation maternelle. Cette voie est régulée par une enzyme, la dimethylarginine dimethylaminohydrolase (DDAH) comprenant deux isoformes DDAH1 et DDAH2 qui est la forme prépondérante dans les cellules endothéliales et placentaires. L'inhibition de l'activité enzymatique de la DDAH2 est une des explications plausible de l'augmentation de la concentration de l'ADMA. Les taux circulants normaux sont respectivement $0.34 \pm 0.08 \mu\text{mol/L}$ et $0.49 \pm 0.08 \mu\text{mol/L}$ au terme de 18 SA et à terme et sont augmenté chez les patientes qui vont développer une prééclampsie mais pas chez les patientes dont le fœtus sera hypotrophe (148).

Le vasospasme cérébral après hémorragie cérébrale aboutit à une inhibition de la iNOS et à une augmentation de la concentration de l'ADMA autorisant l'hypothèse qu'un apport exogène de donneur de NO pourrait permettre une plus rapide resorption de l'hémorragie et lever ainsi le spasme délétère (149)

f. Performances physiques

Un certain nombre d'athlètes ont été traités par la L-Arginine exogène en raison de son rôle dans l'activation de l'hormone de croissance, la synthèse de la créatine et enfin dans l'activation de la voie du NO (150). De même, en donnant 3g/jour pendant 15 jours à des sujets pourtant non entraînés, on note une augmentation significative de la résistance à la fatigue musculaire (151). Une revue de synthèse rapportant les études publiées avec pour objectif d'améliorer la performance musculaire confirme à la fois l'intérêt scientifique porté à la L Arginine chez le sportif et la faiblesse du niveau de preuve des essais publiés (152).

g. Arginine en Obstétrique

Nous abordons enfin ici le lien entre les donneurs de NO et la L-Arginine en particulier et leur utilisation plus spécifique dans le domaine de l'obstétrique.

- **Maturation cervicale**

Les donneurs de NO ont été étudiés avec un certain intérêt dans la maturation ou la dilatation du col de l'utérus car le NO pourrait en être un médiateur pivot (153 ;154). L'expression d'iNOS augmente en fin de gestation dans le col utérin de la femme enceinte (155 ; 156). L'efficacité du NO est cependant incertaine sur le col utérin car les résultats des essais sont parfois contradictoires avec des résultats enthousiasmants soit au premier trimestre (157,158) soit à terme en cas de dépassement de terme (159,160) et d'autres résultats négatifs (161).

Chez la ratte gravide, le maintien de la myorelaxation utérine nécessite une augmentation croissante de l'activité de la iNOS et le blocage de cet enzyme pourrait être corrélé avec le début

du travail (162). Des données équivalentes montrent que le blocage de la synthèse de NO par le Nitro-L-arginine-méthyl ester (L NAME) est capable d'induire la mise en travail des souris gravides (163) orientant le déterminisme du travail vers d'autres causes possibles que les modifications hormonales classiques (levée du frein progestéronique).

- Myorelaxation utérine

C'est dans cette même logique que les donneurs de NO comme la nitroglycérine ont été utilisés à des doses variables chez la femme enceinte pour rechercher une myorelaxation utérine parfois même en urgence (164). De multiples publications rapportent un effet favorable des donneurs de NO en salle de travail pour favoriser la naissance en cas de rétraction du col pour la naissance des jumeaux soit par version externe soit par version interne et grande extraction et ou en cas de présentation du siège ou pour obtenir une myorelaxation utérine (165, 166, 167, 168, 169). Lors des césariennes, en cas d'hypertonie ou de macrosomie la naissance peut également être facilitée par un donneur de NO (170). Toutefois, l'efficacité du produit peut même aboutir à des effets secondaires non recherchés comme l'inversion utérine potentiellement grave imposant donc une certaine prudence (171). D'autres auteurs au contraire rapportent l'intérêt de cette classe médicamenteuse pour éviter l'anesthésie générale et réduire une inversion utérine (172, 173). Lors des délivrances manuelles et des difficultés à extraire le placenta, l'injection intraveineuse de nitroglycérine peut aider le clinicien à se sortir de situations difficiles tout en connaissant le risque d'atonie utérine (174, 175).

La prééclampsie et le risque vasculaire de la grossesse (HTA, preeclampsie, RCIU) sont une cible privilégiée du NO. Des données hémodynamiques intéressantes sont retrouvées avec la baisse significative de la pression artérielle après supplémentation par L arginine chez des rattees gravides qui avaient subi une réduction de la vascularisation artérielle par clips sur les artères iliaques mimant un modèle de prééclampsie (176). Les donneurs de NO et la L-Arginine en particulier, par leur action sur l'endothélium et leur tropisme vasodilatateur prennent tout leur intérêt dans les complications vasculaires de la grossesse. Une réduction de l'activité de iNOS placentaire à terme ou avant terme est rapportée dans les prééclampsies, réduction dont le rôle étiopathogénique est alors évoqué (177). Le système L-arginine/NO est intéressant pendant la grossesse en raison des implications cliniques multiples, en particulier pour la prééclampsie et le retard de croissance intra-utérin (178).

Devant l'absence de thérapeutiques efficaces pour traiter ou prévenir la prééclampsie (antioxydants, huile de poisson, aspirine, calcium...), la voie du NO garde un intérêt certain : en effet, l'augmentation de production de NO est progressive au cours de la grossesse normale sans pour autant être systématiquement effondrée dans les prééclampsies (179). Un certain nombre d'auteurs ont cherché à inverser le rapport L-Arginine/ADMA et à lever ainsi le dysfonctionnement endothélial lié au défaut de production de NO. C'est logiquement par un apport

exogène et par une supplémentation de son substrat qu'est la L-Arginine que cette possibilité semble le plus envisageable (180).

La concentration en L-Arginine dans le sang prélevé au cordon ombilical est abaissée chez les femmes prééclampsiques par rapport au groupe témoin sans altération du transport de l'acide aminé (expression normale des gènes CAT-1, 4F2hc, and LAT-1 déterminé par RT PCR) (181). Cependant une augmentation nette de l'activité de l'Arginase aboutissant à une élévation du stress oxydatif et à la libération d'ornithine et de peroxinitrites plutôt que de citrulline et de NO peut expliquer les limites de la supplémentation par ce substrat. C'est la compétition enzymatique avec la voie de l'arginase qui l'emporte sur la iNOS qui prédomine dans les grossesses de type prééclampsie (181).

De nombreuses publications rapportent ainsi l'intérêt des donneurs de NO en obstétrique et une revue récente de De Pace et al en résume les nombreuses indications et en particulier de la L-Arginine en obstétrique (182).

Une étude prospective préliminaire, certes sur un effectif faible (10 patientes traitées et 10 recevant un placebo) suggère une action favorable sur la pression artérielle maternelle et le doppler foetal. Ainsi, l'indice de pulsatilité du doppler ombilical est significativement abaissé par le traitement et surtout le doppler utérin est amélioré dans les 20 à 30 minutes après traitement dans les deux groupes et de façon plus importante dans le groupe prééclampsie (183). Des patchs de donneurs de NO (vs placebo) administrés au terme de 24-26 SA à 40 femmes non hypertendues sans RCIU mais avec doppler utérins pathologiques ont permis une réduction globale des complications de la grossesse dans le groupe trinitrine (vs groupe placebo), et une tendance à l'augmentation du poids fetal ($2782\text{g} \pm 638$ vs $2565\text{g} \pm 684$) (184). Des réserves sur l'efficacité thérapeutique des patchs donneurs de NO liées à la fréquence de la pathologie gravidique et à la puissance de l'échantillonnage de l'essai doivent être cependant émises. Ils confirment toutefois la sécurité de la trinitrine chez la femme enceinte et appellent à d'autres études sur des populations différentes avec des traitements différents comme la L-Arginine.

Si la prééclampsie permet de comprendre le lien entre le défaut de production de NO et l'expression clinique de la pathologie gravidique, le problème dans l'hypotrophie foetale ou le retard de croissance semble plus délicat, à la fois par la complexité et le caractère multifactoriel de l'étiopathogénie. En effet, les patchs de donneurs de NO (trinitrine) induisent une amélioration des index dopplers utérins, réversible après retrait du patch (185). Cette amélioration des index de résistance utérine, couplée à la baisse des pressions artérielles moyennes, est confirmée par Germain et al après deux semaines de traitement administré précocément à la dose de 0.1 g/kg/jour chez des femmes avec doppler utérins à haute résistance et présentant des Notchs (186). Ces mêmes auteurs appelaient à poursuivre des essais avec la L-Arginine dans les grossesses à risque vasculaires.

Les essais randomisés avec la L-Arginine dans la prééclampsie ont cherché à évaluer son action antihypertensive avec des résultats enthousiasmants. Des études d'abord préliminaires (187) puis randomisées (188) sont rapportées. Une perfusion intra-veineuse de 20 g/500 mL contre placebo pendant 4 jours sur un effectif de 43 femmes (20 et 23 patientes dans chacun des groupes) démontre outre une excellente tolérance du produit, une réduction significative de la pression artérielle systolique et diastolique dans le groupe traité (188). Devant ces résultats, la même équipe étend les indications de traitement des femmes hypertendues aux femmes prééclamptiques en augmentant la dose et la durée de traitement (20g IV pendant 5 jours avec relai oral 4g par jour pendant 14 jours). Le délai inclusion-naissance en SA est augmenté (19.5 +/- 16.9 vs. 31.7 +/- 25.2 jours ; $p = 0.008$), la pression artérielle est abaissée et une tendance vers le gain de poids fœtal ainsi que la diminution de la sévérité de la prééclampsie permet de conclure à une perspective thérapeutique prometteuse de la L-Arginine (189).

D'autres essais existent encore dans la littérature mais celui de l'équipe polonaise (190) qui propose un traitement par L-Arginine par voie orale (3g/j pendant 3 semaines) dans un essai randomisé prospectif contre placebo à 61 femmes prééclamptiques est particulièrement instructif. En effet, outre l'effet favorable sur la pression artérielle moyenne des patientes, il montre une élévation des nitrates/nitrites plasmiques et urinaires, une élévation de la citrulline démontrant ainsi l'action prépondérante de la iNOS par rapport à l'arginase. De plus, l'apport exogène n'augmente pas la concentration plasmique de L-Arginine expliquant ainsi l'absence de toxicité cumulative, sa bonne tolérance et la synthèse de NO.

La sécurité de la L-arginine, outre les multiples essais sans aucun effet délétère rapporté, est démontrée lors de traitements prolongés pendant six mois chez le coronarien (191) et est également confirmée par des études pharmacocinétiques (192, 193). Ainsi la dose de L Arginine moyenne recommandée lors d'un traitement prolongé chez l'Homme va de 6g jusqu'à 15 à 20 g par jour.

Le tableau I résume les principales études cliniques impliquant les donneurs de NO et les grossesses à risques vasculaires

TABLEAU I

Etudes mettant en evidence un bénéfice aux donneurs ou précurseurs de NO

Auteurs- année Journal	HTA- Prééclampsie	RCIU	Posologies	Bénéfices rapportés
Cacciatore B et al Am J Obstet Gynecol. 1998	+		Trinitrine patch 10mg/j pendant 3 jours	Amélioration des index doppler utérin, sans modification des doppler ombilical et cérébral (réversibilité après retrait)
Luzi G, Caserta G Ultrasound Obstet Gynecol. 1999	+		Glyceryl trinitrate 0.3mg sublingual	-Baisse de la pression artérielle systolique et diastolique maternelle -Amélioration des index doppler utérin -Pas d'anomalie du RCF -Pas de modifications du doppler cérébral
Giles W et al Lancet, 1992		+	Trinitrine: Glyceryl trinitrate	Reduction des résistances ombilicales sur le Doppler foetoplacentaire
Ramsay B et al , 94 Eur J Clin Invest.	+		Nitric oxide donor	Amélioration des index Doppler utérins des patients a haut risqué de prééclampsie
Molnar M Am J Obstet Gynecol. 1994				L'inhibition de NO (L Name) reproduit le tableau de la PE
Helmbrecht GD. Am J Obstet Gynecol. 1996				Réversion des RCIU par ARG
Neri I, Acta Obstet Gynecol Scand. 1996	+	+	L-Arginine 30 g IV	Augmentation de la vasodilatation artérielle, de la vascularisation utéro- placentaire lorsqu'il existe un RCIU
Thaete LG, Placenta. 2005				Un inhibiteur de la NOS (L NAME) abouti à une baisse de la perfusion placentaire non seulement par la baisse du NO mais aussi par l'augmentation des endothélines vasopressives
Von Mandach U, J Matern Fetal Neonatal Med. 2003	Comparaison de deux groupes (grossesses normales et composite pathologique (infections, diabète, prééclampsie)		Dosage (NO ₂ ⁻ /NO ₃ ⁻) maternel et foetal	Augmentation des nitrates nitrites dans tous les compartiments maternel et foetal
Boulanger et al 96	+		Molsidomine	-Amélioration de la tension

Nephrol Dial Transplant,				artérielle maternelle, -Diminution de la protéinurie -Amélioration de l'index amniotique fœtal - Prolongation de la grossesse de 6 SA
Lees C et al 98 Ultrasound Obstet Gynecol. 1998	Patientes normo- tendues avec dopplers uterins pathologiques		Trinitrine en patch	-Pas de difference sur le poids fœtal (tendance non significative vers une augmentation de poids) -Moins de complications - Pas d'effet préventif sur l'incidence de prééclampsie
Neri I et al J Matern Fetal Neonatal Med.2006.	Patientes hypertendues non prééclamptiques entre 34-36 SA		L Arginine IV 20g pendant 4 jours	Effet de réduction significatif de la pression artérielle systolique et diastolique
Facchinetti F et al Hypertens Pregnancy. 2007	HTA gravidiques (n=46) et Prééclampsie (n=28)		20g IV 4jours puis oral 4g pendant 2 semaines vs placebo	-Tendance à la Prolongation de la grossesse 1. Augmentatiuon du délai inclusion-naissance 2. Baisse de la TA maternelle 3. Atténuation du tableau de la sévérité clinique et augmentation du poids foetal
Rytlewski K et al Eur J Clin Invest. 2005	30 prééclampsies et 31 placebo		3g de L Arginine oral pendant 3 semaines	- Diminution de la Pression artérielle - Elévation des ($\text{NO}_2^-/\text{NO}_3^-$) - Elévation de la Citrulline plasmatique - Pas de modification plamatique de la L Arginine, Ornithine
- Xiao et al Intern J Gynecol Obstet 2005		+	LArginine 20g/j 7 jours	-Gain de poids fœtal 2794 ± 339g vs 2971±350 g - Augmentation $\text{NO}_2^-/\text{NO}_3^-$
Sieroszewski et al J Matern Fetal Neonatal Med. 2004		+	ARG 3g/Jour	Gain de poids fœtal
De Pace V et al J Matern Fetal Neonatal Med. 2007	+	+	Synthèse des indications en particulier obstétricales	

III- L-ARGININE ET RETARD DE CROISSANCE : L'ESSAI RANDOMISE

i.- Méthodologie de l'étude clinique multicentrique

Une fois exposées les bases scientifiques justifiant les espoirs d'une supplémentation par L Arginine, en cas de RCIU avec doppler utérin pathologique, il fallait exclure les patientes prééclamptiques pour deux raisons. La première était de ne pas mélanger les deux syndromes car si des similitudes existent, ce ne sont pas systématiquement les mêmes patientes, que ce soit pour ce qui concerne l'expression clinique et, probablement, pour ce qui est de tous les mécanismes physiopathologiques (9). L'autre raison est aussi que lorsqu'une prééclampsie est déclarée, le délai moyen entre l'admission et la césarienne est très court, de l'ordre de 6.0 ± 5.1 jours et de l'ordre de 3 jours en cas de RCIU associé (3.1 ± 2.1 vs 6.6 ± 6.1 jours; $P < .05$) (194). Ce délai ne permettait pas d'espérer un traitement d'une durée suffisante. C'est également la raison qui nous a conduit à exclure les patientes dont le délai « randomisation-naissance » était inférieur à une semaine.

La stratification en deux groupes 24-27+6J (SA) et 28-32 (SA) avait pour but de ne pas concentrer toutes les patientes autour d'un même âge gestationnel et d'avoir une répartition homogène du terme à la randomisation et à la naissance. Le calcul du nombre de sujets nécessaire est confié à l'équipe de statistique (Pr Goffinet, Dr Branger et Pr Rozé) en se basant sur l'enquête périnatale des pays de Loire en 1995 et en cherchant à obtenir un gain de poids fœtal de 0.5 Z-score avec une puissance de 80%, un risque alpha à 5% et un test bilatéral. Il fallait 17 patientes dans chaque bras (ARG et placebo). En raison des pertes de données possibles, des sorties d'études prévisibles ou de césariennes trop rapides, nous avons étendu les inclusions jusqu'à 24 dans chaque bras afin d'éviter la critique classique d'un échantillonnage insuffisant.

ii.- Analyse des résultats

L'analyse des résultats figure dans l'article ci dessous et reposait d'abord sur la recherche de gain de poids fœtal à la naissance, ensuite sur la morbidité néonatale en tenant compte du score CRIB pédiatrique avec l'état néonatal immédiat, la durée d'oxygénation et le délai entre la naissance et l'alimentation entérale totale. Aucune différence statistique n'est sortie de l'étude clinique ou paraclinique, ou biologique ($\text{NO}_2/\text{NO}_3^-$) La certitude de la bonne observance est totale car soit les patientes étaient hospitalisées pour la plupart et le traitement administré par la sage femme, soit elles étaient surveillées en ambulatoire, et elles rapportaient les flacons vides chaque semaine en échange des flacons pleins, avec une motivation totale.

iii. Nous joignons ci dessous la version de l'article original

L-Arginine treatment for severe vascular fetal intrauterine growth restriction: a randomized double-blind controlled trial.

[Winer N](#), [Branger B](#), [Azria E](#), [Tsatsaris V](#), [Philippe HJ](#), [Rozé JC](#), [Descamps P](#), [Boog G](#), [Cynober L](#), [Darmaun D](#).

Department of Perinatality, Obstetrics and Neonatology, Centre Hospitalier Universitaire, Nantes, France; and INSERM, CIC4 Nantes; Physiology of Nutritional Adaptations, UMR 1280, INRA & University of Nantes, France.

BACKGROUND & AIMS: Infants born with severe IUGR are exposed to higher neonatal mortality and morbidity rates, as compared with appropriate-for-gestational-age. They are exposed to a higher risk of developing chronic disease such as hypertension, coronary artery disease, obesity, and type 2 diabetes in adulthood. L-Arginine is a precursor of nitric oxide (NO) and may play a role in placental vascular mediation or local vasodilatation. **OBJECTIVE:** The current study was designed to determine whether oral supplementation of gravid patients suffering from severe intrauterine growth restriction (IUGR) with l-arginine, would enhance birth weight and/or decrease neonatal morbidity. **PATIENTS AND METHODS:** Forty-four patients with a singleton pregnancy who had been referred for IUGR detected by ultrasonic examination were included. Vascular IUGR was defined by fetal abdominal circumference less than or equal to the 3rd percentile, associated with abnormal uterine Doppler. After double-blind randomization, patients received either 14g/day of l-arginine, or a placebo. **RESULTS:** The characteristics of the two groups of patients (IUGR with l-arginine vs IUGR with placebo) were similar upon randomization. There was no significant difference between the two groups concerning birth weight (1042+/-476 vs. 1068+/-452g). At delivery, maternal and neonatal characteristics were similar in the two groups. There was no difference in the Clinical Risk Index for Babies (CRIB) score, the duration of ventilatory assistance, nor the delay between birth and full enteral feeding between the two groups. **CONCLUSION:** In this study which is, at the best of our knowledge, the first double-blind, multicenter, randomized trial in this condition, l-arginine is not an effective treatment for severe vascular growth restriction.

PMID: 19359073 [PubMed - as supplied by publisher]

DOI : 10.1001/j.clnu2009.03.007

L-Arginine treatment for severe vascular fetal intrauterine growth restriction: a randomized double blind controlled trial

Norbert Winer, Bernard Branger, Elie Azria, Vassilis Tsatsaris, Henri-Jean Philippe, Jean Christophe Rozé, Philippe Descamps, Georges Boog, Luc Cynober, Dominique Darmaun

(1) Department of Perinatality, Obstetrics and Neonatology, Centre Hospitalier Universitaire, Nantes, France; and INSERM, CIC4 Nantes (NW, HJP, JCR, GB)

(2) Epidemiologist, Perinatal Health Network, Nantes, France (BB)

(3) APHP, Cochin Hospital, Department of Obstetrics and Gynecology, Descartes University, Paris 5, France (EA, VT)

(4) Department of Obstetrics and Gynecology, Centre Hospitalier Universitaire, Angers, France (PD)

(5) Laboratory of Biological Nutrition, Faculty of Pharmacy, University Paris Descartes and clinical chemistry lab , Hotel-Dieu Hospital, APHP, France (LC)

(6) Physiology of Nutritional Adaptations, UMR 1280, INRA & University of Nantes, France (NW, JCR, DD)

Correspondence to : Prof Dominique Darmaun, UMR 1280 INRA, CHU de Nantes, Hotel-Dieu HNB1, 44093 Nantes Cedex 1, France

e-mail: ddarmaun@chu-nantes.fr)

Phone: + 33 2 53 48 20 04

Fax : + 33 2 53 48 20 03

ABSTRACT

Background: Infants born with severe IUGR are exposed to higher neonatal mortality and morbidity rates, as compared with appropriate-for-gestational-age. They are exposed to a higher risk of developing chronic disease such as hypertension, coronary artery disease, obesity, and type2 diabetes in adulthood. L-Arginine is a precursor of nitric oxide (NO) and may play a role in placental vascular mediation or local vasodilatation.

Objective: The current study was designed to determine whether oral supplementation of gravid patients suffering from severe intrauterine growth restriction (IUGR) with L-Arginine, would enhance birth weight and/or decrease neonatal morbidity.

Patients and Methods: 44 patients with a singleton pregnancy who had been referred for IUGR detected by ultrasonic examination were included. Vascular IUGR was defined by fetal abdominal circumference less than or equal to the third percentile, associated with abnormal uterine Doppler. After double blind randomization, patients received either 14 g/day of L-arginine, or a placebo.

Results: The characteristics of the two groups of patients (IUGR with L-Arginine vs IUGR with placebo) were similar upon randomization. There was no significant difference between the two groups concerning birth weight (1042 ± 476 vs. 1068 ± 452 g). At delivery, maternal and neonatal characteristics were similar in the two groups. There was no difference in the Clinical Risk Index for Babies (CRIB) score, the duration of ventilatory assistance, nor the delay between birth and full enteral feeding between the two groups.

Conclusion In this study which is, at the best of our knowledge, the first double blind, multicenter, randomized trial, L-Arginine is not an effective treatment for severe vascular growth restriction.

Clinical Trial Registration www.clinicaltrials.gov (Registration NCT00549575).

Keys Words: severe growth retardation with pathologic uterine Doppler, L-Arginine, Nitric Oxide Donor

Correspondence to: D. Darmaun, Physiology of Nutritional Adaptations, UMR 1280, INRA & University of Nantes, CHU Nantes, 44093 Nantes, France (e-mail: ddarmaun@chu-nantes.fr)

INTRODUCTION

Intra-uterine growth restriction (IUGR), as defined by a fetal weight below the 10th percentile for gestational age, is a common complication of pregnancy as it affects up to 8% of pregnancies (1,2). IUGR is thought to arise from uteroplacental vascular insufficiency associated with histological lesions in the placenta, which typically produce an asymmetric growth restriction that spares brain growth (3, 4). Infants with severe, early IUGR have long been known to be exposed to higher neonatal mortality and morbidity rates, as compared with appropriate-for-gestational-age (AGA) preterm infants (5, 6, 7),

and the main prognostic factors in severe IUGR are fetal weight, and term of birth (8). Data from Valcamonico et al (8) further demonstrate that gestational age is the most significant predictor of long-term neurodevelopmental outcome as well. When born at 26 weeks of gestation, infants with a birth weight below the 10th percentile experienced a 3-fold higher risk of dying within the first 28 days of life, compared to infants born appropriate for gestational age (9). Moreover, adult sequelae of intrauterine growth restriction are reported (10) and infants born with IUGR are exposed to a higher risk of developing chronic disease such as hypertension, coronary artery disease, obesity, and type 2 diabetes in adulthood (11, 12, 13). The quest for an efficacious treatment for IUGR therefore is clearly warranted.

The inadequate perfusion of the uterus and placenta likely plays a key role in the development of vascular uteroplacental insufficiency, resulting in IUGR (3). No treatment is currently available to manage this chronic complication. Although low doses of acetylsalicylic acid have been used for secondary prevention (14), the benefit of that treatment appears to be modest (15). The vasculature of the placenta and uterus is regulated by multiple, locally expressed vascular mediators. L-Arginine (ARG), a semi-essential amino-acid and the sole endogenous precursor of nitric oxide (NO) (16), is involved in the regulation of blood flow in vascular beds (17). In addition, ARG plays a key role in the fetus as a creatine and polyamine precursor, and impaired placental synthesis of NO (18) may provide an explanation for the intrauterine growth retardation especially when induced by maternal undernutrition (19, 20). NO plays a key role in placental endothelial function (21). In rats, experimental maternal ARG deficiency is known to produce IUGR, and to increase perinatal mortality (22). Conversely, L-arginine supplementation reverses the adverse changes induced by nitric oxide synthase inhibition in pregnant rat (23). The effects of ARG supplementation offer great promise for improved health in a number of diseases conditions (24). In particular, data from the literature suggest arginine supplementation may be beneficial in other disease states such as hypertension and diabetes (25, 26) in adults, or necrotizing enterocolitis in preterm infants (27). However, the potential benefit of arginine in IUGR has not been extensively studied. Scattered case reports and a few previous trials have reported a positive effect of ARG on utero-placental circulation, Doppler index, and the clinical course of pregnancy with IUGR (28, 29). The results of published studies regarding the efficacy of NO donors in pregnancies with vascular complications such IUGR are, however, conflicting. A recent review in the Cochrane Database therefore concluded that there is insufficient evidence to draw reliable conclusions about whether nitric oxide donors and precursors prevent preeclampsia or its complications. The authors proposed further randomized trials with different modes of administration, and suggested that alternative agents, such as ARG, warrant assessment of their potential role in the management of vascular pregnancies (30).

To the best of our knowledge, the current study is the first double blind, multicenter, randomized trial comparing oral ARG with a placebo in very severe vascular IUGR with abnormal uterine Doppler.

MATERIALS AND METHODS

Patients and Treatment

This multicenter randomized trial was conducted in 3 perinatal centers in France, from September 1999 to June 2006. Patients with a singleton pregnancy, who had been referred to a fetal medicine unit for IUGR, were enrolled. IUGR was defined by clinical and ultrasonic examination confirmed by a second referent sonographer, according to reference values (31). The criteria for vascular IUGR were: fetal abdominal circumference less than or equal to the third percentile for gestational age, and abnormal uterine Doppler. Uterine Doppler was considered pathologic if Pourcelot's resistance index (S-D/S) was equal to or higher than 0.7, and/or if an obvious notch was present. If the placenta was not median, the side of the pathologic Doppler had to be on the same side as the placenta.

Exclusion criteria were: acute fetal distress, non vascular and non severe IUGR (normal uterine Doppler scans and/or abdominal circumference $> 3^{\text{rd}}$ percentile), maternal immune disorder, IUGR from an infectious etiology, IUGR associated with fetal malformation, multifetal pregnancy, and preeclampsia upon inclusion.

The study was approved by the local institutional review board (CCPPRB : Comité Consultatif de Protection des Personnes dans la Recherche Biomédicale n°2 des Pays de la Loire 99/4-A20/99). After written, signed informed consent, patients were stratified in two groups, according to gestational age: from 24 weeks gestation (WG) to 27 WG + 6 days, and 28 to 32 WG. Stratification was judged necessary because the relation between the main objective (fetal weight) and the gestational age is so important that it was necessary to avoid any imbalance between groups. Within each group of gestational age, patients were double blind randomized to receive, either 14 g (90 cc) of ARG (LA group) or a placebo (P group) administered orally as a syrup with identical taste and appearance. Both syrups were prepared by the same manufacturer (Veyron Laboratories France). Neither the patient nor the medical team were aware of the treatment received by the patient. The total daily dose was split in two equal doses given in the morning and in the evening.

Ultrasound examinations with arterial and venous Dopplers (uterine artery, umbilical artery, middle cerebral artery and ductus venosus) were performed immediately before inclusion. It is our routine practice to perform at least one ultrasound examination every week until delivery in these high risk pregnancies. Electronic fetal heart rate (FHR) monitoring was assessed before inclusion, and at least twice weekly or even daily throughout the trial, with computerized analysis of short or long-term of FHR variation (32). Parameters assessed included: birth weight (Z Score and median) (33, 34, 35), and the neonatal clinical characteristics: Apgar score at 5 minutes, acid base status, clinical risk index for babies (CRIB), and oxygen requirement. The birth weight reference were: Usher Z-score with mean and standard deviation without sex (33), Kramer Z-score with mean and standard deviation for male and female (34), French reference (AUDIPOG) with percentage of median for male and female (35). Maternal blood samples and 12-h urine collections were obtained at inclusion (D0), before any

treatment, and at delivery. All samples were obtained in the fasting state with the exception of samples obtained at delivery for obvious reasons. Fetal cord blood serum was collected at birth. All blood samples were centrifuged for 20 min at 4°C and 3000 rpm, and frozen immediately. NO production was estimated by the sum of its end-products ($\text{NO}_2^-/\text{NO}_3^-$). For nitrate determination, nitrate was reduced to nitrite by incubating 150 µL samples for 30 min at 37°C with 0.1 U/mL nitrate reductase (Boehringer Mannheim), 50 µmol/L NADPH₂ (Sigma-Aldrich) and 5 µmol/L FAD (Sigma) in a final volume of 160 µL. The samples were then incubated with 10 U/mL lactate dehydrogenase (Sigma-Aldrich) and 10 mmol/L sodium pyruvate for 15 min at 37°C, in a final volume of 170 µL. Total nitrite was determined by the Griess reaction (Greiss reagent kit Roche Diagnostics, Meylan, France).

Statistical analysis

The study was powered to detect a 0.5 difference in birth weight Z-score with an 80% power and a 5% alpha risk with a bilateral test, requiring 17 patients in each treatment-group (ARG and placebo). For calculation and based upon a preliminary study in a similar population, we used a SD=0.5 for the Z-score in this population. Because the rate of early withdrawal or short treatment exposition between randomization and an early birth was expected to be 20% to 30%, 24 patients were included in each group. Treatment-groups were compared on an intention-to-treat (ITT) basis. Categorical variables are presented as percentage, and continuous variables as mean (standard deviation) or median (range). Proportions were compared using Pearson's Chi-square or Fisher's exact test as appropriate. The Mann-Whitney test was used to compare the values of quantitative variables in each arm.

RESULTS

A total of 47 patients were enrolled. In the first stratified group (24 to 27 Weeks + 6 days upon inclusion), one patient underwent a termination of pregnancy at her request, because of poor fetal prognosis (the weight was deemed too far below the 3rd percentile, and IUGR was associated with anamnios and reverse umbilical flow). This Group therefore consisted of 24 patients with usable data. In the other stratified group (28 to 32 weeks upon inclusion), two patients were excluded because of acute fetal distress two and three days after inclusion, and one canceled her participation in the protocol 2 days after inclusion. This second stratified group therefore included data from 19 patients.

Finally, data from a total of 43 patients whose fetuses were diagnosed with severe vascular IUGR below the third percentile were analyzed, with 21 in the L-arginine group and 22 in the placebo group (Figure 1). The characteristics of the studied population upon randomization are summarized in Table 1. Renal function was normal in all patients in both groups.

Arterial and venous Doppler scans were similar at randomization (Day 0), and Doppler scans performed immediately before birth were altered by ARG treatment (Table 2).

Selected maternal and neonatal clinical characteristics of the studied population at birth were similar in the L-arginine and placebo groups, and are summarized in Table 3.

The main criteria analyzed, i.e. birth weight, with a Z-score correction (Kramer, Usher, Audipog), and neonatal Apgar score, did not differ between groups. Treatment and placebo groups did not differ with regard to CRIB score, the duration of ventilatory oxygen requirement, or the time to reach full enteral feeding.

Neither maternal serum ($\text{NO}_2^-/\text{NO}_3^-$) concentration nor urinary nitrate/nitrate excretion differed between the L-arginine and placebo groups, even after normalization for urinary creatinine (Table 4 and Figure 2).

DISCUSSION

The current study was designed to assess the potential benefit of arginine supplementation in pregnant women with severe IUGR of vascular origin. We did not observe any difference in outcome between the intervention group and the control group.

Adequate uteroplacental blood flow is essential for normal pregnancy, particularly to support appropriate fetal growth. Although the regulation of the placental circulation is incompletely understood, it is known to be dependent on locally produced vasoactive mediators. In 1980, the “endothelium derived relaxing factor” (EDRF) was shown to be required for vascular smooth muscle relaxation, and subsequently identified as NO (37). ARG is the sole direct endogenous substrate of NO synthase (NOS), and therefore the major endogenous precursor of NO. As NO most likely is a locally active vasodilator, and as the putative effect of ARG is thought to be mediated via NO, it was relevant to measure nitrite and nitrate levels in the serum of patients before any treatment as well as during oral ARG supplement (19). However, in the current trial neither nitrate/nitrite levels, nor neonatal outcome or birth weight were not affected by prenatal oral arginine supplementation. The lack of effect of ARG contrasts with the positive effect of ARG on NO levels and blood flow observed in other vascular beds in other clinical settings (28, 37, 38, 39). Although earlier trials carried out in pregnancies with IUGR showed that L-Arginine can be used to increase maternal $\text{NO}_2^-/\text{NO}_3^-$ levels and infant birth weight (37), the discrepancy may be accounted for by the differences between the populations of patients studied. As a matter of fact, earlier trials enrolled pregnancies in which the degree of growth restriction was much less severe—with fetal growth below the 10th percentile, compared to below the 3rd percentile in the current study—and relatively late in the course of gestation (after 33 WG, vs. 28 WG in the current study). This raises the issue of whether any treatment is warranted for patients with moderate growth retardation after 33 Weeks. Similarly, mean infant birth weight was much lower in the current study ($1042 \pm 476\text{g}$) than in the study by Xiao et al, where mean birth weights were 2800 and 3200 g in the treated and control groups, respectively (37). In contrast, there is a strong rationale, and a dire need for an effective treatment for severe IUGR, particularly as IUGR babies are at a high risk of poor neurodevelopmental outcome. In our study, the high rate of caesarean section, and the true premature mean gestational age (31 ± 2.9 WG) in both groups, confirm the severity of the growth retardation, and the need for treatment if such treatment were available. In the current study, we selected a group of IUGR fetuses with abnormal uterine Doppler because the pathophysiology in that

group is close to that of preeclampsia (40). Preeclampsia and intrauterine growth restriction may indeed share similar determinants and consequences (41), and an alteration in nitric oxide synthesis during pregnancy may be one of the factors responsible for this disorder in both cases (42). In humans, uterine doppler can be used to assess perinatal vascular risk, and detect the utero-placental insufficiency responsible for IUGR (40,43). So, even when IUGR is detectable, it may not be too late to assess the therapeutic efficacy of ARG at that stage as NO may play a role in placental vascular mediation or local vasodilatation.

In the current study, a high rate of thrombosis, infarction and hypotrophy was confirmed in both groups (comparable to preeclampsia histology). Nevertheless, these findings cannot be compared with previous studies, which did not report detailed placental histology. Yet, the literature is not unanimous regarding the pathophysiology of IUGR, and the data are widely discrepant and conflicting about the use of nitric oxide for preventing or treating vascular pregnancies (30). The current study does not confirm the changes in Doppler parameters observed in previous reports with NO donor (44, 45, 46).

From a theoretical standpoint, several potential mechanism may account for the lack of effect of arginine supplementation in the current trial, including poor compliance, insufficient dosage, poor arginine bioavailability, poor conversion of arginine to NO, or a lack of effect of NO on placental vascular bed.

The lack of effect of ARG in our patients cannot be accounted for by an insufficient dosage and/or duration of treatment, as the arginine dose used (14 g/day for several weeks) is in the upper range of those given in most former trials in fetal growth restriction (7 to 20 days) (37, 39). Poor compliance to treatment is unlikely as well, since the patients were either hospitalized and the treatment was given by the midwife, or more rarely at home and the patients brought back empty syrup bottles to the hospital every week. Actually, pregnant women are known to be compliant to medical advice.

Nitrite and nitrate (Nox) are the stable end products of the L-Arginine-NO pathway, and the serum level of nitrite and nitrate is commonly used to estimate NO production (47). As NO production failed to rise, the lack of effect of arginine in the current trial therefore cannot be attributed to the lack of any vasodilatory effect of NO reported by Thaete et al (48).

Therefore, the reasons why L-Arginine failed to upregulate NO production remain to be elucidated. As a substantial fraction of orally administered arginine presumably undergoes first pass uptake and degradation in liver (49, 50), poor arginine availability in systemic blood may limit the efficacy of this amino acid. Citrulline, the immediate precursor of L-Arginine citrulline, which can be used to raise systemic arginine levels (51, 52) because not taken up by the liver (50) may be more effective. Interestingly, citrulline supplementation seems effective in infants suffering pulmonary hypertension (53) This would warrant further study.

Alternatively, arginine could not reach its 'target' tissues either because it may be metabolized due to increased arginase activity in extrahepatic tissues such as placenta (54), or because it may not reach fetal endothelium. Little is known about transplacental arginine transport in health and disease. A

decrease in the transplacental transport of leucine, phenylalanine, glycine and proline was observed in IUGR (55, 56). It would make sense that arginine transport should be tightly controlled in order to protect the fetus against excessive NO precursor availability. In addition, impaired arginine transport into endothelial cells was observed in the umbilical endothelium from IUGR infants in earlier studies (57). Finally, conversion of arginine into NO could be impaired.. As a matter of fact, Savvidou et al noted that pregnant women with bilateral notches had a striking elevation in the plasma concentration of asymmetric dimethylarginine (ADMA), which is a potent inhibitor of NO synthase (58). They suggested that the endothelial dysfunction observed in women who subsequently develop IUGR is attributable to an abnormality of endothelial NO synthesis or action. The authors furthermore suggested that a clinical trial was warranted to investigate the effects of L-Arginine on endothelial function in women at high-risk with such abnormal uterine Doppler. Such was the rationale to conduct the current study.

In summary, in contrast with earlier trials in IUGR of moderate severity, the current study did not find any evidence for a beneficial effect of long term, oral treatment with the same doses of ARG in pregnancies with severe IUGR. according to a recent review of the clinical use of nitric oxide donors and ARG in obstetrics suggested that there is much less evidence on the use of NO donors as L-arginine in the vascular complications of pregnancy, either as prophylactics or therapeutic agents (59). Taken in aggregate with earlier studies, the current findings underlines that the pathophysiology of IUGR is complex, and suggest that the efficacy of ARG on IUGR may depend, among other factors, on the degree of severity of IUGR, the route and timing of NO donor administration, and the capacity to enhance arginine availability and NOS or arginase activity, which may differ between IUGR per se and preeclampsia. In practical terms, although the current data clearly limit enthusiasm for the use of Arginine supplementation in pregnancies with severe IUGR, they suggest further studies are clearly warranted to improve our understanding about the putative role of specific amino acids in the modulation of fetal growth.

Acknowledgments

This study was supported by the Delegation a la Recherche Clinique (DRC) of the University Medical Center of Nantes (CHU de Nantes), and we thank Veyron France Laboratories for supplying ARG and placebo. We are grateful to Dr Jean Luc Orsonneau for his performance of the serum and urinary nitrite-nitrate determination.

Author Contributions: Drs Winer, Branger and Darmaun had full access to all of the data in the study and take responsibility for the integrity of the data and the accuracy of the data analysis.

Study concept and design: Winer, Boog, Roze

Acquisition of data: Winer, Branger, Tsasaris, Azria, Descamps, Philippe

Analysis and interpretation of data: Winer, Branger, Darmaun.

Drafting of the manuscript: Winer

Critical revision of the manuscript for important intellectual content: Darmaun, Tsatsaris, Cynober

Statistical analysis: Branger.

Overall supervision of the study: Darmaun

Figure 1: Patient Flow Through the Study

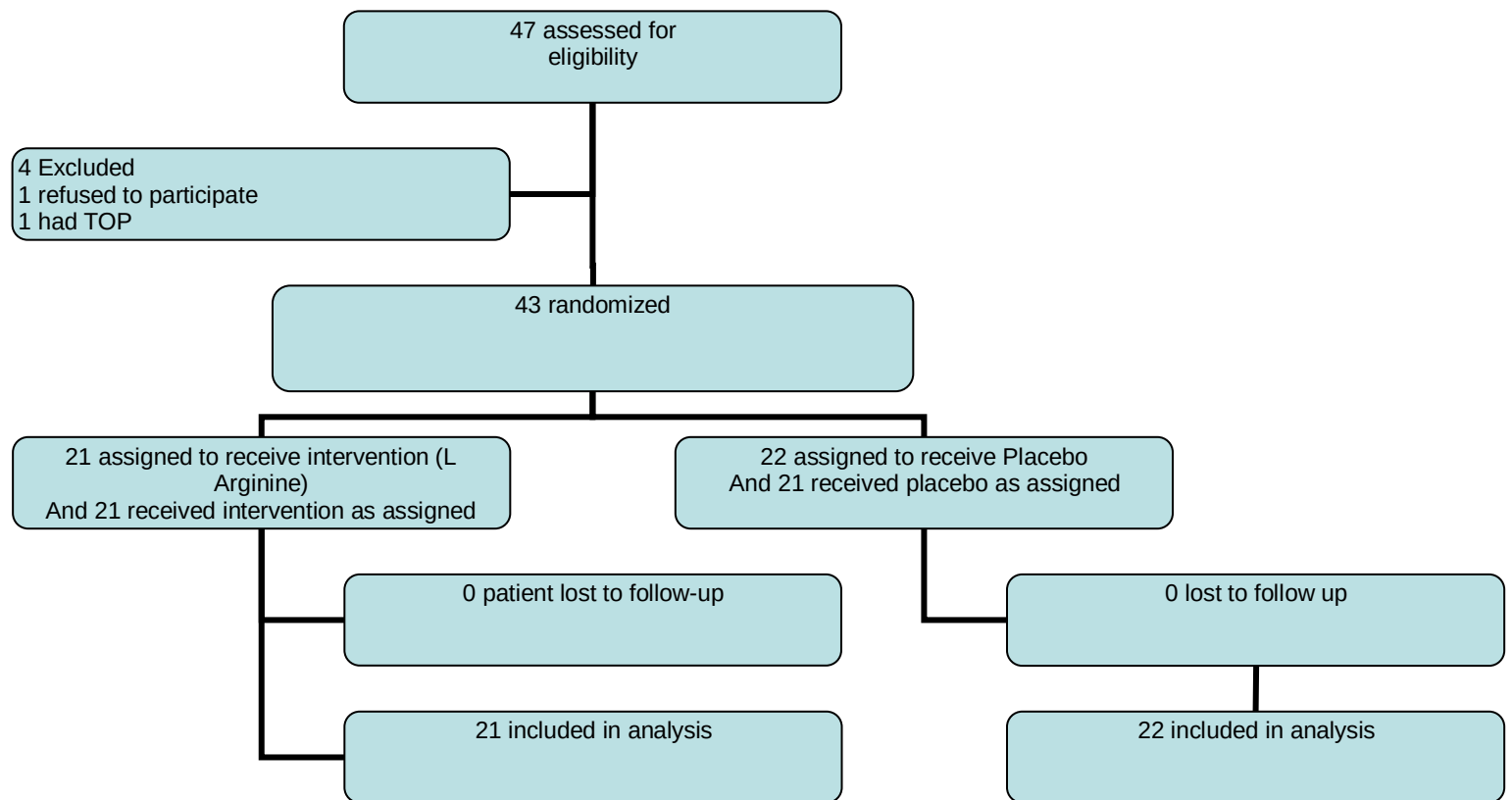


Table 1. Selected clinical characteristics of the studied population at randomization

Parameter	ARG n=21	Placebo n=22
Maternal age (years)	28.2 ± 5.9	29.3 ± 4.2
Mean gestational at time of randomization (weeks of gestation)	28.0 ± 2.0	27.7 ± 2.1
European Caucasian background (%)	85	86
Previous pathologic events		
- Growth retardation (%)	24	23
- Preeclampsia (%)	9	4
- Placental abruption (%)	9	4
- Spontaneous abortion (%)	9	18
Smokers		
- (% non smokers)	90	86
- (% < 10 cigarettes by day)	5	9
- (% ≥ 10 cigarettes by day)	5	5
Systolic blood pressure (mmHg)	129.7 ± 17.2	117.7 ± 16.3
Diastolic blood pressure (mmHg)	69.2 ± 16.9	69.8 ± 12.6
Fetal heart rate monitoring (% normal)	100	100
Short term variation (Dawes and Redman criteria) (ms)	8.6	11.3
Antenatal betamethasone therapy before randomization (%)	57	36

The two groups are similar in their characteristics

Table 2. Ultrasound examination at randomization (Day 0), and before delivery

Parameter	ARG n = 21	Placebo n = 22	P
Placental localization			
- Left (%)	14	23	0.3
- Median (%)	53	63	0.3
- Right (%)	33	14	0.3
Amniotic fluid			
- Oligoamnios (%)	33	23	0.51
Day 0 (inclusion)			
• Doppler resistance index (RI) (S-D)/S			
- Right Uterine index	0.73 ± 0.09	0.75 ± 0.09	0.9
- Presence of Notch (%)	100	95	1
- Left Uterine index	0.75 ± 0.08	0.74 ± 0.1	0.75
- Presence of Notch (%)	90	86	1
- Umbilical Index	0.84 ± 0.11	0.84 ± 0.12	0.70
- Cerebral Index	0.79 ± 0.10	0.79 ± 0.13	0.19
• Ductus venosus pulsatility index	0.74 ± 0.24	0.68 ± 0.20	0.53
- Normal (%)	100	100	1
Just before delivery			
• Doppler resistance index (RI) [(S-D)/S]			
- Right Uterine index	0.67 ± 0.09	0.71 ± 0.143	0.47
- Presence of Notch (%)	92	85	1
- Left Uterine index	0.70 ± 0.12	0.68 ± 0.09	0.29
- Presence of Notch (%)	85	92	1
- Umbilical Index	0.73 ± 0.32	0.70 ± 0.31	0.62
- Cerebral Index	0.72 ± 0.11	0.72 ± 0.15	0.92
• Ductus venosus pulsatility index	0.72 ± 0.46	0.76 ± 0.25	0.86
- Normal (%)	100	100	1

Table 3 : Maternal and neonatal characteristics

Maternal parameters	ARG n=21	Placebo n=22	P
Placental weight (g)	207 ± 90	194 ± 73	0.61
Placental weight difference /median (g)	-107 ± 77	-122 ± 57	0.5
Placental weight, % of median (%)	-69 ± 49	-76 ± 42	0.66
Placental histology			
- Normal (%)	22	32	0.71
- Thrombosis or/and infarction (%)	81	59	0.18
- Hypotrophy (%)	89	89	> 0.99
Mean gestational age (weeks)	31.3 ± 2.9	31.4 ± 2.9	0.92
Inclusion/Delivery Interval (days)	24.8 ± 23.6	28.6 ± 20.2	0.41
Cesarean section (%)	90	85	0.58
Systolic maternal blood pressure (mmHg)	133 ± 19	124 ± 18	0.17
Diastolic maternal blood pressure (mmHg)	78 ± 13	74 ± 12	0.36
Fetal heart rhythm (% normal)	57	70	0.52
VCT (Dawes criteria) (ms)	7.1 ± 3.2	7.1 ± 2.8	0.96
Neonatal parameters			
Sex (% male)	38	59	0.23
Birth weight (g)	1042 ± 476	1068 ± 452	0.66
Z-score (Kramer)	-1.97 ± 0.39	-1.98 ± 0.56	0.74
Median % (Audipog)	-34 ± 9	-35 ± 12	0.73
Z-score (Usher)	-2.7 ± 0.6	-2.6 ± 0.9	0.99
Apgar score at 5 min	9.1 ± 1.9	9.8 ± 0.5	0.25
CRIB* score	2.9 ± 3.1	3.0 ± 2.5	0.69
Need for oxygen therapy (% of patients)	63	62	> 0.99
Duration of oxygen supplementation (days)	23 ± 27	18 ± 20	0.76
Duration of parenteral nutrition (days)	24 ± 25	23 ± 19	0.81

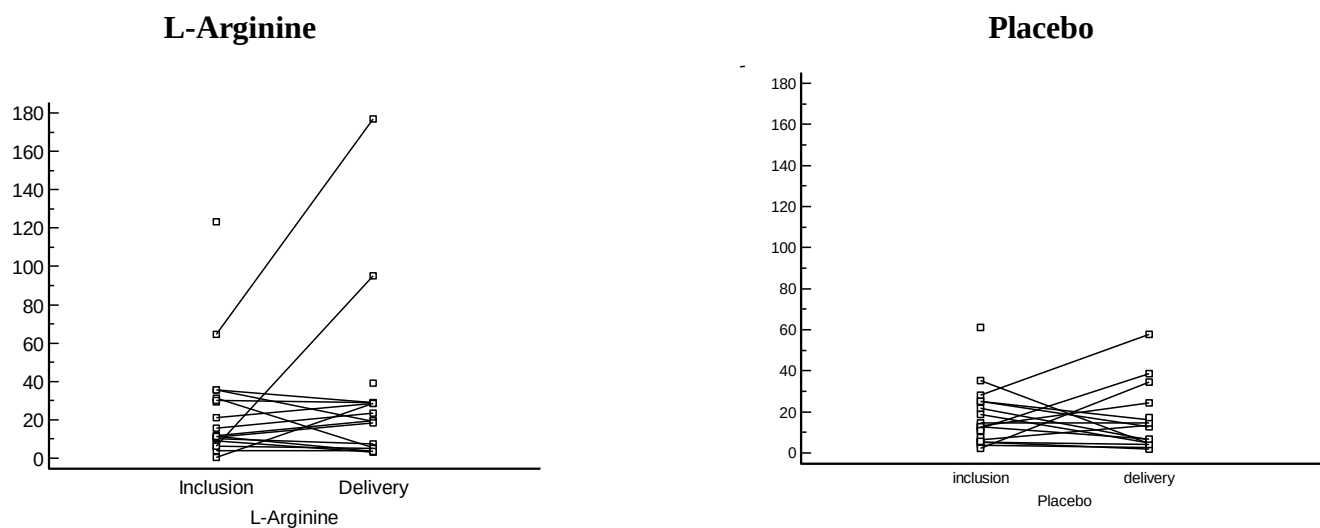
* Clinical risk index for babies

Table 4. Nitrite/nitrate (NO₂⁻/ NO₃⁻) levels in maternal and cord blood serum and urine

	n LA/P	ARG	Placebo	p
D0 (before treatment)				
Blood NO ₂ ⁻ / NO ₃ ⁻ (μmol/L)	18/20	25.4 ± 29.1	16.3 ± 13.9	0.37
Urine NO ₂ ⁻ / NO ₃ ⁻ (mmol/L)	17/19	0.57 ± 0.3	0.83 ± 0.8	0.69
Urine NO ₂ ⁻ / NO ₃ ⁻ per mmol of urinary creatinine	11/11	0.12 ± 0.06	0.13 ± 0.08	0.99
At delivery				
Blood NO ₂ ⁻ / NO ₃ ⁻ (μmol/L)	17/16	31.5 ± 43.4	16.2 ± 15.6	0.23
Urine NO ₂ ⁻ / NO ₃ ⁻ (mmol/L)	16/17	0.57 ± 0.64	0.45 ± 0.36	0.99
Urine NO ₂ ⁻ / NO ₃ ⁻ per mmol of urinary creatinine	10/11	0.064 ± 0.023	0.072 ± 0.034	0.52
Umbilical Neonatal samples				
Cord blood NO ₂ ⁻ / NO ₃ ⁻ (μmol/L)	9/9	26.7 ± 23.6	18.6 ± 13.3	0.45

Means ± SD

Figure 2 : Maternal Nitrites urine at inclusion (before treatment) and delivery (μmol/L)



REFERENCES

- 1-Gilbert WM, Danielsen B. Pregnancy outcomes associated with intrauterine growth restriction Am J Obstet Gynecol. 2003;188:1596-9
- 2-Villar J, Carroli G, Wojdyla D, Preeclampsia, gestational hypertension and intrauterine growth restriction, related or independent conditions? Am J Obstet Gynecol. 2006;194:921-31
- 3-Laurini R, Laurin J, Marsal K. Placental histology and fetal blood flow in intrauterine growth retardation. Acta Obstet Gynecol Scand. 1994;73:529-34.
- 4-Lumbers ER, Yu ZY, Gibson KJ. The selfish brain and the Barker hypothesis. Clin Exp Pharmacol Physiol. 2001;28:942-7
- 5-Aucott SW, Donohue PK, Northington FJ. Increased morbidity in severe early intrauterine growth restriction. J Perinatol. 2004;24:435-40
- 6-Simchen MJ, Beiner ME, Strauss-Liviathan N, et al Neonatal outcome in growth-restricted versus appropriately grown preterm infants. Am J Perinatol. 2000;17:187-92.
- 7-Pedersen CB, Sun Y, Vestergaard M, Olsen J, Basso O. Assessing fetal growth impairments based on family data as a tool for identifying high-risk babies. An example with neonatal mortality. BMC Pregnancy Childbirth. 2007;7:28
- 8-Valcamonico A, Accorsi P, Sanzeni C et al; Mid- and long-term outcome of extremely low birth weight (ELBW) infants: an analysis of prognostic factors; J Matern Fetal Neonatal Med. 2007;20:465-71
- 9-Boulet SL, Alexander GR, Salihu HM, Kirby RS, Carlo WA. Fetal growth risk curves: defining levels of fetal growth restriction by neonatal death risk. Am J Obstet Gynecol. 2006;195:1571-7
- 10- Ross MG, Beall MH. Adult sequelae of intrauterine growth restriction. Semin Perinatol. 2008 ;32:213-8.
- 11- Frankel S, Elwood P, Sweetnam P, Yarnell J, Davey Smith G, Birthweight, body-mass index in middle age, and incident coronary, heart disease. Lancet 1996, 348:1478-1480
- 12-Osmond C, Barker DJ. Fetal, infant, and childhood growth are predictors of coronary heart disease, diabetes, and hypertension in adult men and women. Environ Health Perspect. 2000; 108:545-53
- 13-Thompson JN. Fetal nutrition and adult hypertension, diabetes, obesity, and coronary artery disease. Neonatal Netw. 2007;26:235-40
- 14-Uzan S, Beaufils M, Breart G, Bazin B, Capitant C, Paris J. Prevention of foetal growth retardation with low-dose aspirin. Lancet. 1991;337:1427-31.
- 15-Duley L, Henderson-Smart DJ, Knight M, King JF. Antiplatelet agents for preventing pre-eclampsia and its complications. Cochrane Database Syst Rev. 2004;(1):CD004659

- 16-Wu G, Morris SM Jr. Arginine metabolism: nitric oxide and beyond. *Biochem J.* 1998; 15;336 :1-17.
- 17-Appleton J. Arginine : Clinical potential of a semi-essential amino. *Altern Med Rev.* 2002; 7 :512-522
- 18-Moinard C, Cynober L, De Bandt JP. Polyamines metabolism and implications in human diseases. *Clin Nutr.* 2005;24:184-197
- 19-Wu G, Bazer FW, Cudd TA, Meininger CJ, Spencer TE. Maternal nutrition and fetal development. *J Nutr.* 2004;134:2169-2172
- 20-Wu G, Jaeger LA, Bazer FW, Rhoads JM. Arginine deficiency in preterm infants: biochemical mechanisms and nutritional implications. *J Nutr Biochem.* 2004;15:442-451.
- 21-Levin ER, Endothelins. *N Eng J Med.* 1995;333:356-363
- 22-Vosatka RJ., Hassoun PM, Harvey-Wilkes KB. Dietary L-arginine prevents fetal growth restriction in rats. *Am J Obstet Gynecol.* 1998;178:242-246.
- 23-Helmbrecht GD, Farhat MY, Lochbaum L, Yadgarova KT, Eglinton GS, Ramwell PW. L-arginine reverses the adverse pregnancy changes induced by nitric oxide synthase inhibition in the rat. *Am J Obstet Gynecol.* 1996;175:800-805
- 24-Wu G, Meininger CJ, Knabe DA, Bazer FW, Rhoads JM. Arginine nutrition in development, health and disease. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care.* 2000;3:59-66.
- 25-Wolf G. Adult type 2 diabetes induced by intrauterine growth retardation. *Nutr Rev.* 2003 ;61:176-9.
- 26-Martina V et al , Long-term N-acetylcysteine and L-arginine administration reduces endothelial activation and systolic blood pressure in hypertensive patients with type 2 diabetes. *Diabetes Care.* 2008; 31:940-4.
- 27-Shah P, Shah V. Arginine supplementation for prevention of necrotising enterocolitis in preterm infants. *Cochrane Database Syst Rev.* 2007;(3):CD004339
- 28-Lampariello C, De Blasio A, Merenda A, Graziano E, Michalopoulou A, Bruno P. Use of L-Arginine in intra uterine growth retardation (IUGR): author's experience. *Minerva Gynecol.* 1997;49:577-581
- 29-Neri I, Mazza V, Galassi MC, Volpe A, Facchinetti F. Effects of L-Arginine on utero-placental circulation in growth-retarded fetuses. *Acta Obstet Gynecol Scand.* 1996;75:208-212
- 30-Meher S, Duley L. Nitric oxide for preventing pre-eclampsia and its complications. *Cochrane Database Syst Rev.* 2007:CD006490

- 31-J.Créquat, M. Duyme, G. Brodaty, Biometry 2000. Fetal growth charts by the French College of fetal ultrasonography and the Inserm U 155. *Gynecol Obstet Fertil.* 2000;28:435-445
- 32-Dawes GS, Moulden M, Redman CWG. Short-term fetal heart rate variations, decelerations, and umbilical flow velocity waveforms before labor. *Obstet Gynecol.* 1992;80:673-8.
- 33-Usher R, McLean F. Intrauterine growth of live-born Caucasian infants at sea-level : standard obtained from measurements in 7 dimensions of infants born between 25 and 44 weeks gestation. *J Pediatr.* 1969;74:901-910.
- 34-Kramer MS, Platt RW, Wen SW, et al and Fetal/Infant Health Study Group of the Canadian Perinatal Surveillance System. A new and improved population-based canadian reference for birth weight for gestational age. *Pediatrics* 2001;108:E35
- 35-Mamelle N, Munoz F, Grandjean H. Fetal growth from the AUDIPOG study. I. Establishment of reference curves. *J Gynecol Obstet Biol Reprod.* 1996; 25:61-70.
- 36-Moncada S, Radomski MW, Palmer RM. Endothelium-derived relaxing factor identification as nitric oxide and role in the control of vascular tone and platelet function. *Biochem Pharmacol.* 1988; 37:2495-2501
37. Xiao XM, Li LP. L-Arginine treatment for asymmetric fetal growth restriction. *Int J Gynecol Obstet* 2005;88:15-8
38. Lyall F, Greer IA, Young A, Myatt L. Nitric oxide concentrations are increased in the fetoplacental circulation in intrauterine growth restriction. *Placenta* 1996;17:165-8
39. Sieroszewski P, Suzin J, Karowicz-Billinska A. Ultrasound evaluation of intra uterine growth restriction therapy by a nitric oxide donor (L-Arginine). *J Matern Fetal Neonatal Med* 2004;15:363-6.
40. Espinoza J, Romero R, Nien JK, et al; Identification of patients at risk for early onset and/or severe preeclampsia with the use of uterine artery Doppler velocimetry and placental growth factor. *Am J Obstet Gynecol* 2007;196:326.e1-13.
41. Villar J, Carroli G, Wojdyla D, et al Preeclampsia, gestational hypertension and intrauterine growth restriction, related or independent conditions? *Am J Obstet Gynecol.* 2006;194:921-31.
42. Yallampalli G, Garfield RE. Inhibition of Nitric oxide synthesis during pregnancy produces signs similar to those of preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol.* 1993;169:1316-1320
43. Zimmermann P, Eiriö V, Koskinen J, Kujansuu E, Ranta T. Doppler assessment of the uterine and uteroplacental circulation in the second trimester in pregnancies at high risk for pre-eclampsia and/or intrauterine growth retardation: comparison and correlation between different Doppler parameters; *Ultrasound Obstet Gynecol.* 1997;9:330-8

44. Rytlewski K, Olszanecki R, Lauterbach R, Grzyb A, Basta A. Effects of oral L-arginine on the foetal condition and neonatal outcome in preeclampsia: a preliminary report. *Basic Clin Pharmacol Toxicol*. 2006;99:146-52
45. Lees C, E Langford, AS Brown, A de Belder, A Pickles, JF Martin, and S Campbell The effects of S-nitrosoglutathione on platelet activation, hypertension, and uterine and fetal Doppler in severe preeclampsia. *Obstet Gynecol*. 1996;88:14-19
46. Thaler I, Amit A, Kamil D, Itskovitz-Eldor J. The effect of isosorbide dinitrate on placental blood flow and maternal blood pressure in women with pregnancy induced hypertension. *Am J Hypertens*. 1999;12:341-347
47. Bryan NS, Grisham MB ;Methods to detect nitric oxide and its metabolites in biological samples. *Free Radic Biol Med*. 2007;43:645-57
48. Thaete LG, Kushner DM, Dewey ER, Neerhof MG, Endothelin and the regulation of uteroplacental perfusion in nitric oxide synthase inhibition-induced fetal growth restriction. *Placenta*. 2005;26:242-250.
49. Van de Poll MC, Ligthart-Melis GC, Boelens PG, Deutz NE, van Leeuwen PA, Dejong CH. Intestinal and hepatic metabolism of glutamine and citrulline in humans. *J Physiol*. 2007; 581:819-27
- 50- Curis E, Nicolis I, Moinard C et al. Almost all about citrulline in mammals. *Amino acids*. 2005;29:177-205
51. Rougé C, Des Robert C, Robins A, Le Bacquer O, Volteau C, De La Cochetière MF, Darmaun D Manipulation of citrulline availability in humans. *Am J Physiol* 2007;293:G1061-7.
52. Moinard C, Nicolis I, Neveux N, Darquy S, Bénazeth S, Cynober L. Dose-ranging effects of citrulline administration on plasma amino acids and hormonal patterns in healthy subjects: the Citrudose pharmacokinetic study. *Br J Nutr* 2008;99:855-62.
- 53- Smith HA, Canter JA, Christian KG, et al Nitric oxide precursors and congenital heart surgery: a randomized controlled trial of oral citrulline. *J Thorac Cardiovasc Surg*. 2006;132:58-65.
- 54- Ishikawa T, Harada T, Koi H, Kubota T, Azuma H, Aso T. Identification of arginase in human placental villi. *Placenta*. 2007;28:133-8.
55. Paolini CL, Marconi AM, Ronzoni S, Di Noio M, Fennessey PV, Pardi G, Battaglia FC.). Placental transport of leucine, phenylalanine, glycine, and proline in intrauterine growth-restricted pregnancies. *J Clin Endocrinol Metab* 2001; 86:5427-32.
56. Grillo MA, Lanza A, Colombatto S. Transport of amino acids through the placenta and their role. *Amino acids* 2008;34:517-23.

57. Casanello P, Sobrevia L. Intrauterine growth retardation is associated with reduced activity and expression of the cationic amino acid transport systems y⁺/hCAT-1 and y⁺/hCAT-2B and lower activity of nitric oxide synthase in human umbilical vein endothelial cells. *Circ Res* 2002;91:127-34.
58. Savvidou M, Hingorani A, Tsikas D, Frölich J, Vallance P, Nicolaides K. Endothelial dysfunction and raised plasma concentrations of asymmetric dimethylarginine in pregnant women who subsequently develop pre-eclampsia. *Lancet* 361: 1511-7.
59. De Pace V, Chiossi G, Facchinetti F. Clinical use of nitric oxide donors and L-arginine in obstetrics. *J Matern Fetal Neonatal Med* 2007;20: 569-79.

IV- Conclusion et perspectives

Comme nous l'évoquons dans le chapitre discussion de l'article ci-dessus, de multiples hypothèses peuvent être invoquées pour expliquer l'absence d'effet de l'arginine dans notre essai clinique. Si l'arginine s'avère être inefficace dans notre étude, l'une des explications possible, outre une administration peut être trop tardive dans la grossesse, est que, apportée par voie orale, cet acide aminé arrive au foie par voie portale et est capté puis métabolisé de façon extensive par l'arginase hépatique : l'arginine, administrée *per os* échappe donc difficilement au territoire splanchnique, et est de ce fait, peu biodisponible pour la circulation périphérique (195).

Si l'on vise à augmenter la production de NO au cours des grossesses avec RCIU, une stratégie possible serait donc de chercher à shunter la voie de l'arginase en proposant une supplémentation par un autre acide aminé non essentiel, non incorporé dans les protéines, produit de façon endogène dans l'intestin comme la Citrulline qui est métabolisée dans le rein en L-arginine qui est ensuite libérée dans la veine rénale (196)

La citrulline, qu'elle soit endogène ou exogène, est le principal précurseur de l'arginine, et la conversion de citrulline en arginine se produit dans le rein, avec relargage dans la circulation systémique : ainsi l'apport oral de citrulline serait proche d'un apport d'arginine intraveineuse, puisque la citrulline échappe à l'extraction hépatique.

Des études récentes suggèrent en outre que la citrulline pourrait avoir, par elle même, un effet anabolisant sur la synthèse protéique musculaire dans certains modèles animaux de dénutrition, comme le rat âgé dénutri ou entérectomisé (197, 198). D'autres auteurs montrent que l'apport de citrulline améliore le bilan azoté chez l'homme adulte sain (199). Enfin, la citrulline a un effet favorable sur la pression artérielle des rates gestantes par l'intermédiaire de l'augmentation du NO (200)

L'équipe de nutrition du Pr Darmaun (UMR 1280) dispose d'un modèle animal de RCIU (induit par la restriction des apports protéiques chez la ratte gestante), qui pourrait être pertinent pour étudier l'effet d'un acide aminé comme la citrulline, possiblement médié par une modulation de la régulation du transfert placentaire des acides aminés.

Le projet à court terme serait d'étudier si une supplémentation en citrulline pendant la gestation permet d'atténuer ou de prévenir le RCIU induit par la restriction protéique prénatale chez la rate gestante ; et si c'était le cas, d'établir si cet effet est associé à une stimulation du transfert materno-fœtal d'acides aminés, et de la synthèse protéique tissulaire fœtale.

Le projet à plus long terme si l'effet de la citrulline est démontré sur le modèle animal de proposer un essai clinique multicentrique sur une population qu'il conviendra alors de bien analyser.

REFERENCES

- 1-Mamelle N, Munoz F, Grandjean H. Fetal growth from the AUDIPOG study. I. Establishment of reference curves. J Gynecol Obstet Biol Reprod. 1996; 25:61-70.
- 2-Vilain A, Peretti C de, Herbet JB; ENQUETE NATIONALE PERINATALE 2003 ; INSERM, Direction Générale de la Santé ; Enquête réalisée avec la participation des Services de Protection Maternelle et Infantile des Conseils Généraux, Février 2005
- 3-Gabriel R ; Le Retard de Croissance Intra Utérin ;Reproduction Humaine et Hormones, 1997, 10 : 561
- 4-Bernstein IM, Horbar JD, Badger GJ, Ohlsson A, Golan A Morbidity and mortality among very-low-birth-weight neonates with intrauterine growth restriction. The Vermont Oxford Network. Am J Obstet Gynecol 2000,182:198–206
- 5-Lee MJ, Conner EL, Charafeddine L, Woods JR Jr, Priore GD A critical birth weight and other determinants of survival for infants with severe intrauterine growth restriction. Ann N Y Acad Sci 2001; 943:326–339
- 6-Barker DJP, Bull AR, Osmond C, Silva PA; Fetal and placental size and risk of hypertension in adult life, Br Med J, 1990, 301 : 259-262
- 7-Sheppard BL, Bonnard J; An ultrastructural study of uteroplacental spiral arteries in hypertensive and normotensive pregnancy and foetal growth retardation; Br J Obstet Gynaecol, 1981, 88 : 695-705
- 8-Kurjak A, Kupesic S. Doppler assessment of the intervillous blood flow in normal and abnormal early pregnancy.Obstet Gynecol. 1997 ;89:252-6
- 9-Villar J, Carroli G, Wojdyla D, Preeclampsia, gestational hypertension and intrauterine growth restriction, related or independent conditions? Am J Obstet Gynecol. 2006;194:921-31
- 10-Uzan S, Beaufils M, Breart G, Bazin B, Capitant C, Paris J; Prevention of foetal growth retardation with low-dose aspirin. Lancet, 1991, 337 : 1427-1431
- 11-Clasp : A randomised trial of low-dose aspirin for the prevention and treatment of pre-eclampsia among 9364 pregnant women; Lancet, 1994, 343 : 619-29
- 12-Caritis S, Sibai B, Thurnau G; Low dose aspirin to prevent preeclampsia in women at high risk. N Engl J Med, 1998, 338 : 701-705
- 13-Knight M, Duley L, Henderson-Smart D, King J. Antiplatelet agents for preventing and treating pre-eclampsia. In: Cochrane Collaboration: *Cochrane Library*. Issue 3. Oxford: Update Software, 2000.

14-Azar R, Turpin D ; La fibronectine plasmatique : marqueur de l'hypertension gravidique

J Gynecol Biol Reprod, 1989, 7 : 863-866

15-Pignot S, Busine A; La fibronectine : marqueur précoce de la prééclampsie ; J Gynecol Biol Reprod, 1989, 7 : 867-870

16-Kingdom JCP, Mc Queen J, Ryan G, Connell JMC, Whittle MJ; Foetal vascular atrial natriuretic peptide receptors in human placenta : alteration in intrauterine growth retardation and pre-eclampsia. Am J Obstet Gynecol, 1994, 170 : 142-147

17-Valcamonico A, Accorsi P, Sanzeni C et al; Mid- and long-term outcome of extremely low birth weight (ELBW) infants: an analysis of prognostic factors; J Matern Fetal Neonatal Med. 2007;20:465-71

18-Mamelle N, Laumon B, Verney D, Martin JL, Dargent D, Dreyfus J, Charvet F, Pontonnier G, Dubois O. Variations in birth weight as a function of various fetal and maternal characteristics. The application to the diagnosis of hypotrophy] Arch Fr Pediatr. 1986;43:311-6.

19- Osmond C, Barker D.J.P.; Fetal, Infant, and Childhood Growth Are Predictors of Coronary Heart Disease, Diabetes, and Hypertension in Adult Men and Women; Environ Health Perspect , 2000; 108:545-553

20.Thompson JN. Fetal nutrition and adult hypertension, diabetes, obesity, and coronary artery disease. Neonatal Netw. 2007;26:235-40

21-Frankel S, Elwood P, Sweetnam P, Yarnell J, Davey Smith G; Birthweight, body-mass index in middle age, and incident coronary, heart disease. Lancet 1996, 348:1478-1480

22-Lucas A, Morley R, Cole TJ, et al ; Early diet in preterm babies and developmental status at 18 months. Lancet. 1990;335:1477-

23-Pieltain C, Habibi F, Rigo J. Early nutrition, postnatal growth retardation and outcome of VLBW infants; Arch Pediatr. 2007;14:S11-5

24-Porcelli Jr PJ, Sisk PM.Increased parenteral amino acid administration to extremely low-birth-weight infants during early postnatal life. J Pediatr Gastroenterol Nutr. 2002;34:174-9

25-Cnossen JS, Morris RK, ter Riet G, et al Use of uterine artery Doppler ultrasonography to predict pre-eclampsia and intrauterine growth restriction: a systematic review and bivariable meta-analysis. CMAJ. 2008;178:701-11

- 26-McLeod L. How useful is uterine artery Doppler ultrasonography in predicting pre-eclampsia and intrauterine growth restriction? *CMAJ*. 2008;178:727-9
- 27-Ferré F, Régulation de la circulation fœtale placentaire. *Gyn Obstet Fertil* : 2001,29: 512-517
- 28-Myatt L ; Control of vascular resistance in the human placenta. *Placenta* 1992, **13**: 329–341
- 29-Michiels C, Arnould T, Remacle J. Endothelial cell responses to hypoxia : initiation of a cascade of cellular interactions. *Biochim Biophys Acta* 2000 ; 1497 : 1-10.
- 30-Jaffe R, Jauniaux E, Hustin J, Maternal circulation in the first-trimester human placenta. Myth or reality ?. *Am J Obstet Gynecol* 1997;176: 695–705
- 31-Sabry S., Mondon F., Levy M., Ferré F, Dinh-Xuan A.T., Endothelial modulation of vasoconstrictor responses to endothelin-1 in human placental stem villi small arteries. *Br J Pharmacol* 1995, 115: 1038–1042
- 32-Gude N.M., Boura A.L.A., King R.G., Brennecke S.P., Jamal O.S., Smith E. , W.A.W. Walters , Evidence for inhibition by endothelium-derived relaxin factor of thromboxane A2 receptor-mediated vasoconstriction in the fetal vessels of the human perfused placenta. *Placenta* 1992, **13** :597–605.
- 33-Sabry, F. Mondon, F. Ferré and A.T. Dinh-Xuan , In vitro contractile and relaxant responses of human resistance placental stem villi arteries of healthy parturients : role of endothelium. *Fundam Clin Pharmacol* 1995 ; 9 :46–51
- 34-Donoghue JF., Leitch IM., Boura AL., Walters WA, Giles WB., Smith R., Read MA., Fetal placental vascular responses to corticotropin-releasing hormone in vitro. Effects of variation in oxygen tension. *Placenta* 2000 ;21: 711–717
- 35-Sabry S, Rôle des facteurs vasoactifs non prostanoïdes dérivés de l'endothélium : (NO et ETs) dans la modulation du tonus vasculaire placentaire au cours de la grossesse normale [thèse 1995], Université Paris V
- 36-Dekker G.A., Sibai B.M; Etiology and pathogenesis of preeclampsia : Current concepts. *Am. J Obstet Gynecol* 1998, 179:1359–1375
- 37-Neilson JP, Alfirevic Z;. Doppler ultrasound for fetal assessment in high risk pregnancies. *Cochrane Database Syst Rev*. 2000;CD000073
- 38-Campbell S., Pearce J., Hackett G., Cohen-Overbeek T. : Qualitative assessment of utero-placental blood flow : early screening test for high risk pregnancies. *Obstet. Gynecol.*, 1986, 68:649-653.

- 39-Jacobson S.L., Imhof R., Manning N. : The value of Doppler assessment of the uteroplacental circulation in predicting pre-eclampsia or intrauterine growth retardation. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 1990, 162, 110-114.
- 40-Xiao XM, Li LP. L-Arginine treatment for asymmetric fetal growth restriction. *Int J Gynecol Obstet* 2005; 88:15-8
- 41-Zimmermann P, Eiriö V, Koskinen J, Kujansuu E, Ranta T. Doppler assessment of the uterine and uteroplacental circulation in the second trimester in pregnancies at high risk for pre-eclampsia and/or intrauterine growth retardation: comparison and correlation between different Doppler parameters; *Ultrasound Obstet Gynecol.* 1997; 9:330-8
- 42-Martin AM, Bindra R, Curcio P, Cicero S, Nicolaides KH. Screening for pre-eclampsia and fetal growth restriction by uterine artery Doppler at 11-14 weeks of gestation. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2001 ;18:583-6
- 43-Harrington K, Carpenter RG, Goldfrad C, Campbell S. Transvaginal Doppler ultrasound of the uteroplacental circulation in the early prediction of pre-eclampsia and intrauterine growth retardation *Br J Obstet Gynaecol.* 1997 ;104:674-81.
- 44-Moncada S, Radomski MW, Palmer RM. Endothelium-derived relaxing factor identification as nitric oxide and role in the control of vascular tone and platelet function. *Biochem Pharmacol.* 1988; 37:2495-2501
- 45-Calver A, Collier J, Vallance P. Nitric oxide and cardiovascular control. *Exp Physiol.* 1993;78:303-26.
- 46-Sennequier N, Vadon Le Goff S, Biosynthèse du monoxyde d'azote (NO) : Mécanisme, régulation et contrôle ; *Medecine /Sciences* 1998 ; 14 :1185-1195
- 47-Palmer RMJ, Rees DD, Ashton DS, Moncada S. (1988 b). L-Arginine is the physiological precursor for the formation of nitric oxide in endothelium-dependent relaxation. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 153, 1251-1256.
- 48- Kröncke KD, Fehsel K, Suschek C, Kolb-Bachofen V. Inducible nitric oxide synthase-derived nitric oxide in gene regulation, cell death and cell survival. *Int immunopharmacol* 2001 ,1: 1407-20
- 49-Shimabukuro M, Ohneda M, Lee Y, Unger RH ; Role of nitric oxide in obesity-induced beta cell disease. *J Clin Invest* 1997 ; 100: 290-295
- 50-Morris NH, Sooranna SR, Larmont JG, Poston L, Ramsey B, Pearson JD, Steer PJ ; Nitric oxide synthetase activities in placental tissue from normotensive, pre-eclamptic and growth retarded pregnancies; *Br J Obstet Gynecol*, 1995, 102: 711-714

- 51-Noyman I, Marikovsky M, Sasson S, Stark AH, Bernath K, Seger R, Madar Z.; Hyperglycemia reduces nitric oxide synthase and glycogen synthase activity in endothelial cells, Nitric oxide 2002;7: 187-193
- 52-Yallampalli G, Garfield RE; Inhibition of Nitric oxide synthesis during pregnancy produces signs similar to those of preeclampsia; Am J Obstet Gynecol, 1993, 169: 1316-20
- 53-Molnar M, Suto T, Toth T, Hertelendy F; Prolonged Blocage of nitric oxide synthesis in gravid rats produces sustained hypertension, proteinuria, thrombocytopenia and intra-uterine growth retardation. Am J Obstet Gynecol. 1994 ;170:1458-66
- 54-Diket AL, Pierce MR, Munshi UK et al ; Nitric oxide inhibition causes intrauterine growth retardation and hind-limb disruptions in rats. Am J Obstet Gynecol, 1994, 171: 1243-50
- 55-Westberg Gunnar, Shultz PJ, Raij L; Exogenous nitric oxide prevents endotoxin-induced glomerular thrombosis in rats ; Kidney International, 1994, 46: 711-716
- 56-Boulanger H, Boulanger R, Colau JC, Pruna A ; Improvement of a toxaemic pregnancy with Molsidomine, a nitric oxide donor ; Nephrol Dial Transplant, 1996, 11: 391-404
- 57-Lyall F, Greer IA, Young A, Myatt L; Nitric oxide concentrations are increased in the fetoplacental circulation in intrauterine growth restriction; Placenta, 1996, 17: 165-168
- 58-Neri I, Mazza V, Galassi C, Volpe A, Facchinetti; Effects of L-Arginine on utero-placental circulation in growth-retarded fetuses ; Acta Obstet Gynecol Scand, 1996, 75: 208-212
- 59-Myatt L, Brewer A, Brockman DE; The action of nitric oxide in the perfused human fetal-placental circulation ; Am J Obstet Gynecol, 1991, 164: 687-92
- 60-Giles W, O'Callaghan S, Bourra A, Walter W; Reduction in human fetal umbilical-placental vascular resistance by glyceryl trinitrate ; Lancet, 1992, 340: 856
- 61-Ramsay B, De Belder A, Campbell S, Moncada S, Martin JF; A Nitric oxide donor improves uterine artery diastolic blood flow in normal early pregnancy and in women at high risk of preeclampsia; Eur J Clin Invest, 1994, 24: 76-8
- 62-Boulanger H, Berkane N, Pruna A; Rôle du monoxyde d'azote (NO) dans la grossesse et dans la prééclampsie ; Néphrologie, 1997, 18 : 81-90
- 63-Clarkson P, Adams MR, Powe AJ, Donald AE, Mc Credie R, Robinson J, Mc Carthy SN, Keech A, Celermajer DS, Deanfield JE ; Oral L-Arginine improves Endothelium-dependent Dilatation in hypercholesterolemic young adults; J Clin Invest, 1996, 97 : 1989-1994
- 64-Chindusting JPF, Kaye DM, Lefkovits J, Wong J, Bergin P, Jennings GLR; Dietary supplementation with L-Arginine fails to restore endothelial function in forearm resistance arteries of patients with severe heart failure; J. Am Coll Cardiology, 1996, 27: 1207-13

- 65-Chindusting JPF, Alexander CT, Arnold PJ, Hodgson WC, Lux AS, Jennings GLR; Effects of in vivo and in vitro L-Arginine supplementation on healthy human vessels; *J Cardiovasc Pharmacol*, 1996, 28 : 158-166
- 66- Schulman SP, Becker LC, Kass DA, et al , L-arginine therapy in acute myocardial infarction: the Vascular Interaction With Age in Myocardial Infarction (VINTAGE MI) randomized clinical trial. *JAMA*. 2006;295:58-64
- 67-Stein Z, Susser M, The Dutch famine, 1944-1945, and the reproductive process. II. Interrelations of caloric rations and six indices at birth. *Pediatr Res* 1975; 9:70-83
- 68-Wu G, Bazer FW, Wallace JM, Spencer TE. Board-invited review: intrauterine growth retardation: implications for the animal sciences. *J Anim Sci*. 2006;84:2316-37
- 69-Wu G, Bazer FW, Datta S, Johnson GA, Li P, Satterfield MC, Spencer TE. Proline metabolism in the conceptus: implications for fetal growth and development. *Amino Acids*. 2008. [Epub ahead of print]
- 70-Victora CG, Adair L, Fall C, Hallal PC, Martorell R, Richter L, Sachdev HS; Maternal and Child Undernutrition Study Group. Maternal and child undernutrition: consequences for adult health and human capital. *Lancet*. 2008 ;371:340-57.
- 71-De Boo HA., Van Zijl PL, Smith DEC, Kulik W, Lafeber HN, Harding JE.; Arginine and Mixed Amino Acids Increase Protein Accretion in the Growth-Restricted and Normal Ovine Fetus by Different Mechanisms; *Pediatr Res* 200558:270–277,
- 72-Pencharz PB, Masson M, Desgranges F, Papageorgiou A Total-body protein turnover in human premature neonates: effects of birth weight, intra-uterine nutritional status and diet. *Clin Sci (Lond)* 1981;61:207–215
- 73-Kandil H, Darwish O, Hammad S, Zagloul N, Halliday D, Millward J. Nitrogen balance and protein turnover during the growth failure in newly born low-birth-weight infants. *Am J Clin Nutr*. 1991;53:1411-7
- 74-Van Goudoever JB, Sulkers EJ, Halliday D, Degenhart HJ, Carnielli VP, Wattimena JL, Sauer PJ Whole-body protein turnover in preterm appropriate for gestational age and small for gestational age infants: comparison of [15N]glycine and [1-(13)C]leucine administered simultaneously. *Pediatr Res* 1995; 37:381–388
- 75-Regnault TR, Friedman JE, Wilkening RB, Anthony RV, Hay WW Jr; Fetoplacental transport and utilization of amino acids in IUGR--a review; *Placenta*. 2005 ;26 :S52-62

- 76-Cetin I, Corbetta C, Sereni LP, Marconi AM, Bozzetti P, Pardi G, Battaglia FC. Umbilical amino acid concentrations in normal and growth-retarded fetuses sampled in utero by cordocentesis. *Am J Obstet Gynecol.* 1990 ;162:253-61
- 77-Cetin I, Ronzoni S, Marconi AM et al ; Maternal concentrations and fetal-maternal concentration differences of plasma amino acids in normal and intrauterine growth-restricted pregnancies. *Am J Obstet Gynecol.* 1996 ;174:1575-83
- 78-Cetin I, Marconi AM, Bozzetti P, Sereni LP, Corbetta C, Pardi G, Battaglia FC ; Umbilical amino acid concentrations in appropriate and small for gestational age. infants: a biochemical difference present in utero. *Am J Obstet Gynecol* 1988;158:120–126
- 79-Herrmann W, Hübner U, Koch I, Obeid R, Retzke U, Geisel J. Alteration of homocysteine catabolism in pre-eclampsia, HELLP syndrome and placental insufficiency. *Clin Chem Lab Med.* 2004;42:1109-16.
- 80-Walker MC, Smith GN, Perkins SL, Keely EJ, Garner PR. Changes in homocysteine levels during normal pregnancy. *Am J Obstet Gynecol.* 1999 ;180:660-4.
- 81-Steegers-Theunissen RP, Van Iersel CA, Peer PG, Nelen WL, Steegers A. Hyperhomocysteinemia, pregnancy complications, and the timing of investigation. *Obstet Gynecol.* 2004 ;104:336-43
- 82-Malinow MR, Rajkovic A, Duell PB, Hess DL, Upson BM. The relationship between maternal and neonatal umbilical cord plasma homocysteine suggests a potential role for maternal homocysteine in fetal metabolism. *Am J Obstet Gynecol.* 1998 ;178:228-33.
- 83-Marconi AM, Battaglia FC, Meschia G, Sparks JW. A comparison of amino acid arteriovenous differences across the liver and placenta of the fetal lamb. *Am J Physiol.* 1989;257:E909-15.
- 84-Chung M, Teng C, Timmerman M, Meschia G, Battaglia FC Production and utilization of amino acids by ovine placenta in vivo *Am J Physiol.* 1998 ;274:E13-22..
- 85-Battaglia FC, Regnault TR.; Placental transport and metabolism of amino acids. *Placenta.* 2001;22:145-61
- 86-Yudilevich DL, Sweiry JH. Transport of amino acids in the placenta. *Biochimica et Biophysica Acta* 1985;822:169-201.
- 87-Jansson T, Powell TL. Human placental transport in altered fetal growth: does the placenta function as a nutrient sensor? e A review. *Placenta* 2006;27:91e7.

- 88-Sibley C, D'Souza S, Glazier J, Greenwood S. Mechanisms of solute transfer across the human placenta: effects of intrauterine growth restriction. *Fetal and Maternal Medicine Review* 1998;10:197e206.
- 89-Mahendran D, Donnai P, Glazier JD, D'Souza SW, Boyd RD, Sibley CP . Amino acid (system A) transporter activity in microvillous membrane vesicles from the placentas of appropriate and small for gestational age babies. *Pediatr Res* 1993;34, 661–665.
- 90-Ayuk PT-Y, Sibley CP, Donnai P, D'Souza S, Glazier JD. Development and polarization of cationic amino acid transporters and regulators in the human placenta. *American Journal of Physiology e Cell Physiology* 2000;278:C1162e71.
- 91-Jansson T, Powell TL. Placental nutrient transfer and fetal growth. *Nutrition* 2000; 16, 500–502.
- 92-Jansson N, Pettersson J, Haafiz A, Ericsson A, Palmberg I, Tranberg M, et al. Down-regulation of placental transport of amino acids precedes the development of intrauterine growth restriction in rats fed a low protein diet. *Journal of Physiology* 2006;576:935e46.
- 93-Jones H.N. Powell TL, Jansson T. Regulation of placental nutrient transport-a review.; *Placenta* 2007 ; 28, 763-774
- 94-Desforges M, Lacey HA, Glazier JD, Greenwood SL, Mynett KJ, Speake PF & Sibley CP; SNAT4 isoform of system A amino acid transporter is expressed in human placenta. *Am J Physiol Cell Physiol* , 2006;290, C305–C312.
- 95-Gluckman PD, Gunn AJ, Wray A, et al. Congenital idiopathic growth hormone deficiency associated with prenatal and early postnatal growth failure. The International Board of the Kabi Pharmacia International Growth Study *J Pediatr.* 1992;121:920-3.
- 96-Chard T. Insulin-like growth factors and their binding proteins in normal and abnormal fetal growth. *Growth Regulation* 1994;4:91e100.
- 97-Lassarre C, Hardouin S, Daffos F, Forestier F, Frankenne F, Binoux M. Serum insulin-like growth factors and insulin-like growth factor binding proteins in the human fetus. Relationships with growth in normal subjects and in subjects with intrauterine growth retardation. *Pediatr Res.* 1991;29:219-25.
- 98-Arosio M, Cortelazzi D, Persani L, Palmieri E, Casati G, Baggiani AM, Gambino G, Beck-Peccoz P. Circulating levels of growth hormone, insulin-like growth factor-I and prolactin in normal, growth retarded and anencephalic human fetuses. *J Endocrinol Invest.* 1995 ;18:346-53
- 99-Leger J, Oury JF, Noel M, Baron S, Benali K, Blot P, Czernichow P. Growth factors and intrauterine growth retardation. I. Serum growth hormone, insulin-like growth factor (IGF)-I, IGF-

- II, and IGF binding protein 3 levels in normally grown and growth-retarded human fetuses during the second half of gestation. *Pediatr Res.* 1996 ;40:94-100
- 100-Holmes R, Montemagno R, Jones J, Preece M, Rodeck C, Soothill P.; Fetal and maternal plasma insulin-like growth factors and binding proteins in pregnancies with appropriate or retarded fetal growth. *Early; Human Development* 1997;49:7e17.
- 101-Liu JP, Baker J, Perkins AS, Robertson EJ, Efstratiadis A. Mice carrying null mutations of the genes encoding insulin-like growth factor I (Igf-1) and type 1 IGF receptor (Igf1r). *Cell.* 1993 ;75:59-72
- 102-Strimpakos A , Saif MW, Syrigos KN. Pancreatic cancer: from molecular pathogenesis to targeted therapy. *Cancer Metastasis Rev.* 2008 [Epub ahead of print]
- 103-Vega F, Medeiros LJ, Leventaki V, Atwell C, Cho-Vega JH, Tian L, Claret FX, Rassidakis GZ. Activation of mammalian target of rapamycin signaling pathway contributes to tumor cell survival in anaplastic lymphoma kinase-positive anaplastic large cell lymphoma.; *Cancer Res.* 2006 ;66:6589-97.
- 104-Roos S, Jansson N, Palmberg I, Säljö K, Powell TL, Jansson T. Mammalian target of rapamycin in the human placenta regulates leucine transport and is down-regulated in restricted fetal growth. *J Physiol.* 2007 ;582:449-59. 2007
- 105-Jacinto E & Hall MN . Tor signalling in bugs, brain and brawn.*Nat RevMol Cell Biol* 2003, 4, 117–126.
- 106-Wullschleger S, Loewith R & Hall MN. TOR signaling in growth and metabolism. *Cell* 2006, 124, 471–484.
- 107-Du M, Zhu MJ, Means WJ, Hess BW, Ford SP. Nutrient restriction differentially modulates the mammalian target of rapamycin signaling and the ubiquitin-proteasome system in skeletal muscle of cows and their fetuses. *J Anim Sci.* 2005;83:117-23.
- 108-Meijer AJ, Dubbelhuis PF. Amino acid signalling and the integration of metabolism. *Biochem Biophys Res Commun.* 2004;313: 397-403
- 109-Christensen HN ; Amino acid nutrition across the placenta.; *Nutr Rev.* 1992 ;50:13-5
- 110-Wu G, Meininger CJ et al; Arginine nutrition and cardiovascular function ; *J Nutr* 2000; 130: 2626-2629
- 111-Luc Cynober, Les pharmaconutriments azotés :du tube à essai à la pratique clinique . *Nutr Clin Metabol* 2001 ;15 : 131-143
- 112-Leonard JV The nutritional management of urea cycle disorders. *J Pediatr*; 2001 138:S40–S44

- 113-Mori M. Regulation of nitric oxide synthesis and apoptosis by arginase and arginine recycling ; J Nutr. 2007;137:1616S-1620S
- 114-Ness RB, Sibai BM. Shared and disparate components of the pathophysiologies of fetal growth restriction and preeclampsia. American Journal of Obstetrics and Gynecology 2006;195:40e9.
- 115-Darmaun D; Quels apports azotés spécifiques au cours de l'agression ? Nutr Clin Metabol, 1998, 12: 137-144
- 116-Meher S, Duley L.Nitric oxide for preventing pre-eclampsia and its complications. Cochrane Database Syst Rev. 2007;CD006490
- 117-Bronte V, Zanovello P. Regulation of immune responses by L-arginine metabolism. Nat Rev Immunol. 2005;5:641-54.
- 118-Feun L, You M, Wu CJ, Kuo MT, Wangpaichitr M, Spector S, Savaraj N. Arginine deprivation as a targeted therapy for cancer. Curr Pharm Des. 2008;14:1049-57.
- 119-Popovic PJ, Zeh HJ 3rd, Ochoa JB. Arginine and immunity. J Nutr. 2007;137:1681S-1686S
- 120-Jansen A, Lewis S, Cattell V, Cook HT. Arginase is a major pathway of L-arginine metabolism in nephritic glomeruli. Kidney Int. 1992;42:1107-12.
- 121-Cook HT, Jansen A, Lewis S, Largen P, O'Donnell M, Reaveley D, Cattell V.Arginine metabolism in experimental glomerulonephritis: interaction between nitric oxide synthase and arginase. Am J Physiol. 1994;267:F646-53
- 122-Mohan IK, Das UN. Effect of L-arginine-nitric oxide system on chemical-induced diabetes mellitus. Free Radic Biol Med. 1998 ;25:757-65.
- 123-El-Missiry MA, Othman AI, Amer MA.L-Arginine ameliorates oxidative stress in alloxan-induced experimental diabetes mellitus. J Appl Toxicol. 2004 ;24:93-7.
- 124-Romero MJ, Platt DH, Tawfik HE et al ; Diabetes-induced coronary vascular dysfunction involves increased arginase activity. Circ Res. 2008 ;102:95-102.
- 125-Belabed L, Senon G, Blanc MC, Paillard A, Cynober L, Darquy S. The equivocal metabolic response to endotoxaemia in type 2 diabetic and obese ZDF rats. Diabetologia. 2006 ;49:1349-59.
- 126-Wang J, Sim AS, Wang XL, Salonikas C, Naidoo D, Wilcken DE.Relations between plasma asymmetric dimethylarginine (ADMA) and risk factors for coronary disease.Atherosclerosis. 2006 ;184:383-8.
- 127-Lu TM, Ding YA, Charng MJ, Lin SJ.Asymmetrical dimethylarginine: a novel risk factor for coronary artery disease.Clin Cardiol. 2003;26:458-64

128-Tarnow L, Hovind P, Teerlink T, Stehouwer CD, Parving HH. Elevated plasma asymmetric dimethylarginine as a marker of cardiovascular morbidity in early diabetic nephropathy in type 1 diabetes. *Diabetes Care*. 2004; 27:765-9.

129-Arikan E, Karadag CH, Guldiken S. Asymmetric dimethylarginine levels in thyroid diseases. *J Endocrinol Invest*. 2007;30:186-91

130-Hermenegildo C, Medina P, Peiró M, Segarra G, Vila JM, Ortega J, Lluch S. Plasma concentration of asymmetric dimethylarginine, an endogenous inhibitor of nitric oxide synthase, is elevated in hyperthyroid patients. *J Clin Endocrinol Metab*. 2002;87:5636-40

131-Cave MC, Hurt RT, Frazier TH, Matheson PJ, Garrison RN, McClain CJ, McClave SA. Obesity, inflammation, and the potential application of pharmaconutrition. *Nutr Clin Pract*. 2008;23:16-34.

132-Creager MA, Gallagher SJ, Girerd XJ, Coleman SM, Dzau VJ, Cooke JP. L-arginine improves endothelium-dependent vasodilation in hypercholesterolemic humans. *J Clin Invest* 1992;90:1248–1253.

133-Päivä H, Lehtimäki T, Laakso J, Ruukonen I, Tervonen R, Metso S, Nikkilä M, Wuolijoki E, Laaksonen R. Dietary composition as a determinant of plasma asymmetric dimethylarginine in subjects with mild hypercholesterolemia. *Metabolism*. 2004;53:1072-5

134-Farreras N, Artigas V, Cardona D, Rius X, Trias M, González JA. Effect of early postoperative enteral immunonutrition on wound healing in patients undergoing surgery for gastric cancer. *Clin Nutr*. 2005; 24:55-65

135-Witte MB, Vogt N, Stuelten C, Gotoh T, Mori M, Becker HD. Arginase acts as an alternative pathway of L-arginine metabolism in experimental colon anastomosis. *J Gastrointest Surg*. 2003 ;7:378-85

136-Bernard AC, Mistry SK, Morris SM Jr, et al . Alterations in arginine metabolic enzymes in trauma. *Shock*. 2001;15:215-9.

137-Müller I, Hailu A, Choi BS, Abebe T, Fuentes JM, Munder M, Modolell M, Kropf P. Age-related alteration of arginase activity impacts on severity of leishmaniasis. *PLoS Negl Trop Dis*. 2008 14;2:e235.

138-Klein S, Kinney J, Jeejeebhoy K, et al. Nutrition support in clinical practice: review of published data and recommendations for future research directions. *JPEN J Parenter Enteral Nutr* 1997;21:133–56.

- 139-Braga M, Gianotti L, Vignali A, Carlo VD. Preoperative oral arginine and n-3 fatty acid supplementation improves the immunometabolic host response and outcome after colorectal resection for cancer. *Surgery*. 2002;132:805-14
- 140-Van Bokhorst-De Van Der Schueren MA, Quak JJ, von Blomberg-van der Flier BM, Kuik DJ, Langendoen SI, Snow GB, Green CJ, van Leeuwen PA ; Effect of perioperative nutrition, with and without arginine supplementation, on nutritional status, immune function, postoperative morbidity, and survival in severely malnourished head and neck cancer patients. *Am J Clin Nutr* 2001;73:323–32.
- 141-Schutz T, Valentini L, Herbst B, Lochs H. European Society for Clinical Nutrition and Metabolism, ESPEN guidelines on enteral nutrition.; *Z Gastroenterol*. 2006;44:683–4.
- 142-Mariette C, Alves A, Benoist S, Bretagnol F, Mabrut JY, Slim K. ; Perioperative care in digestive surgery. Guidelines for the French society of digestive surgery (SFCD); *Ann Chir*. 2005 ;130:108-24
- 143-Weimann A, Braga M, Harsanyi L, et al; ESPEN (European Society for Parenteral and Enteral Nutrition) ESPEN Guidelines on Enteral Nutrition: Surgery including organ transplantation. *Clin Nutr*. 2006;25:224-44
- 144-Beyer J, Kolditz M, Ewert R, Rubens C, Opitz C, Schellong S, Hoeffken G, Halank M. L-arginine plasma levels and severity of idiopathic pulmonary arterial hypertension. *Vasa*. 2008;37:61-7.
- 145-Morris CR, Kato GJ, Poljakovic M, Wang X, Blackwelder WC, Sachdev V, Hazen SL, Vichinsky EP, Morris SM Jr, Gladwin MT. Dysregulated arginine metabolism, hemolysis-associated pulmonary hypertension, and mortality in sickle cell disease. *JAMA*. 2005 ;294:81-90.
- 146-Morris CR, Morris SM Jr, Hagar W, Van Warmerdam J, Claster S, Kepka-Lenhart D, Machado L, Kuypers FA, Vichinsky EP Arginine therapy: a new treatment for pulmonary hypertension in sickle cell disease? *Am J Respir Crit Care Med*. 2003 ;168:63-9.
- 147-Wilcken DE, Sim AS, Wang J, Wang XL. Asymmetric dimethylarginine (ADMA) in vascular, renal and hepatic disease and the regulatory role of L-arginine on its metabolism. *Mol Genet Metab*. 2007 ;91:309-17
- 148-Speer PD, Powers RW, Frank MP, Harger G, Markovic N, Roberts JM. Elevated asymmetric dimethylarginine concentrations precede clinical preeclampsia, but not pregnancies with small-for-gestational-age infants. *Am J Obstet Gynecol* 2008;198:112.e1-112.e7.

- 149-Pluta RM, Oldfield EH. Analysis of nitric oxide (NO) in cerebral vasospasm after aneurysmal bleeding. *Rev Recent Clin Trials*. 2007;2:59-67.
- 150-Chromiak JA, Antonio J. Use of amino acids as growth hormone-releasing agents by athletes. *Nutrition* 2002;18:657-661.
- 151-Santos RS, Pacheco MTT, Martins RABL, Villaverde AB, et al. Study of the effect of oral administration of L-arginine on muscular performance in healthy volunteers: an isokinetic study. *Isokinetics and Exercise Science* 2002;10:153-158.
- 152-Campbell BI, La Bounty PM, Roberts M. The Ergogenic Potential of Arginine. *J Int Soc Sports Nutr*. 2004 ; 31:35-38.
- 153-Chwalisz K, Garfield RE. Nitric oxide as the final metabolic mediator of cervical ripening. *Hum Reprod*. 1998;13:245-8.
- 154-Norman JE, Thomson AJ, Greer IA. Cervical ripening after nitric oxide. *Hum Reprod*. 1998;13:251-2.
- 155-Tschugguel W, Schneeberger C, Lass H, Stonek F, Zaghlula MB, Czerwenka K, Schatten C, Kaider A, Husslein P, Huber JC. Human cervical ripening is associated with an increase in cervical inducible nitric oxide synthase expression. *Biol Reprod*. 1999;60:1367-72.
- 156-Ledingham MA, Thomson AJ, Young A, Macara LM, Greer IA, Norman JE. Changes in the expression of nitric oxide synthase in the human uterine cervix during pregnancy and parturition. *Mol Hum Reprod*. 2000;6:1041-8.
- 157-Facchinetti F, Piccinini F, Volpe A. Chemical ripening of the cervix with intracervical application of sodium nitroprusside: a randomized controlled trial. *Hum Reprod*. 2000;15:2224-7.
- 158 Thomson, A.J., Lunan, C.B., Ledingham, M. et al. Randomised trial of nitric oxide donor versus prostaglandin for cervical ripening before first-trimester termination of pregnancy. *Lancet* 1998, 352: 1093–1096
- 159 Chanrachakul B., Herabutya Y., Punyavachira P., Randomized comparison of glycerol trinitrate and prostaglandin E2 for cervical ripening at term, *Obstet Gynecol* 2000; 96:139–145.
- 160-Bullarbo M, Orrskog ME, Andersch B, Granström L, Norström A, Ekerhovd E. Outpatient vaginal administration of the nitric oxide donor isosorbide mononitrate for cervical ripening and labor induction postterm: a randomized controlled study. *Am J Obstet Gynecol*. 2007;196:50.e1-5.
- 161-Radulovic N, Norström A, Ekerhovd E. Outpatient cervical ripening before first-trimester surgical abortion: a comparison between misoprostol and isosorbide mononitrate. *Acta Obstet Gynecol Scand*. 2007;86:344-8.

- 162-Farina M, Ribeiro ML, Franchi A; Nitric oxide synthases in pregnant rat uterus. *Reproduction*. 2001;121:403-7.
- 163-Tiboni GM, Giampietro F. Inhibition of nitric oxide synthesis causes preterm delivery in the mouse. *Hum Reprod*. 2000;15:1838-42.
- 164-Smith GN, Brien JF. Use of nitroglycerin for uterine relaxation. *Obstet Gynecol Surv*. 1998;53:559-65.
- 165-Abouleish AE, Corn SB. Intravenous nitroglycerin for intrapartum external version of the second twin. *Anesth Analg* 1994;78:808–809.
- 166-Wessen A, Elowsson P, Axemo P, Lindberg B. The use of intravenous nitroglycerin for emergency cervico-uterine relaxation. *Acta Anesthesiol Scand* 1995;39:847–849.
- 167-Dufour P, Vinatier D, Vanderstichele S, Ducloy AS, Depret S, Monnier JC. Intravenous nitroglycerin for internal podalic version of the second twin in transverse lie. *Obstet Gynecol* 1998;92:416–419.
- 168-Dufour P, Vinatier D, Orazi G, Ducloy AS. The use of intravenous nitroglycerin for emergency cervico-uterine relaxation. *Acta Obstet Gynecol Scand* 1997;76:287–288.
- 169-Mercier FJ, Benhamou D. Nitroglycerin for fetal head entrapment during vaginal breech delivery? *Anesth Analg* 1995;81:654–655.
- 170-Mayer DC, Weeks SH. Antepartum uterine relaxation with nitroglycerin at cesarean delivery. *Can J Anaesth* 1992;39:166–169.
- 171-Weiss H, Diaz FR. Uterine inversion after nitroglycerin use during cesarean delivery. *Int J Obstet Anesth* 1996;5:269–71
- 172-Bayhi DA, Sherwood CD, Campbell CE. Intravenous nitroglycerin for uterine inversion. *J Clin Anesth* 1992;4:487–488.
- 173-Hostetler DR, Bosworth MF. Uterine inversion: A lifethreatening obstetric emergency. *J Am Board Fam Pract* 2000;13:120–123.
- 174-Ley SJ, Sheller J, Jones BR. Intrauterine pressure during administration of nitroglycerin for extraction of a retained placenta. *Anesthesiol Rev* 1993;20:95–97.
- 175-Chan AS, Ananthanarayan C, Rolbin SH. Alternating nitroglycerin and syntocinon to facilitate uterine exploration and removal of an adherent placenta. *Can J Anaesth* 1995;42:335–337.
- 176-Alexander BT, Llinas MT, Kruckeberg WC, Granger JP. L-arginine attenuates hypertension in pregnant rats with reduced uterine perfusion pressure. *Hypertension*. 2004;43:832– 836.

- 177-Brennecke SP, Gude NM, Di Iulio JL, King RG.Reduction of placental nitric oxide synthase activity in pre-eclampsia.Clin Sci . 1997 ;93:51-5
- 178-Neri I, Di Renzo GC, Caserta G, Gallinelli A, Facchinetti F. Impact of the L-arginine/nitric oxide system in pregnancy. *Obstet Gynecol Surv* 1995;50:851–858.
- 179-Anumba, D. O., Robson, S. C., Boys, R. J., and Ford, G. A. Nitric oxide activity in the peripheral vasculature during normotensive and preeclamptic pregnancy. *Am. J.Physiol.* 1999; 277, H848–H854.
- 180-Lowe DT. Nitric oxide dysfunction in the pathophysiology of preeclampsia. *Nitric Oxide* 2000;4:441–458.
- 181-Noris M, Todeschini M, Cassis P, Pasta F, Cappellini A, Bonazzola S, Macconi D, Maucci R, Porriati F, Benigni A, Picciolo C, Remuzzi G. L-arginine-depletion in preeclampsia orients nitric oxide synthase toward oxidant species. *Hypertension.* 2004;43:614–622.
- 182-De Pace V, Chiossi G, Facchinetti F. Clinical use of nitric oxide donors and L-arginine in obstetrics.; *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2007;20:569-79.
- 183-Luzi G, Caserta G, Iammarino G, Clerici G, Di Renzo GC. Nitric oxide donors in pregnancy: Fetomaternal hemodynamic effects induced in mild pre-eclampsia and threatened preterm labor. *Ultrasound Obstet Gynecol* 1999;14:101– 109.
- 184-Lees C, Valensise H, Black R, Harrington K, Byiers S, Romanini C, Campbell S. The efficacy and fetal–maternal cardiovascular effects of transdermal glyceryl trinitrate in the prophylaxis of pre-eclampsia and its complications: A randomized double-blind placebo-controlled trial. *Ultrasound Obstet Gynecol* 1998;12: 334–338
- 185-Cacciatore B, Halmesmaki E, Kaaja R, Teramo K, Ylikorkala O. Effects of transdermal nitroglycerin on impedance to flow in the uterine, umbilical, and fetal middle cerebral arteries in pregnancies complicated by preeclampsia and intrauterine growth retardation. *Am J Obstet Gynecol* 1998;179:140–145.
- 186-Germain AM, Valdes G, Romanik MC, Reyes MS. Evidence supporting a beneficial role for long-term L-arginine supplementation in high risk pregnancies. *Hypertension* 2004; 43:e1
- 187-Facchinetti F, Longo M, Piccinini F, Neri I, Volpe A. L-Arginine infusion reduces blood pressure in preeclamptic women through nitricoxide release. *J Soc Gynecol Investig* 1999;6:202–207.
- 188-Neri I, Jasonni VM, Gori GF, Blasi I, Facchinetti F.Effect of L-arginine on blood pressure in pregnancy-induced hypertension: a randomized placebo-controlled trial. *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2006;19:277-81.

- 189-Facchinetti F, Saade GR, Neri I, Pizzi C, Longo M, Volpe A. L-arginine supplementation in patients with gestational hypertension: a pilot study. *Hypertens Pregnancy*. 2007;26:121-30
- 190-Rytlewski K, Olszanecki R, Korbut R, Zdebski Z. Effects of prolonged oral supplementation with L-arginine on blood pressure and nitric oxide synthesis in preeclampsia. *Eur J Clin Invest* 2005;35:32–37.
- 191-Lerman A, Burnett JC, Higano ST, McKinley LJ, Holmes DR. Longterm L-arginine supplementation improves small-vessel coronary endothelial function in humans. *Circulation* 1998;97:2123–2128.
- 192-Shao A, Hathcock JN. Risk assessment for the amino acids taurine, l-glutamine and l-arginine. *Regul Toxicol Pharmacol*. 2008;50:376-99..
- 193-Wu G, Bazer FW, Cudd TA, et al ; Pharmacokinetics and safety of arginine supplementation in animals. *J Nutr*. 2007;137:1673S-1680S
- 194-Chammas MF, Nguyen TM, Li MA, Nuwayhid BS, Castro LC. Expectant management of severe preterm preeclampsia: is intrauterine growth restriction an indication for immediate delivery? *Am J Obstet Gynecol*. 2000;183:853-8
- 195-Curis E, Nicolis I, Moinard C, Osowska S, Zerrouk N, Bénazeth S, Cynober L. Almost all about citrulline in mammals. *Amino Acids*. 2005;29:177-205.
- 196-Windmueller HG, Spaeth AE. Source and fate of circulating citrulline. *Am J Physiol* 1981; 241:E473-480.
- 197-Osowska S, Duchemann T, Walrand S, Paillard A, Boirie Y, Cynober L, Moinard C. Citrulline modulates muscle protein metabolism in old malnourished rats. *Am J Physiol*, 2006.291:E582-586,
- 198-Osowska S, Moinard C, Neveux N, Loï C, Cynober L. Citrulline increases arginine pools and restores nitrogen balance after massive intestinal resection. *Gut*. 2004 ;53:1781-6.
- 199- Rougé C, Des Robert C, Robins A, Le Bacquer O, Volteau C, De La Cochetière MF, Darmaun D Manipulation of citrulline availability in humans. *Am J Physiol* 2007;293:G1061-7.
- 200-Koeners MP, van Faassen EE, Wesseling S, de Sain-van der Velden M, Koomans HA, Braam B, Joles JA; Maternal supplementation with citrulline increases renal nitric oxide in young spontaneously hypertensive rats and has long-term antihypertensive effects. *Hypertension*. 2007;50:1077-84.

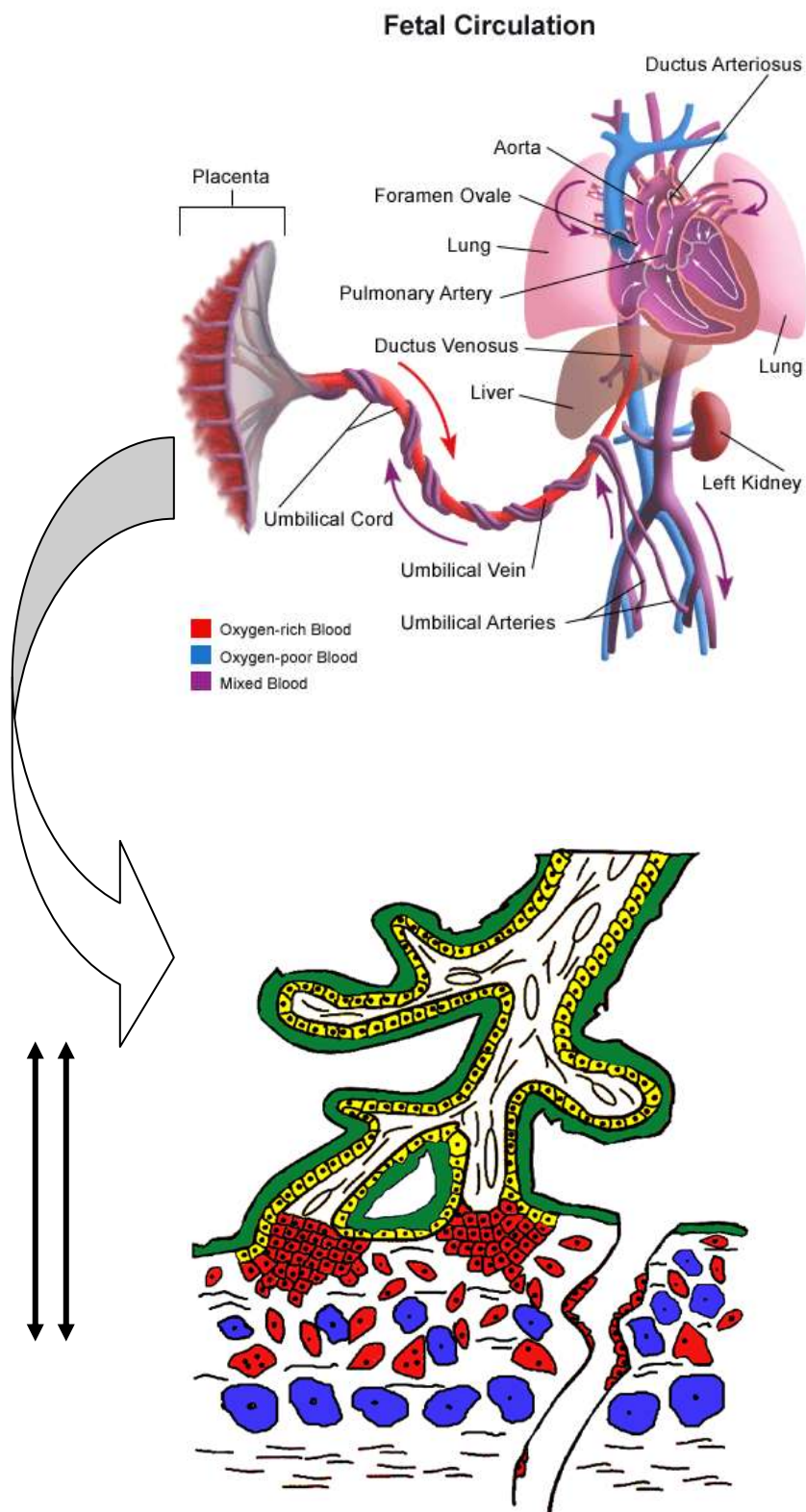


Fig 1 : Contact materno-fœtal- Chambre intervillouse

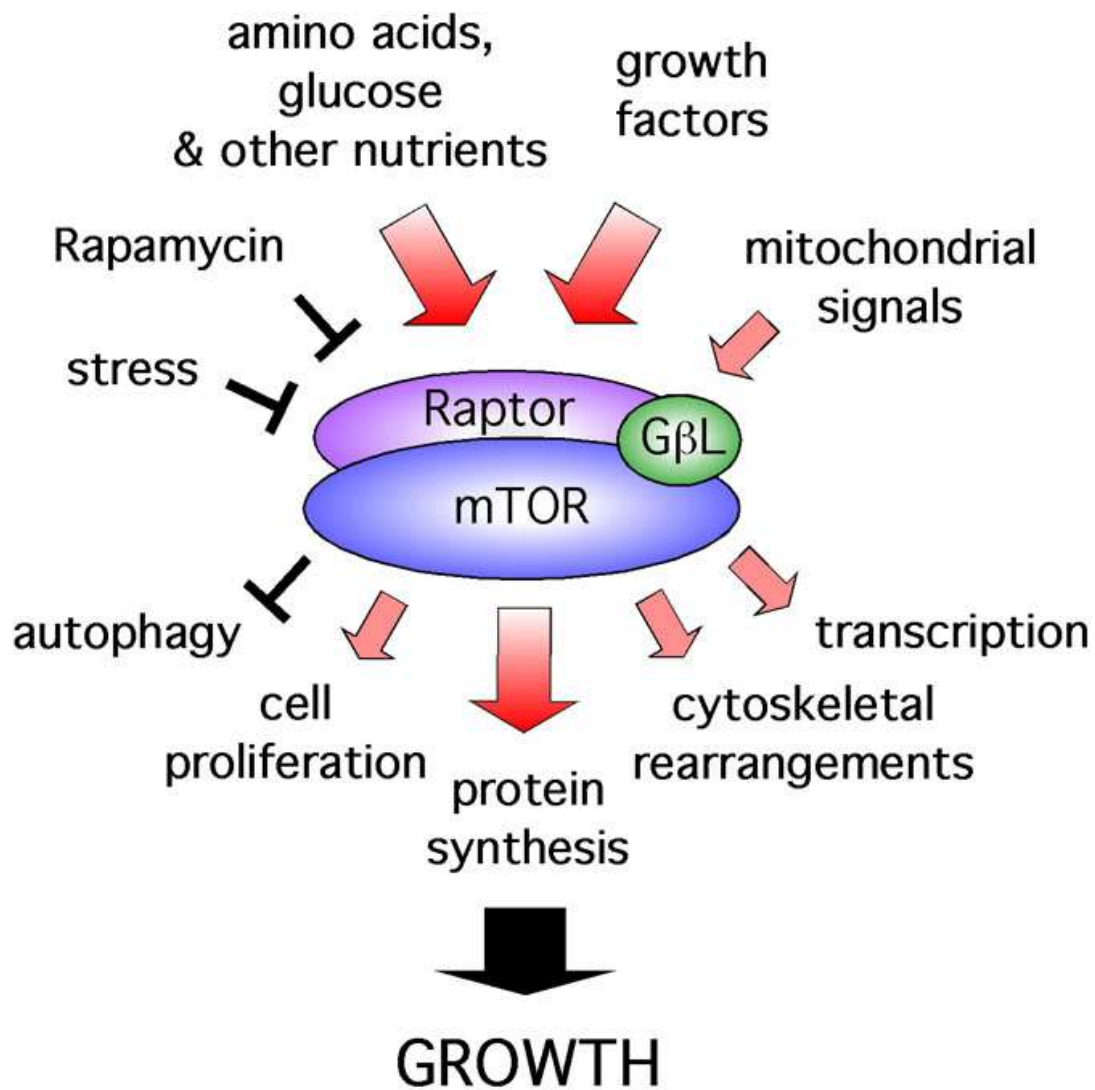


Figure 2 : Voie du transporteur m TOR

D'après Sabatini Lab

web.wi.mit.edu/.../pub/research_MTORsignal.html.

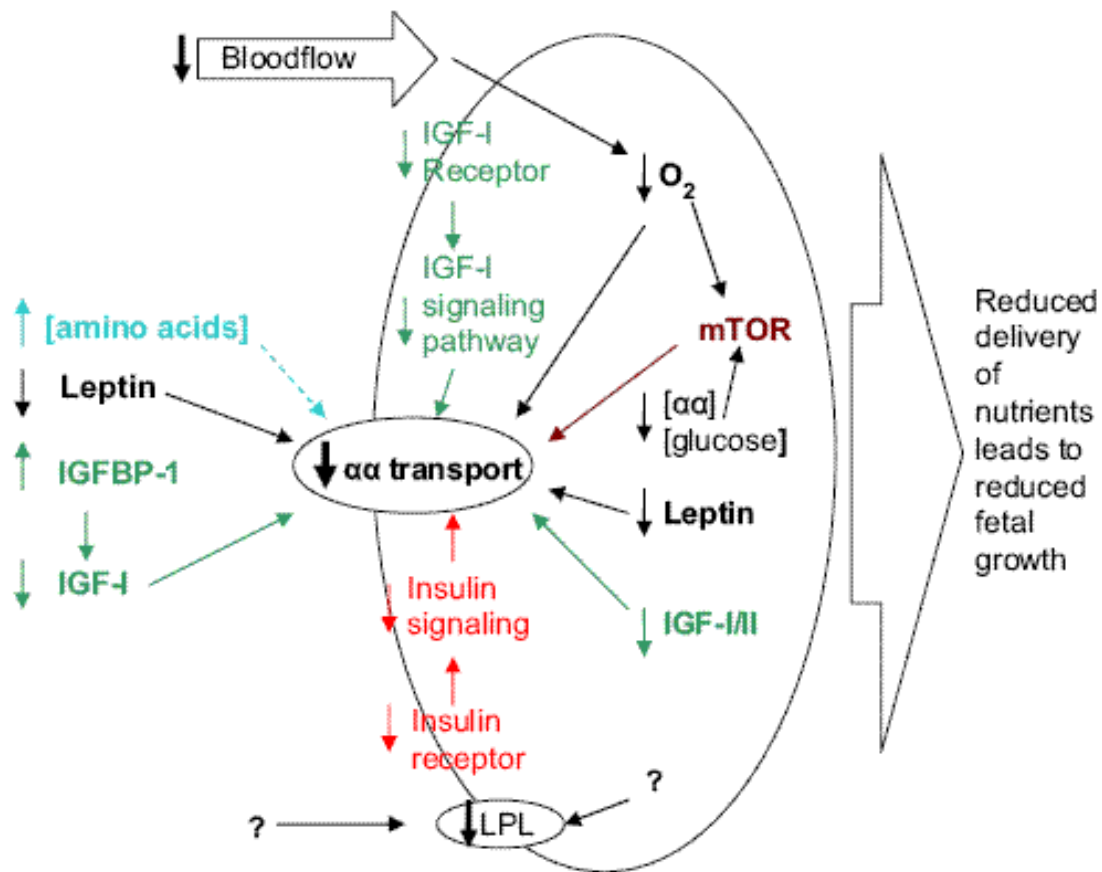


Figure 3 : Modèle de régulation des transports placentaire avec intervention de MTOR, Facteurs de croissance, stress oxydant

D'après H.N. Jones et al. / Placenta 2007 ; 28, 763e774

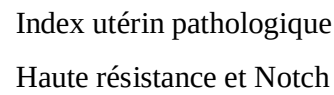
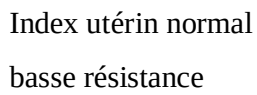


Figure 4 : Doppler utérin normal et pathologique



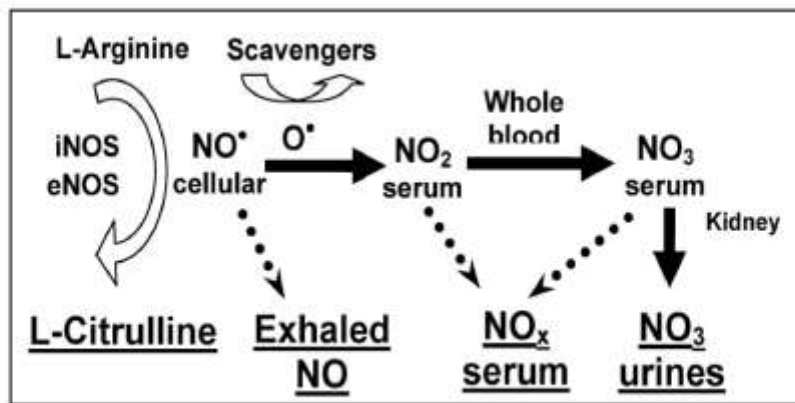


Figure 1. Nitric oxide synthesis and metabolism. iNOS = inducible NO synthase; eNOS = endothelial NO synthase; NO₂ = nitrites; NO₃ = nitrates; NO_x = NO₂ + NO₃. Underlined molecules are used as probes of NO activity *in vivo* for research purposes.

Figure 6: synthèse du NO et de la citrulline à partir de la L Arginine
D'après De Pace et al, 2007

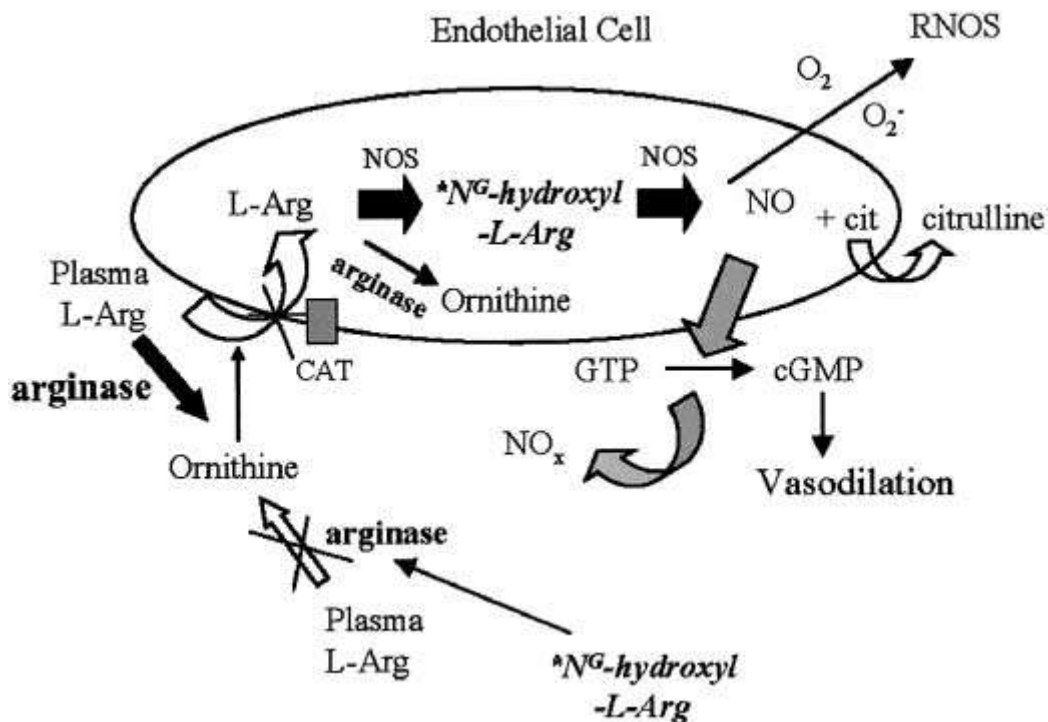


Figure 7 : Compétition vis-à-vis de la L Arginine entre la voie de l'Arginase et celle de la NOS
D'après CR Morris et al, Am J Respir Crit Care Med 2003;168. 63–69

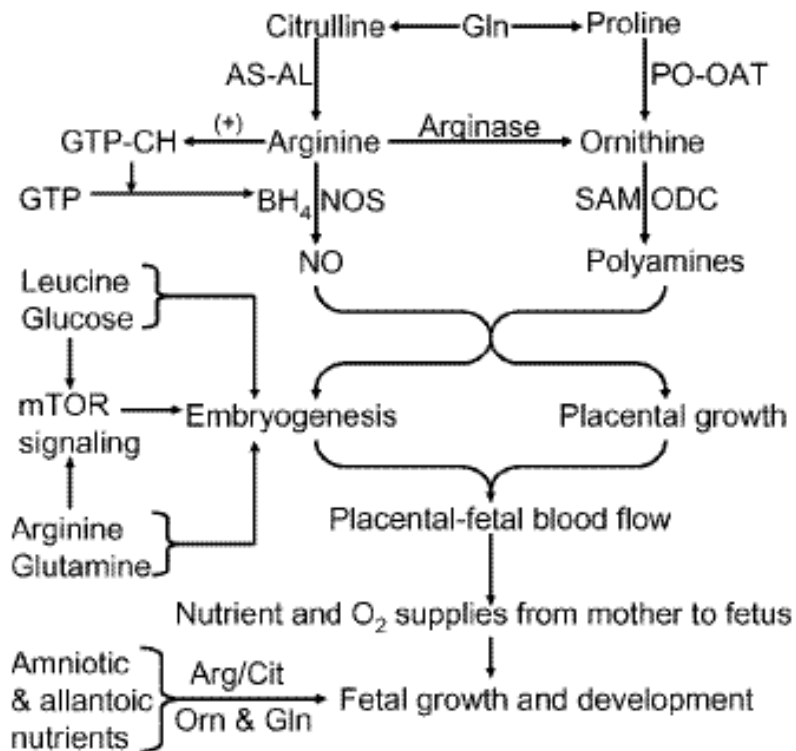


Figure 8 : NO, acides aminés et RCIU

D'après WU G et al., Board-invited review: intrauterine growth retardation: implications for the animal sciences. J Anim Sci. 2006;84:2316-37

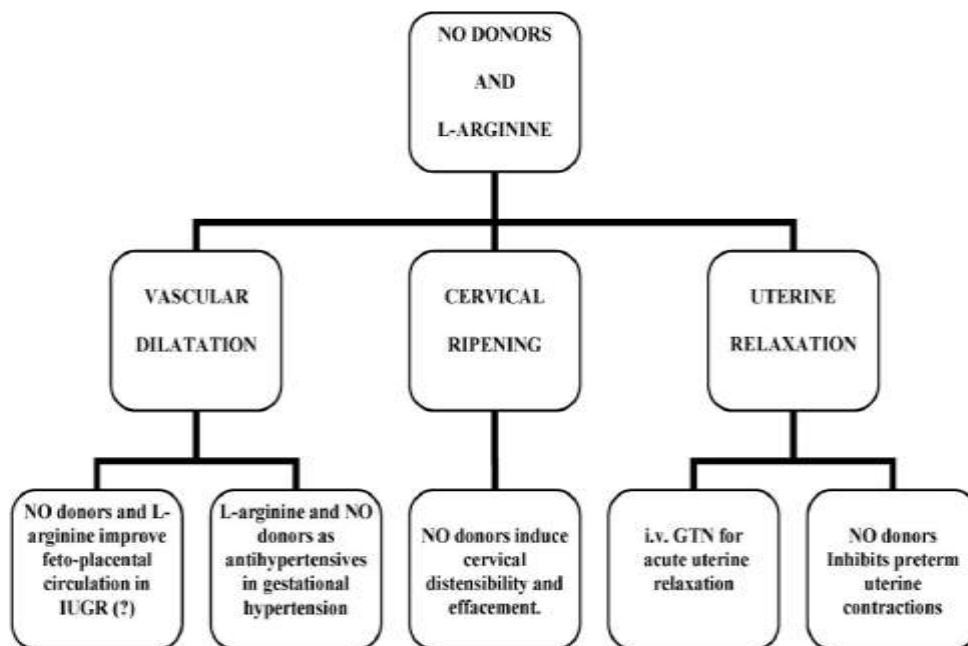


Figure 9

Indications en obstétrique des donneurs de NO donors et L-arginine

D'après De Pace V et al , 2007

Abréviations

RCIU : Retard de croissance intra-utérin

NO: Monoxyde d'azote

PAPP-A : [pregnancy-associated plasma protein A](#)

HCG : Hormone Chorionique gonadotrophique

EDRF: Endothelium Derived Relaxing Factor

VEGF : [Vascular endothelial growth factor](#)

sVEGFR-1 : récepteur soluble au [vascular endothelial growth factor](#)

sFlt-1 : placental soluble fms-like tyrosine kinase 1

ET-1 : endothéline-1

VIP :peptide intestinal vasoactif

TXA2 : thromboxane A2

PGI2 : prostacycline

uPA : urokinase-type plasminogen activator

VCAM-1 : vascular endothelial cell adhesion molecule

PECAM-1 :platelet-endothelial adhesion molecule

TNF α : Tumor Necrosis Factor alpha

ENOS : NOS endothéliale

HELLP syndrome : Hemolysis, Elevated Liver function tests, and Low Platelets

S-D/S : Rapport (systole – diastole) /systole

L-NAME : Nitro-L-arginine-methyl ester

IGFBP : insulin-likegrowth factor binding protein

IGF1 : Insulin-like Growth Factor 1

mTOR :Mammalian target of rapamycin

Titre : Effet de la supplémentation par la L-Arginine chez la femme enceinte sur le retard de croissance intra utérin vasculaire

Résumé

Le Retard de Croissance Intra-Utérin (RCIU) accroît fortement la morbidité et mortalité néonatale, et a, à long terme, des implications sur la santé du futur adulte. Le RCIU est fréquemment lié à une insuffisance circulatoire utéro-placentaire. L'oxyde nitrique (NO) endogène est un puissant vasodilatateur, produit exclusivement à partir d'un acide aminé, la L-Arginine. En outre, la relation observée entre l'hypotrophie fœtale et la diminution des acides aminés dans la circulation fœtale, milite pour un rôle de la carence en acides aminés dans la physiopathologie du RCIU. En l'absence de traitement validé à ce jour, la supplémentation en L-arginine pourrait ainsi être indiquée pour restaurer la production de NO chez les patientes souffrant de RCIU avec une dysfonction endothéliale, comme cela a déjà été montré pour d'autres pathologies vasculaires.

Notre objectif était de vérifier l'effet d'un apport exogène de L Arginine chez la femme enceinte dont le fœtus était atteint d'un RCIU sévère (< 3^{ème} centile) avec dopplers utérins pathologiques, qui présentent des similitudes physiopathologiques avec la prééclampsie. Nous avons inclus 44 patientes entre 24 et 32 SA, dans une étude multicentrique prospective randomisée contre placebo, de supplémentation en arginine (14g/j). Notre étude, la première réalisée sur ce type de population, n'a pas montré de bénéfice ni sur le gain de poids néonatal ni sur le pronostic néonatal (Score CRIB). Notre étude suggère que d'autres précurseurs moins métabolisés comme la citrulline, ou des modulateurs du transport placentaires, méritent d'être testés.

Mots clés : L Arginine- voie du NO- Retard de croissance intra utérin vasculaire- essai clinique randomisé

Title : L-Arginine treatment for severe vascular fetal intrauterine growth restriction

Abstract:

Intra uterine growth retardation (IUGR) greatly increases neonatal morbidity and mortality, and has long term implications on the health of future adults. IUGR is frequently linked to impaired utero-placental circulation. Nitric oxide (NO) is a powerful endogenous vasodilator, produced exclusively from an amino acid, L-Arginine. In addition, the relationship observed between small-for-gestational age (SGA) and reduced amino acid concentrations in the fetal circulation, argues for a role of amino acid deficiency in the pathophysiology of IUGR. Without treatment validated so far, supplementation with L-arginine could be relevant to restore the production of NO in patients suffering from IUGR with endothelial dysfunction, as has already been shown for other vascular diseases.

Our goal was to assess the effect of an exogenous supply of L Arginine in pregnant women whose fetus was suffering from a severe IUGR (<3rd percentile) with pathologic uterine dopplers, which have physiological similarities with pre-eclampsia. We included 44 patients between 24 and 32 WG, in a prospective, randomized multicenter study against placebo, arginine supplementation (14g / d). Our study, the first performed in this type of population, showed no benefit in term of weight gain or neonatal prognosis (CRIB Scoring). Our study suggests that other precursors that are metabolized less extensively such as citrulline, or modulators of placental transport, should be tested.

Key words: L Arginine- NO pathway- intra uterine vascular fetal growth restriction- clinical randomised trial