

UNIVERSITE DE NANTES

FACULTE DE MEDECINE

Année 2015

N° 134

THESE

pour le

DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR EN MEDECINE

DES Gynécologie Obstétrique

par

Emilie MISBERT

Née le 19/05/1983 à La Rochelle (17)

Présentée et soutenue publiquement le 26 Octobre 2015.

**Elaboration du protocole CITRUPE :
Evaluation de l'efficacité d'une supplémentation en Citrulline sur le
délai d'accouchement de femmes hospitalisées pour pré-éclampsies.**

*Recherche Biomédicale Interventionnelle sur Produits de santé
Etude prospective Bicentrique Randomisée en Double-Aveugle versus Placebo*

Président du jury : Monsieur le Professeur P. LOPES

Directeur de thèse : Monsieur le Docteur N. WINER

Membres du jury : Monsieur le Professeur D. DARMAUN

Monsieur le Professeur F. FAKHOURI

Madame le Docteur Y. CAROIT-CAMBAZARD

REMERCIEMENTS :

Au moment de soutenir ma thèse de médecine, je tiens à remercier,

Monsieur le Docteur Norbert Winer pour son enseignement et son expertise dans notre pratique clinique, son encadrement, son soutien, sa confiance et ses encouragements pour mes travaux universitaires. Merci pour ce beau projet qui se concrétisera je l'espère et nous fait entrevoir d'intéressantes perspectives de recherche pour les années à venir...

Monsieur le Professeur Patrice Lopes qui me fait l'honneur de présider cette soutenance, merci pour votre enseignement et votre pédagogie.

Monsieur le Professeur Dominique Darmaun, qui en m'accueillant à l'unité PhAN pour mon master 2, m'a permis de découvrir l'univers de la recherche scientifique. Ce fût une année riche de rencontres et d'apprentissage, prémices de cette thèse.

Madame le Docteur Yolande Caroit-Cambazard, pour son exemplaire rigueur dans la gestion des grossesses à risque et également pour ses qualités humaines,

Monsieur Le Professeur Fadi Fakhouri pour avoir accepté de participer à mon jury de thèse.

Arnaud Legrand pour sa précieuse aide dans l'élaboration de ce projet. Arnaud, merci pour ta disponibilité, ton professionnalisme et ton efficacité.

Merci à l'ensemble des praticiens hospitaliers, chefs de cliniques et assistants du CHU de Nantes, aux équipes de gynécologie et d'obstétrique, pour la formation que vous m'avez apportée tout au long de mon internat. Merci également aux équipes d'Ancenis, du Mans, de Cholet et du centre René Gauducheau.

Merci à toute l'équipe de l'unité PhAN, ses master 2 et ses thésards, pour leur accueil, leur aide et les bons moments passés à leurs côtés, avec une pensée particulière pour Isabelle, Pierre, Vincent, Gwenola, Valérie, Anthony, Aurélie, Thang, Angèle, Camille, Charlotte, Bérangère et Axel.

Merci à mes co-internes d'avant, déjà devenus chefs : Cécile T., Cergika, Arianne, et Céline, et aux actuels : Florence, Emeline, Anne-Sophie, Emilie, Marion, Claire, Marine, Elise, Tiphaine, Adélie et Matthieu, une belle équipe pour un dernier semestre qui restera riche de souvenirs. Merci à Mathilde S. et Mathilde V., Cécile, Camille, Vincent, Joséphine, Bérénice, Sofia et Pauline, aux côtés de qui il a toujours été agréable de travailler, pour les bons moments passés et à venir je l'espère.

Merci à mes amis proches, Jessica, Marie et Marc, présents depuis notre externat, à Anne Sophie T., Gaëlle, Tiphaine, Ellen et Ludovic, Anne Sophie et Olivier.

Merci à ma famille et tout particulièrement mes parents qui ont su me transmettre ce goût de l'apprentissage et du travail. Merci pour votre inconditionnel soutien. Ce jour est l'occasion pour moi de vous exprimer toute ma reconnaissance et tout l'amour que je vous porte.

Olivier, merci pour ta présence à mes côtés, ton acceptation et ton soutien dans mon travail que tu sais si important pour moi. Merci pour ta sérénité.

TABLE DES MATIERES :

LISTE DES FIGURES :	6
LISTE DES ABREVIATIONS :	7
INTRODUCTION :	11
PREMIERE PARTIE : JUSTIFICATION SCIENTIFIQUE.....	12
I- MANIFESTATIONS CLINIQUES ET COMPLICATIONS DE LA PE :	12
II- FACTEURS DE RISQUE :	13
III- ATTITUDE PRATIQUE : RECOMMANDATIONS DANS LA PRISE EN CHARGE ACTUELLE : .	13
1- <i>Prévention secondaire :</i>	13
2- <i>Surveillance et Prise en charge curative en cas de PE avérée :</i>	14
IV- PHYSIOLOGIE ET PHYSIOPATHOLOGIE :	15
1- <i>Embryologie et invasion trophoblastique :</i>	15
2- <i>Physiopathologie de la PE</i>	20
V- STRESS OXYDATIF (SO), ANTIOXYDANTS ET PE :	21
VI- FACTEURS ANGIOGENIQUES ET ANTIANGIOGENIQUES :	22
1- <i>sFlt-1 :</i>	22
2- <i>VEGF :</i>	22
3- <i>PlGF :</i>	23
4- <i>sEng :</i>	23
5- <i>Variation des facteurs angiogéniques et antiangiogéniques dans la PE :</i>	23
6- <i>Les biomarqueurs : Facteurs angiogéniques et antiangiogéniques : marqueurs prédictifs et marqueurs de sévérité de la PE.</i>	24
7- <i>Facteurs angiogéniques et RCIU :</i>	27
VII- MONOXYDE D'AZOTE :	27
1- <i>Monoxyde d'azote (NO) et PE :</i>	27
2- <i>Facteurs angiogéniques et NO :</i>	28
3- <i>Calcium et NO :</i>	29
4- <i>Héparine de bas poids moléculaire (HBPM) et NO :</i>	29
VIII- LES DONNEURS DE NO :	29
1- <i>Les nitrates organiques :</i>	30
2- <i>Les S-Nitrosothiols :</i>	32
3- <i>Le Sildénafil :</i>	32
4- <i>L'Arginine :</i>	34
5- <i>La Citrulline :</i>	38
DEUXIEME PARTIE : PROTOCOLE CITRUPE	40
I- BENEFICES ET RISQUES POUR LES PERSONNES SE PRETANT A LA RECHERCHE.	40
1- <i>Bénéfice individuel</i>	40
2- <i>Bénéfice collectif</i>	41
3- <i>Risque individuel</i>	41
4- <i>Risque collectif :</i>	44
5- <i>Balance bénéfices / risques :</i>	44
II- LA CITRULLINE :	45
1- <i>Physiologie de la citrulline :</i>	45
2- <i>Justification de l'évaluation des effets de la citrulline dans la PE :</i>	45

3-	<i>Données pharmacocinétiques : Justification de l'administration par voie orale :</i>	46
III-	OBJECTIFS ET CRITERES DE JUGEMENT :	47
1-	<i>Objectif et critère d'évaluation principal :</i>	47
2-	<i>Objectifs et critères d'évaluation secondaires :</i>	47
IV-	BIOCOLLECTION ANGIOCOL :	49
V-	DESIGN DE LA RECHERCHE :	49
1-	<i>Méthodologie générale de la recherche :</i>	49
2-	<i>Schéma de l'étude :</i>	50
3-	<i>Analyse de la Base de données de Nantes :</i>	51
VI-	POPULATION ETUDIEE :	53
1-	<i>Description de la population :</i>	53
2-	<i>Critères de pré-inclusion</i>	54
3-	<i>Critères d'inclusion</i>	54
4-	<i>Critères de non-inclusion</i>	55
VII-	TRAITEMENTS UTILISES PENDANT L'ETUDE :	55
1-	<i>Description des traitements nécessaires et modalités d'administration :</i>	56
2-	<i>Médicaments et traitements autorisés et interdits :</i>	57
3-	<i>Méthodes de suivi de l'observance au traitement :</i>	57
4-	<i>Circuit des médicaments expérimentaux :</i>	57
VIII-	DEROULEMENT DE L'ETUDE :	59
1-	<i>Techniques d'études et d'analyses :</i>	59
2-	<i>Calendrier de l'étude :</i>	63
3-	<i>Identification de toutes les données sources ne figurant pas dans le dossier médical</i>	64
4-	<i>Règles d'arrêt de la participation d'une personne :</i>	64
5-	<i>Modalité de prise en charge des patients à la fin de la recherche :</i>	65
6-	<i>Rapport final de l'étude :</i>	65
IX-	DATA MANAGEMENT ET STATISTIQUES :	65
1-	<i>Recueil et traitement des données de l'étude :</i>	65
2-	<i>Statistiques</i>	67
X-	PHARMACOVIGILANCE ET GESTION DES EVENEMENTS INDESIRABLES :	69
1-	<i>Définitions :</i>	69
2-	<i>Paramètres d'évaluation de la sécurité :</i>	71
3-	<i>Liste des EI attendus :</i>	72
4-	<i>Gestion des événements indésirables :</i>	73
5-	<i>Modalités et durée du suivi des personnes suite à la survenue d'événements indésirables :</i>	73
XI-	ASPECTS ADMINISTRATIFS ET REGLEMENTAIRES :	74
1-	<i>Droit d'accès aux données et documents source :</i>	74
2-	<i>Monitoring de l'essai :</i>	74
3-	<i>Inspection / Audit :</i>	75
4-	<i>Considérations éthiques :</i>	75
5-	<i>Amendements au protocole :</i>	76
6-	<i>Déclaration aux autorités compétentes :</i>	77
7-	<i>Fichier des personnes se prêtant aux recherches biomédicales :</i>	77
8-	<i>Financement et assurance :</i>	77
9-	<i>Règles relatives à la publication :</i>	77
10-	<i>Devenir des échantillons biologiques :</i>	78
11-	<i>Archivage des données sources :</i>	78
	CONCLUSION :	79
	BIBLIOGRAPHIE :	80

LISTE DES FIGURES :

Figure 1 : Période pré-villeuse, stade pré-lacunaire.	16
Figure 2 : Période pré-villeuse, stade lacunaire.	17
Figure 3 : Période villeuse. Formation des villosités primaires, libres et crampons.	18
Figure 4 : Période villeuse. Formation des colonnes par l'extrémité cytotrophoblastique des villosités crampons.....	18
Figure 5 : Invasion trophoblastique interstitielle et endovasculaire.....	19
Figure 6 : Représentation schématique de l'évolution des concentrations plasmatiques de sFlt1, PlGF et sEng pendant la grossesse normale et chez les patientes qui déclareront une pré-éclampsie.	26
Figure 7 : Voie de la guanylate cyclase soluble (sGC).....	30
Figure 8 : Délai d'accouchement, base de données PMSI.....	51
Figure 9 : Courbe de « survie ».....	52
Figure 10 : Délai d'accouchement base de données dossiers GHR.....	53
Figure 11 : Calendrier de l'étude.....	63

LISTE DES TABLEAUX :

Tableau 1 : Etudes cliniques évaluant les effets du glycéryltrinitrate (GTN)	31
Tableau 2 : Etudes cliniques évaluant les effets de l'isosorbidedinitrate (ISDN).....	32
Tableau 3 : Etudes cliniques évaluant les effets du sildénafil :	33
Tableau 4 : Etudes cliniques évaluant les effets de l'arginine.....	37
Tableau 5 : Délai d'accouchement, statistiques PMSI.....	51
Tableau 6 : Délai d'accouchement, statistiques GHR.....	53
Tableau 7 : Définitions pharmacovigilance et gestion des évènements indésirables.....	69

LISTE DES ABREVIATIONS :

AG	Age Gestationnel
ANSM	Agence Nationale de Sécurité du Médicament et des produits de santé
AMM	Autorisation de Mise sur le Marché
ARC	Attaché de Recherche Clinique (moniteur)
BE	<i>Base excess</i>
BPC	Bonnes Pratiques Cliniques
BPF	Bonnes Pratiques de Fabrication
CHD	Centre Hospitalier Départemental
CHU	Centre Hospitalo-Universitaire
CIS	Comité indépendant de surveillance
CNGOF	Collège National des Gynécologues et Obstétriciens Français
CNIL	Commission Nationale de l'Informatique et des Libertés
CPP	Comité de Protection des Personnes
CRF	<i>Case Report Form</i> (cahier d'observation)
eCRF	<i>Electronic Case Report Form</i> (cahier d'observation)
EI	Effet Indésirable
EvIG	Evènement Indésirable Grave
EIG	Effet Indésirable Grave
EIGI	Effet Indésirable Grave Inattendu
sEng	Endogline soluble

EPF	Estimation de Poids Fœtal
ERCF	Enregistrement du Rythme Cardiaque Fœtal.
sFlt-1	<i>Soluble fms-like tyrosine kinase-1</i>
FMD	dilatation de l'artère humérale induite par le flux
GC	Grande Citerne
GHR	Grossesse à Haut Risque
GSNO	s-Nitrosoglutathione
GTN	Glyceryltrinitrate
HAS	Haute Autorité de Santé
HBPM	Héparine de Bas Poids Moléculaire
HELLP	<i>Hemolysis Elevated Liver enzymes Low Platelets count</i>
HRP	Hématome Rétro-Placentaire
HTA	Hypertension Artérielle
IHC	Immunohistochimie
ILA	Index de Liquide Amniotique
IP	Indice de Pulsatilité
IR	Index de Résistance
ISDN	Isosorbidedinitrate
IV	Intra-Veineux
MEC	Matrice Extra Cellulaire
MgSO4	Sulfate de magnésium
MIU	Mort In Utero
MMP	Métalloprotéases Matricielles

MR	Méthodologie de Référence
NFS	Numération de Formule Sanguine
NO	<i>Nitric Oxide</i> (Monoxyde d'azote)
NOS	<i>Nitric Oxide Synthase</i>
eNOS	<i>Endothelial Nitric Oxide Synthase</i>
OAP	Œdème Aigu du Poumon
OMS	Organisation Mondiale de la Santé
PA	Pression Artérielle
PAD	Pression Artérielle Diastolique
PAM	Pression Artérielle Moyenne
PAS	Pression Artérielle Systolique
PE	Pré-Eclampsie
PIGF	<i>Placental Growth Factor</i>
PMSI	Programme de Médicalisation des Systèmes d'Information
RBM	Recherche Bio Médicale
RCIU	Retard de Croissance Intra Utérin
RCP	Résumé des Caractéristiques d'un Produit
ROT	Réflexes Ostéo-Tendineux
SA	Semaine d'Aménorrhée
SFAR	Société Française d'Anesthésie et de Réanimation
SFMP	Société Française de Médecine Périnatale
SIG	Suivi Intensif de Grossesse
SL	Sublingual

sGC	Guanylate cyclase soluble
SUSAR	<i>Suspected Unexpected Serious Adverse Reaction</i>
TEC	Technicien d'Etude Clinique
UGO	Urgences Gynécologiques et Obstétricales
UT	Unité Thérapeutique
VEGF	<i>Vascular Endothelial Growth factor</i>

Introduction :

La prééclampsie (PE) complique 2 à 8% des grossesses [1]. Elle est à l'origine de complications maternelles et fœtales graves et constitue l'une des causes majeures de morbidité et de mortalité maternelle (50 000 à 60 000 décès maternels par an dans le monde) et périnatale. Le seul traitement efficace, une fois la maladie installée, est l'arrêt de la grossesse et la délivrance du placenta. La recherche d'un traitement préventif et/ou curatif constitue donc un enjeu de santé publique majeur et un champ de recherche toujours d'actualité.

La seule recommandation actuelle est l'utilisation de l'aspirine à faible dose à débiter avant 16 semaines d'aménorrhées (SA), en prévention secondaire, c'est-à-dire pour les patientes ayant un antécédent de pré-éclampsie avant 34SA (CNGOF). Cependant, ce traitement actuel reste d'une efficacité limitée.

Notre hypothèse de travail est que l'apport de citrulline pourrait restaurer ou améliorer la fonction endothéliale dans la PE. Le but de notre étude est donc de déterminer si la citrulline, acide aminé donneur de NO (monoxyde d'azote), en traitement curatif, permet de prolonger la grossesse chez les patientes présentant une PE avérée avant 37 SA.

PREMIERE PARTIE : JUSTIFICATION SCIENTIFIQUE.

I- Manifestations cliniques et complications maternelles et fœtales de la PE :

La pathologie prééclampsique débute de façon infra clinique dès la placentation. Cependant, les signes cliniques maternels ne surviennent qu'après la 20^{ème} semaine d'aménorrhée, voire beaucoup plus tardivement au cours de la grossesse.

La PE est classiquement définie par l'apparition après 20 SA d'une hypertension artérielle (HTA) (PAS \geq 140 mmHg et/ou PAD \geq 90 mmHg) et d'une protéinurie (\geq 0,3g/24h). Elle est associée à un large spectre de complications maternelles neurologiques, rénales, cardio-pulmonaires, hépatiques et hématologiques. L'atteinte endothéliale entraîne une diminution des substances vasodilatatrices et génère une augmentation du tonus vasculaire (hypertension artérielle), l'augmentation de la perméabilité vasculaire et de l'agrégation plaquettaire. Sur le plan rénal il est observé une protéinurie, et plus rarement une insuffisance rénale. Au niveau pulmonaire, il peut survenir un œdème aigu du poumon (OAP). Les complications hépatiques peuvent être une cytolyse hépatique, entrant dans le syndrome HELLP (association d'une hémolyse, thrombopénie et cytolysé hépatique), un hématome sous capsulaire du foie, et une nécrose périportale. Les signes neurologiques couvrent un large spectre, allant de céphalées rebelles, acouphènes, phosphènes et hyperréflexie jusqu'à l'éclampsie. Des perturbations biologiques peuvent accompagner, précéder ou succéder aux signes cliniques comme une thrombopénie, une cytolysé hépatique, une hémolyse et une coagulopathie de consommation.

La survenue d'une PE serait également le marqueur d'une population à risque accru de présenter à long terme des pathologies cardio-vasculaires. Les femmes aux antécédents de PE auraient presque 3 fois plus de risque développer une HTA chronique (OR=2.77 ; IC 95% [1.72-4.47]) et 3,5 fois plus de risque de décéder d'un accident vasculaire cérébral [2]. Il a également été observé une augmentation du risque de pathologie rénale chronique et d'insuffisance rénale terminale chez ces patientes [3 ; 4] sans pour autant pouvoir déterminer s'il s'agit d'une dysfonction endothéliale initiale ou d'une complication directe de l'HTA.

Sur le versant fœtal, la PE est également à l'origine d'une mortalité et morbidité périnatale, en lien avec la prématurité induite, aggravée par l'association fréquente (25%) à un retard de croissance intra utérin (RCIU) [5]. En effet, la dysfonction placentaire compromet l'apport nutritionnel du fœtus, pouvant être à l'origine d'un RCIU [6]. La morbidité néonatale est principalement neurologique,

digestive et respiratoire. Le RCIU associé est également à l'origine d'une « double peine » puisqu'il accroît le risque de survenue à l'âge adulte de pathologies cardio-vasculaire, HTA, obésité et diabète de type II [7].

II- Facteurs de risque :

Les facteurs de risque de PE sont de différents types. Une origine immunologique semble être au premier plan, évoquée comme un défaut de tolérance maternelle aux antigènes paternels. L'incidence de la PE est plus élevée lorsqu'il existe une absence ou une courte exposition au sperme du futur père avant la grossesse : nulliparité, changement de partenaire, conception précoce dans un couple récent, ou insémination avec sperme de donneur [8]. En effet, l'incidence de la PE est deux fois plus élevée chez la nullipare que chez la multipare [9]. De plus, certaines pathologies maternelles préexistant à la grossesse sont liées à la PE, comme l'hypertension artérielle chronique, les pathologies rénales, l'obésité et le diabète. Cependant, ces facteurs ne suffisent pas à expliquer ni à prévoir la survenue de la PE.

III- Attitude pratique : Recommandations dans la prise en charge actuelle :

1- Prévention secondaire :

La dysfonction endothéliale, l'activation des plaquettes et du système de la coagulation peuvent survenir tôt lors de l'installation de la PE, avant l'apparition des signes cliniques [10]. Un déficit de production intravasculaire de prostacycline, vasodilatatrice et anti-agrégante plaquettaire, et un excès de production de thromboxane A₂, vasoconstricteur et pro-agrégant plaquettaire, sont identifiés depuis plusieurs décennies [11 ; 12]. Cette inversion du ratio favoriserait les thromboses. Ceci a conduit à l'hypothèse que les anti-agrégants plaquettaires, en particulier l'aspirine utilisée à faible dose, pourrait prévenir ou retarder le développement de la PE, réduire sa sévérité, et le risque de complication.

Beaufils et al. ont publié un premier essai historique en 1985 [13] montrant un intérêt préventif des antiagrégants plaquettaires à faible dose chez les femmes à risque élevé de PE, sur la survenue d'une PE et d'un RCIU sévère. Des essais contradictoires ont ensuite remis en question l'efficacité réelle ou supposée de l'aspirine [14]. En 2004 et 2007, la Cochrane a publié une méta analyse [15] qui conclut à une efficacité modérée mais néanmoins significative de l'aspirine pour réduire le risque de pré-éclampsie de 17% (RR=0.83 ;IC95% :0.77-0.89), la prématurité de 8% (RR=0.92 ;IC95% :0.88-

0.97), la morbidité périnatale de 14% (RR=0.86 ;IC95% :0.76-0.98) et le petit poids pour l'âge gestationnel de 10% (RR=0.90 ;IC95% :0.83-0.98). La dernière méta-analyse de Bujold et al. en 2010 [16] retrouve une réduction de la PE de 53% (RR=0.47 ;IC95% :0.34-0.65), du RCIU de 56% (RR=0.44 ;IC95% :0.30-0.65) et de la prématurité de 78% (RR=0.22 ;IC95% :0.10-0.49) en cas de prise d'aspirine à faible dose débutée avant 16SA. L'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) [17] et la conférence d'experts de 2009 [18] recommandent une faible dose d'aspirine (respectivement au moins 75mg/j et 75-160mg/j) chez les femmes à risque, à débiter avant 20 semaines de grossesse. De même, depuis 2013, le Collège National des Gynécologues et Obstétriciens Français (CNGOF) recommande en prévention secondaire (femmes ayant un antécédent de pré-éclampsie avant 34 SA et/ou de RCIU<5^{ème} percentile d'origine vasculaire probable) la prise de 100 à 160mg d'aspirine à débiter avant 16 SA [19]. Apparaît alors plus formellement l'intérêt de cette prophylaxie pour prévenir le RCIU vasculaire là où les méta-analyses peinaient à y associer le RCIU comme une indication à la prévention secondaire.

2- Surveillance et Prise en charge curative en cas de PE avérée :

A l'heure actuelle, le seul traitement curatif de la PE est la délivrance du placenta. En cas de diagnostic de PE il est donc nécessaire de déterminer les signes de gravité devant conduire à l'arrêt de la grossesse. L'indication à la naissance est également influencée par l'âge gestationnel (AG) et la balance entre le risque maternel et le risque périnatal. Plus le terme est avancé, plus le risque périnatal lié à la prématurité est faible et moins le risque maternel est acceptable. En revanche, pour les AG précoces, l'objectif est de tenter de prolonger la grossesse pour diminuer la morbidité liée à la prématurité sous réserve de ne pas mettre en jeu la santé maternelle.

Dans le cas d'une PE sévère, l'hospitalisation s'impose le plus souvent. La PE est définie comme sévère si au moins un des critères suivants est retrouvé (SFAR/CNGOF 2009) :

- HTA sévère (PAS > 160mmHg et/ou PAD > 110 mmHg)
- Atteinte rénale avec oligurie (< 500 mL par 24h, créatininémie > 135 mmol/L, ou protéinurie des 24h > 5g)
- OAP ou barre épigastrique persistante ou HELLP syndrome.
- Eclampsie ou troubles neurologiques rebelles (troubles visuels, réflexes ostéotendineux polycinétiques, céphalées)
- Thrombopénie < 100G/L
- Hématome rétro-placentaire

- Retentissement foetal : RCIU sévère, oligoamnios sévère.

La surveillance est donc basée sur un faisceau de données cliniques, biologiques et échographiques.

Il est recommandé d'instaurer un traitement antihypertenseur lorsque la PAS est supérieure à 160mmHg et la PAD supérieure à 110mmHg (conférence d'expert 2009), afin d'éviter les complications vasculaires maternelles, tout en maintenant une pression artérielle moyenne (PAM) entre 105 et 125mmHg, nécessaire à une perfusion placentaire satisfaisante.

Devant une PE sévère après 34SA, l'indication de la naissance se pose et l'expectative doit être bien pesée. Avant 34 SA, lorsque l'état maternel est stable et que les paramètres de surveillance foetale sont rassurants, la prolongation de la grossesse permettrait de diminuer la morbidité néonatale [20]. Concernant les PE non sévères, l'hospitalisation est également classique, compte tenu du risque d'aggravation rapide, même si une prise en charge en ambulatoire semblerait envisageable (HAS). La conférence d'expert recommande de déclencher la naissance à 36SA en cas de PE non sévère. Pour d'autres auteurs, il serait possible de temporiser jusqu'à 38SA [21].

IV- Physiologie et physiopathologie :

1- Embryologie et invasion trophoblastique :

Afin de mieux comprendre l'évolution naturelle de la PE et les différentes pistes de recherche pré-cliniques et cliniques dans le développement d'un traitement préventif et/ou curatif, il est nécessaire de préciser certains mécanismes physiopathologiques.

Le début de la grossesse est marqué par de nombreux mécanismes moléculaires permettant l'implantation de l'embryon. Il s'agit initialement d'échanges de signaux pré-implantatoires, puis d'échanges entre le blastocyste et l'épithélium utérin et enfin entre le blastocyste et l'endomètre qui constituent l'invasion trophoblastique, à l'origine du remodelage utérin lors de la vascularisation utérine.

Ces interactions sont médiées par les facteurs de croissance, les protéinases et leurs inhibiteurs, les composants de la matrice extra-cellulaire, les molécules d'adhésion et les hormones.

La formation du placenta comprend 2 grandes étapes, la **période pré-villeuse** et la **période villeuse**, elles mêmes subdivisées en 2 stades.

La période pré-villeuse s'étend du 6^{ème} au 13^{ème} jour, composée du stade pré-lacunaire du 6^{ème} au 9^{ème} jour puis du stade lacunaire du 9^{ème} au 13^{ème} jour.

Le **stade pré-lacunaire** (6^{ème} au 9^{ème} jour) correspond à l'implantation et la nidation. Il s'agit du début de la formation de la sphère chorale. Le trophoblaste se transforme au contact de l'endomètre en cytotrophoblaste et syncytiotrophoblaste dont l'activité lytique permet la pénétration dans la

muqueuse utérine (Figure 1). A ce stade se met en place le mésoblaste extra embryonnaire. De manière concomitante, les cellules fibroblastiques de l'endomètre se transforment en cellules déciduales et donnent naissance à la caduque basale. A ce stade, le bouton embryonnaire est devenu un disque didermique.

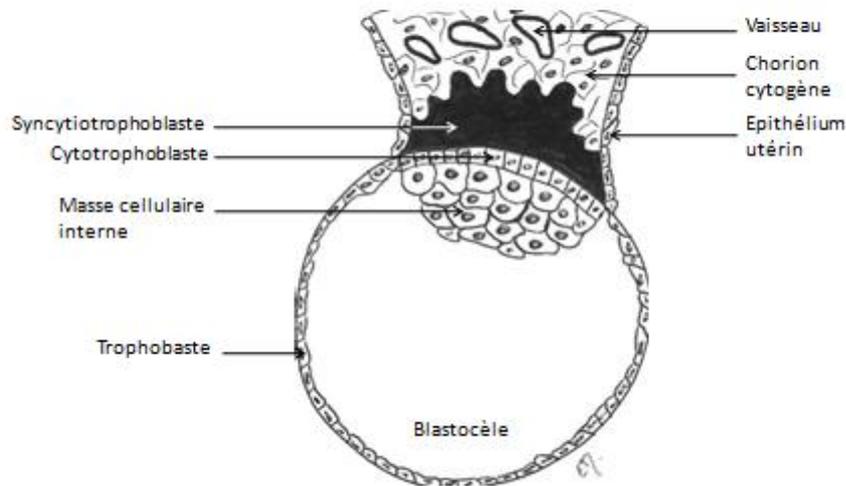


Figure 1 : Période pré-villeuse, stade pré-lacunaire.

Transformation du trophoblaste au contact de l'endomètre. Pénétration dans la muqueuse utérine donnant le cytotrophoblaste et le syncytiotrophoblaste.

Le **stade lacunaire** (9^{ème} au 13^{ème} jour) correspond à la fin de la nidation et à la cicatrisation de l'endomètre. Les lacunes apparaissent au sein du syncytiotrophoblaste (Figure 2) remplies initialement de sécrétions d'origine utérine et des cellules déciduales, puis remplies de sang par érosion des vaisseaux. Au niveau de l'endomètre, la réaction déciduale s'étend. A ce stade, la vésicule vitelline s'est formée à la face ventrale du disque embryonnaire.

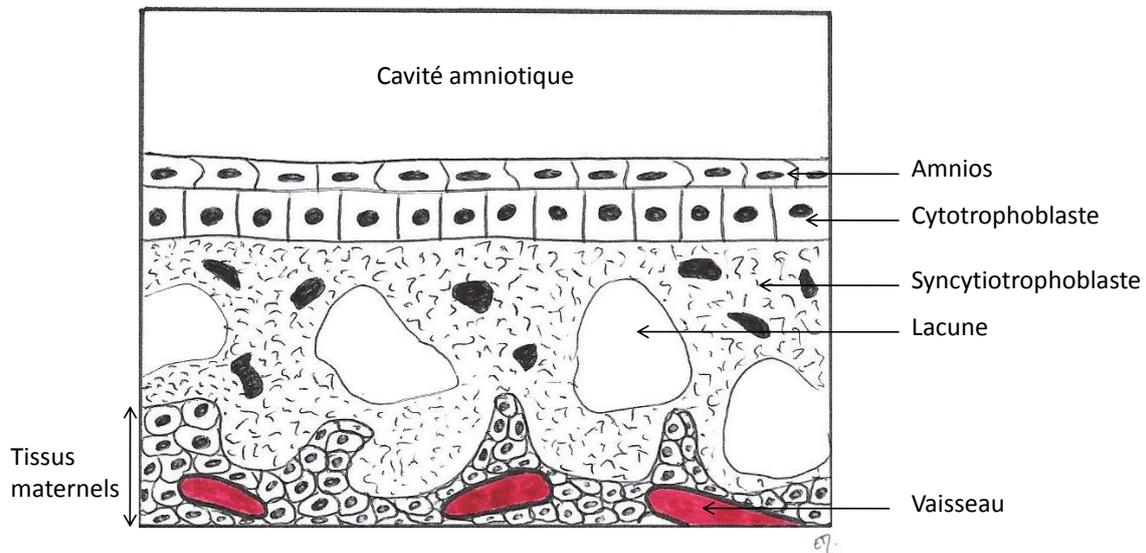


Figure 2 : Période pré-villeuse, stade lacunaire.

Apparition des lacunes au sein du syncytiotrophoblaste.

La **période villeuse** est composée du **stade d'élaboration** qui s'étend du 13^{ème} jour au 4^{ème} mois, puis du **stade d'état** du 4^{ème} mois jusqu'à terme.

Le début de la **phase d'élaboration** correspond à la formation de la chambre inter-villeuse (remplie de sang maternel) par les villosités primaires, puis les villosités crampons et les villosités libres (13^{ème} au 16^{ème} jour). Chaque villosité primaire est formée d'un axe cytotrophoblastique entouré de syncytiotrophoblaste (Figure 3). Du 16^{ème} au 18^{ème} jour, le cytotrophoblaste et le mésoblaste extra embryonnaire pénètrent dans le tronc de ces villosités primaires et les transforment en villosités secondaires. Du 18^{ème} au 21^{ème} jour, le mésoblaste villositaire se différencie en tissu conjonctif et vaisseaux sanguins, formant les villosités tertiaires, qui fournissent des vaisseaux sanguins connectés avec ceux de l'embryon (Figure 4). A la fin de la 3^{ème} semaine, le contact entre la circulation maternelle et la circulation fœtale est établi.

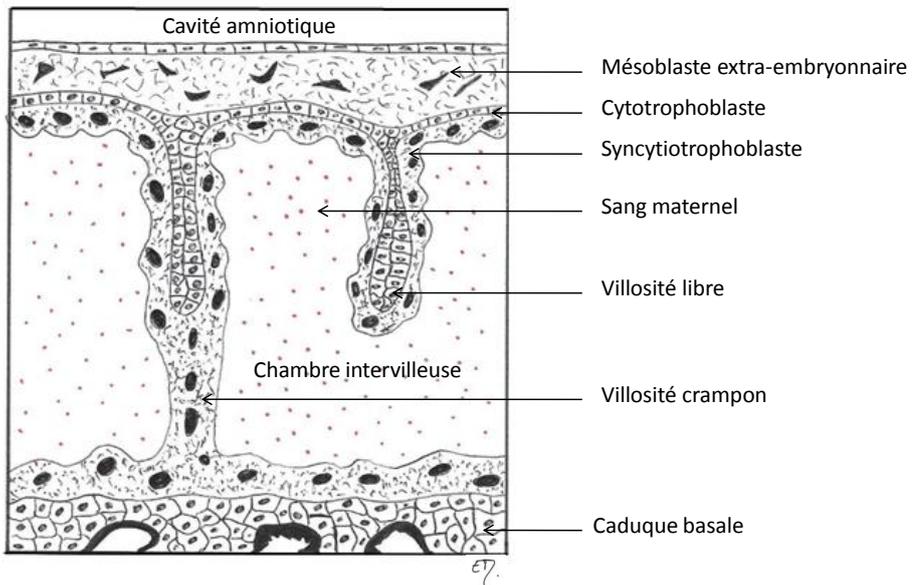


Figure 3 : Période villositaire. Formation des villosités primaires, libres et crampons.

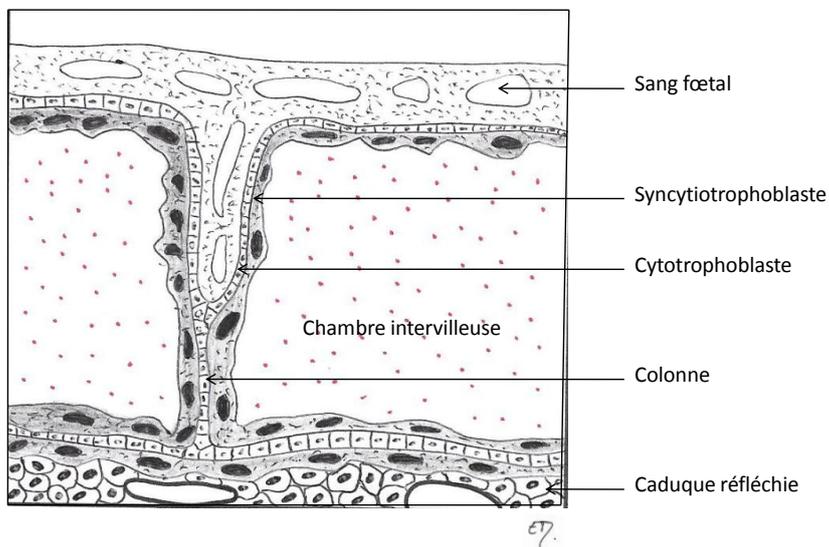


Figure 4 : Période villositaire. Formation des colonnes par l'extrémité cytotrophoblastique des villosités crampons.

L'invasion trophoblastique interstitielle et endovasculaire (Figure 5) :

Le cytotrophoblaste extra-villeux situé à la partie distale des villosités crampons s'engage dans l'endomètre, le tiers interne du myomètre et les artères spiralées maternelles. Cette invasion trophoblastique interstitielle entraîne une destruction de la média des artères spiralées, et ainsi une diminution des résistances vasculaires, l'artère devenant atone et insensible au contrôle vasoactif maternel. Les cellules cytotrophoblastiques extra villositaires s'engagent également dans la lumière des artères spiralées et forment des bouchons cytotrophoblastiques empêchant le sang maternel de pénétrer en abondance et sous pression dans la chambre inter-villeuse. Il s'agit de l'invasion trophoblastique endovasculaire. Ces bouchons disparaîtront à la 12^{ème} semaine. En outre, le cytotrophoblaste extra-villeux au contact du sang maternel entraînerait la sécrétion de facteurs angiogéniques, VEGF (*Vascular Endothelial Growth factor*) et PlGF (*Placental Growth Factor*), impliqués dans le remodelage vasculaire.

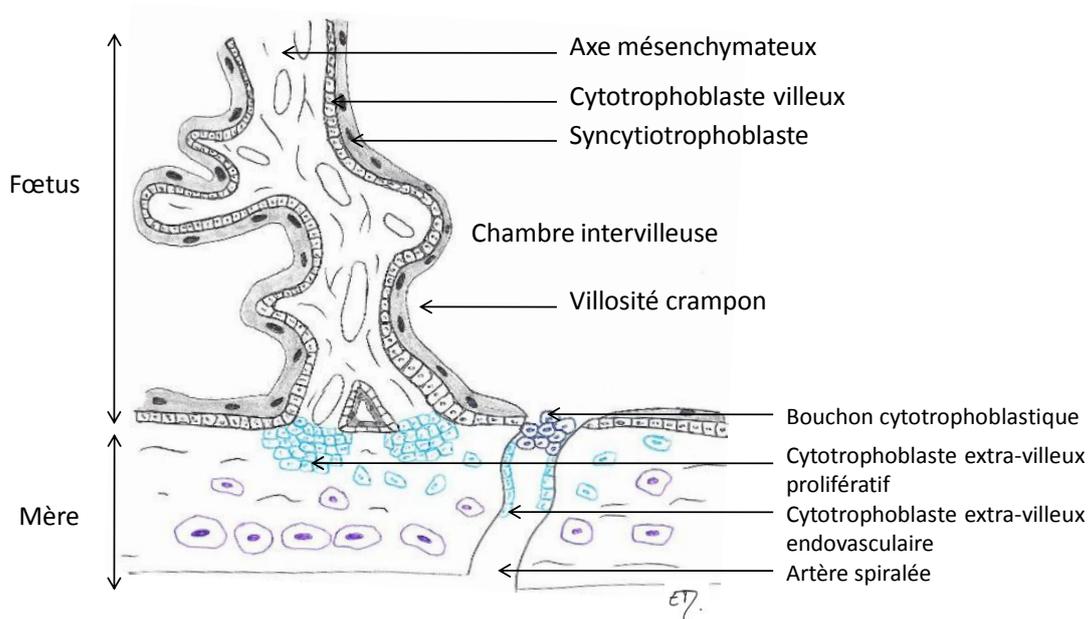


Figure 5 : Invasion trophoblastique interstitielle et endovasculaire.

A la fin du 2^{ème} mois, les villosités situées en regard de la caduque réfléchie disparaissent laissant place au chorion lisse. Les villosités situées en regard de la caduque basale se développent pour former le chorion chevelu qui sera à l'origine du placenta, formé des cotylédons et des membranes. Le placenta sera ensuite au **stade d'état** jusqu'à terme.

2- Physiopathologie de la PE

La PE est une maladie de l'endothélium vasculaire dont l'origine est placentaire. L'invasion trophoblastique, survenant avant la 20^{ème} semaine d'aménorrhée, est un phénomène physiologique primordial dans la mise en place de la vascularisation utéroplacentaire. La lésion primitive de la PE est décrite comme un défaut d'invasion du trophoblaste vers les artères spiralées utérines maternelles. Des facteurs de l'inflammation et de la régulation immunitaire pourraient être en cause dans le défaut d'invasion trophoblastique [22]. Le rapport du nombre de cellules trophoblastiques et de macrophages serait inversé dans les artères utérines des patientes pré-éclamptiques par rapport aux patientes avec une grossesse normale. Dans la grossesse physiologique, la non reconnaissance des cellules du trophoblaste par les cellules immunitaires limite leur activation ainsi que leur destruction. Dans la PE, le nombre de cellules immunitaires activées semblerait être augmenté. Les macrophages seraient donc impliqués dans les mécanismes régulant l'invasion trophoblastique. Le système HLA, et notamment le système HLA-G aurait également un rôle dans le développement de la PE. Normalement, le système HLA-G protège le cytotrophoblaste extra-villeux du processus cytotoxique des cellules NK (Natural Killer). Dans la PE, l'expression de HLA-G par les cytotrophoblastes serait absente ou diminuée. La première étape pré-clinique de la PE est donc le défaut de remodelage utérin avec comme point de départ vasculaire un défaut d'invasion trophoblastique à l'origine de :

1) La dysfonction placentaire :

Les résistances vasculaires utéro-placentaires restent élevées, les artères utérines conservent leur potentiel vasoconstricteur et l'ensemble associé au défaut de remodelage vasculaire par les cytotrophoblastes extra-villeux conduit à une hypoperfusion de la chambre intervillieuse et à l'hypoxie placentaire. Cette hypoxie placentaire peut entraîner, sur le plan fœtal, un RCIU, et sur le plan maternel, va générer une **dysfonction endothéliale** caractéristique de la PE.

2) La dysfonction endothéliale :

L'hypoxie placentaire produirait un **stress oxydatif** induisant le relargage de substances à activités vasoconstrictrice et agrégante plaquettaire. De plus, cela conduirait à augmenter la réponse inflammatoire impliquée dans l'activation endothéliale. La production de radicaux libres (stress oxydatif) aggraverait l'atteinte endothéliale en perturbant les voies de signalisation des **facteurs angiogéniques** (VEGF et PlGF) **et anti-angiogéniques** (sFlt1, *Soluble fms-like tyrosine kinase-1*, et sEng, Endogline soluble). La dysfonction endothéliale se manifesterait également par une diminution de la production des substances vasodilatatrices, prostacyclines et **NO** [23].

Ceci indique que la pathologie pré-éclampsique débute de façon infra clinique dès la placentation. Ces modifications expliquent les signes cliniques de la PE à savoir, une sensibilisation accrue des vaisseaux aux substances vasopressives, et l'altération de la paroi capillaire, responsable d'une fuite de liquide et de protéines dans l'interstitium. L'altération endothéliale s'auto-entretient et tend à se généraliser, à l'origine du syndrome clinique et biologique maternel potentiellement multi-viscéral.

V- Stress oxydatif (SO), antioxydants et PE :

La grossesse est un état favorisant le stress oxydatif, du fait d'une importante activité métabolique et par des mécanismes d'hypoxie-reperfusion. De façon physiologique, les dérivés actifs de l'oxygène (ROS) sont dégradés par les systèmes de défense antioxydants. Dans la PE, différents marqueurs du stress oxydant seraient augmentés [24]. Le placenta hypoxique générerait des radicaux libres par activation de la xanthine oxydase et de la NAD(P)H oxydase, et entraînerait l'activation des neutrophiles maternels et l'activation endothéliale maternelle retrouvée dans la PE. L'activation des cellules endothéliales maternelles contribuerait à l'établissement d'un cercle vicieux avec la production par les cellules endothéliales de molécules d'adhésion et de cytokines entraînant également l'activation de la xanthine oxydase et de la NAD(P)H oxydase conduisant à la production d'anions superoxydes [25]. D'autre part, la peroxydation lipidique semble être un facteur important dans la physiopathogénie de la PE [26]. La concentration en malondihaldéhyde, marqueur de la peroxydation lipidique, serait augmentée dans la PE avec un effet particulièrement toxique sur les cellules endothéliales [27].

Cependant, les résultats de différentes études évaluant la prévention de l'hypertension artérielle gravidique et de la PE par supplémentation en antioxydants sont pour le moment décevants. L'étude CCAPS (Combined Antioxidants and Preeclampsia Predictions Studies) dont l'objectif était d'évaluer

les effets de la supplémentation en vitamine E et C a conclu que ces suppléments n'entraînaient pas de différence significative sur les complications maternelles et fœtales en lien avec l'hypertension artérielle gravidique [28 ; 29]. Au vu de ces données, la Cochrane a publié qu'il n'existait actuellement aucune preuve de l'efficacité des suppléments en vitamines C et E dans la prévention de la PE [30 ; 31]. Par ailleurs, tous les antioxydants ne sont peut être pas tous comparables et deux équipes ont étudié les effets de la supplémentation en sélénium [32 ; 33]. Le rationnel était basé sur les résultats d'études in vitro qui retrouvaient un effet protecteur du Sélénium sur des cellules trophoblastiques soumises à un stress oxydant exogène [34 ; 35]. Ces études cliniques ne montraient pas non plus de différence significative sur l'incidence de la PE. De même Vadillo-Ortega et al. en 2011, ne retrouvait pas d'effet protecteur des antioxydants seuls dans la prévention de la PE [36].

VI- Facteurs angiogéniques et antiangiogéniques : sFlt1, VEGF, PlGF et sEng :

1- sFlt-1 :

sFlt-1 (*soluble fms-like tyrosine kinase-1*) est la forme soluble circulante du récepteur Flt-1 ou VEGF-R1 (récepteur endothélial à activité tyrosine kinase du VEGF de type 1) synthétisée par le placenta. Les molécules de sFlt1 sont issues de l'épissage alternatif de l'ARN messager du gène codant pour Flt1. Elles se lient au VEGF (*vascular endothelial growth factor*) et au PlGF (*placental growth factor*) circulants, au niveau du domaine de liaison de leur récepteur, inhibant la fixation à leur récepteur et la signalisation d'aval normalement induite.

2- VEGF :

Le rôle angiogénique du VEGF est bien connu, ainsi que son implication dans la production de monoxyde d'azote (NO) et de prostacyclines vasodilatatrices. De plus, les données de la littérature suggèrent l'importance du VEGF dans le maintien de l'intégrité du fonctionnement glomérulaire. La diminution de la biodisponibilité de VEGF pourrait ainsi expliquer l'hypertension et la protéinurie développées dans la PE.

3- PIGF :

Le PIGF est le facteur de croissance placentaire appartenant à la famille des VEGFs. Il est exprimé dans le cytotrophoblaste et le syncytiotrophoblaste. Il se lie également au récepteur VEGFR-1 (Flt1) et joue un rôle majeur dans l'angiogénèse placentaire.

4- sEng :

L'endogline soluble (sEng), est un autre facteur soluble dérivé du placenta, exprimé par les cellules trophoblastiques, qui inhibe la liaison du TGFβ à son récepteur, et altère la signalisation induite en aval [37] affectant ainsi la production de NO, la vasodilatation et la formation des capillaires par les cellules endothéliales. La production de sEng n'est pas issue de l'épissage alternatif de l'ARNm du gène de l'endogline, mais ferait appel à une protéase de surface.

5- Variation des facteurs angiogéniques et antiangiogéniques dans la PE :

Dans la grossesse normale, la concentration en sFlt1 est basse, permettant l'induction correcte des signaux angiogéniques sous le contrôle du VEGF et du PIGF. Le défaut de perfusion placentaire, dans la PE, augmenterait la synthèse placentaire de sFlt1 diminuant la biodisponibilité du VEGF et PIGF.

Maynard et Levine ont commencé à s'intéresser à l'étude de la variation des facteurs angiogéniques dans la PE en 2003-2004 [38 ; 39] (Figure 6), puis de nombreuses équipes ont confirmé l'intérêt nouveau porté à ces marqueurs dans le dépistage biologique de la PE avant la confirmation clinique.

Dans la PE, de fortes concentrations plasmatiques de s-Flt1, ont été décrites. Maynard et al. en 2003 [38], retrouvaient une augmentation significative de l'expression placentaire de sFlt1 chez les patientes pré-éclampsiques, associée à une augmentation de la concentration sérique de protéine circulante sFlt1. Les niveaux sériques de sFlt1 diminuaient 48h après l'accouchement. De plus, cette étude a montré que l'apport exogène de sFlt1 sur modèle animal suffisait à générer une hypertension et une atteinte glomérulaire semblable à la PE, et que les effets étaient dose-dépendants. Il a également été mis en évidence une diminution du VEGF libre chez les patientes PE.

Ces résultats confirment les différentes données de la littérature à savoir que la concentration de VEGF total (libre et lié) est normale voire augmentée dans la PE (peut être en réponse à l'ischémie placentaire) mais que la fraction de VEGF libre est diminuée, du fait de l'excès de production de sFlt1.

Les données sont comparables pour le PIGF, même si l'affinité de sFlt1 semble plus forte pour le VEGF que le PIGF [38]. Cependant, il existe probablement d'autres facteurs impliqués dans la PE. En effet, même si pour la plupart des patientes pré-éclampsiques de l'étude de Maynard et al. en 2003 [38], les niveaux sériques de sFlt-1 étaient très élevés, dans quelques cas de PE modérées, la concentration de sFlt1 n'était que faiblement augmentée. De plus, les rates, pour lesquelles une HTA

et une protéinurie ont été induites par sFlt1, ne présentaient jamais de thrombopénie. Ceci suggère qu'il existe probablement d'autres facteurs entrant en jeu dans le développement du HELLP syndrome des PE sévères humaines.

On ignore en revanche si l'augmentation de l'expression placentaire de sFlt1 est primitive ou secondaire. En effet une augmentation primitive de sFlt1 pourrait être la cause du défaut d'invasion trophoblastique puis de la PE. A l'inverse, l'augmentation de sFlt1 pourrait également être secondaire au défaut d'invasion trophoblastique qui diminue le flux sanguin placentaire et induit un déséquilibre des facteurs angiogéniques entraînant un stress oxydatif et une dysfonction endothéliale. Une meilleure compréhension de ces mécanismes et de la régulation de sFlt1 pourraient permettre non seulement de définir des marqueurs de risque de développer une PE, mais également d'envisager ainsi des actions thérapeutiques préventives et/ou curatives.

6- Les biomarqueurs : Facteurs angiogéniques et antiangiogéniques : marqueurs prédictifs et marqueurs de sévérité de la PE.

Levine et al. en 2004 [39] ont montré qu'une augmentation du sFlt1 plasmatique et une chute du PIGF prédirait la survenue de la PE. Chez les femmes témoins (grossesses sans PE), la concentration sérique de sFlt1 était constante jusqu'à 33-36SA, puis augmentait d'environ 145pg/mL par semaine jusqu'à l'accouchement. Chez les patientes qui étaient sur le point de développer une PE, mais avant l'apparition de signes cliniques, ils notaient l'augmentation plus précoce du sFlt1, à partir de 21-24SA. Le niveau augmentait 9 à 11 semaines avant l'apparition de la PE clinique. De plus, les patientes ayant une PE avérée avaient, à un terme comparable, des concentrations plus élevées de sFlt1. Le PIGF, chez les femmes témoins, augmentait pendant les 2 premiers trimestres de la grossesse avec un pic à 29-32SA, puis diminuait. Chez les patientes pré-éclamptiques, l'évolution était comparable mais avec des niveaux initiaux à 13-16SA significativement plus bas que chez les témoins (90pg vs 142pg p=0,01). Ce bas niveau de PIGF en début de grossesse pourrait jouer un rôle dans le défaut d'invasion trophoblastique. Dans cette même étude, ils retrouvaient une concentration diminuée de VEGF, 5 semaines avant l'apparition de la PE mais ces concentrations basses n'étaient pas significativement prédictives de la survenue d'une PE. En revanche le niveau de VEGF au troisième trimestre comme celui de l'endogline semblaient corrélés à la sévérité de la PE.

L'étude de Thadhani et al. en 2004 [40] est venue préciser ces résultats en montrant que l'association d'une augmentation sérique de sFlt1 et la diminution du PIGF au premier trimestre serait prédictive de la survenue d'une PE. La combinaison de ces dosages permettrait de les différencier des patientes présentant un risque accru de développer une HTA gravidique ou un RCIU. Par ailleurs, les résultats

semblaient montrer l'absence d'intérêt du dosage de VEGF au premier trimestre. D'autres études ont été menées sur la corrélation des concentrations plasmatiques de PIGF et sFlt1 et la sévérité de la PE. Robinson et al. en 2006 [41] ont mis en évidence que seul le niveau de PIGF était corrélé à la sévérité de la PE.

Physiologiquement, le niveau de sEng augmente pendant les 2 derniers mois de la grossesse [42] (Figure 6). L'élévation plasmatique des concentrations de sEng chez les patientes qui vont développer une PE est plus précoce, précédant de 2 à 3 mois l'apparition des signes cliniques. Cette augmentation de sEng est parallèle à l'augmentation du ratio sFlt1/PIGF. Chez la femme enceinte, entre la 21^{ème} et la 32^{ème} semaine, l'élévation de sEng est plus importante en cas de PE sévère, et s'accompagne habituellement d'une élévation du rapport sFlt1 / PIGF libre. Ce dernier rapport est plus élevé en cas de retard de croissance intra-utérin associé à la PE [42]. Les femmes développant un HELLP syndrome proche du terme ont des concentrations de sEng et des valeurs de rapport sFlt1 / PIGF libre plus élevées que les femmes développant, au même moment, une PE sans critère de gravité [42]. Rana et al. en 2012 [43], retrouvaient également que le niveau de sEng était significativement plus élevé chez les patientes pré-éclamptiques qui allaient développer une complication maternelle ou fœtale de leur PE, par rapport aux PE non sévères. La sEng serait, de même que sFlt1, augmentée dès le premier trimestre de la grossesse chez les patientes qui vont développer une PE lors de cette grossesse [44]. Chez l'animal, sEng et sFlt1 agissent de concert pour induire un phénotype clinique de PE sévère, compliqué d'un HELLP syndrome et d'un retard de croissance intra-utérin [37].

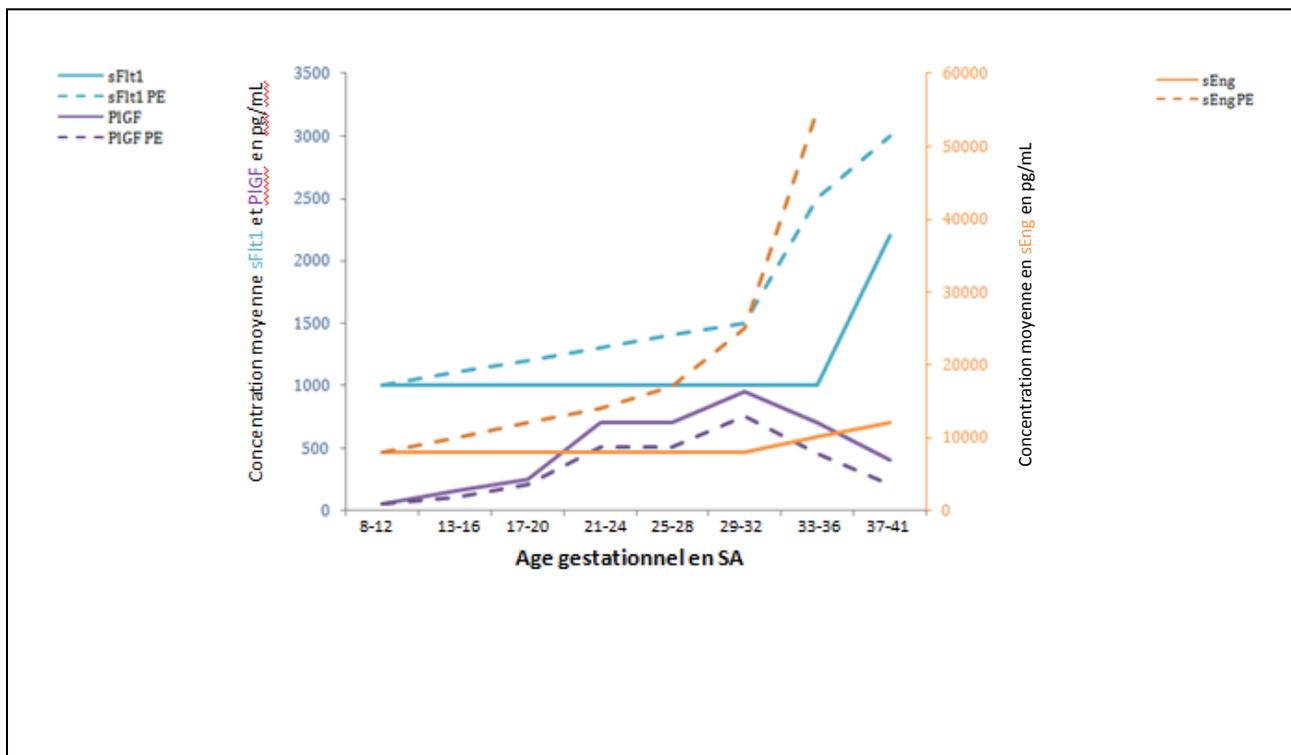


Figure 6 : Représentation schématique de l'évolution des concentrations plasmatiques de sFlt1, PIGF et sEng pendant la grossesse normale (_____) et chez les patientes qui déclareront une pré-éclampsie (- - -). D'après les données de Levine et al. 2004 [39].

Stepan, Verlohren et al. [45] ont proposé une aide à la décision en se basant sur le rapport Flt1/PLGF. Ils ont retenu un ratio seuil de 85 pour préciser le risque de développer une PE avec une sensibilité de 82% et une spécificité de 95%. Plus les formes étaient précoces, meilleures étaient la sensibilité et la spécificité. Au sein de notre équipe, C. Tardif et al. retrouvaient également une forte spécificité (93%) du ratio sFlt1/PIGF > 85 dans la prédiction de survenue d'une pré-éclampsie dans un groupe à risque, mais en revanche une faible sensibilité (25%).

Il est possible que ces biomarqueurs soient corrélés à la gravité de la PE et que la stabilisation de ces marqueurs puisse être une solution pour contrôler la PE et ses complications [46]. Un des arguments supplémentaires est la relation entre l'amélioration du pronostic materno-fœtal et les plasmaphèreses visant à diminuer la concentration sérique de Flt1 [47].

7- Facteurs angiogéniques et RCIU :

Romero et al. ont étudié en 2008 [48] les concentrations plasmatiques de sEng, sFlt1, et PlGF dans les grossesses physiologiques, les grossesses compliquées de RCIU exemptes de PE, et les grossesses compliquées de PE. Ils retrouvaient que seules les modifications de sEng et PlGF précédaient la naissance de RCIU.

VII- Monoxyde d'azote :

1- Monoxyde d'azote (NO) et PE :

Des progrès significatifs ont été enregistrés dans la compréhension des divers médiateurs endothéliaux impliqués dans la régulation et l'adaptation du tonus vasculaire systémique. Ils ont montré le rôle central de la production locale, adaptée de NO, métabolite terminal du métabolisme endothélial de la L-arginine, en particulier régulée par l'activation de la NO synthétase endothéliale (eNOS). L'oxyde nitrique est un exemple de radical libre réactif avec l'oxygène (ROS) qui à l'inverse du superoxyde, du peroxyde hydrogène, du radical hydroxyle et du peroxydinitrite, ne semble pas causer de trouble dans l'organisme [49]. Le monoxyde d'azote régule le développement embryonnaire, l'implantation et l'invasion trophoblastique [50]. Le NO induit la relaxation musculaire lisse, inhibe l'activation plaquettaire au contact de l'endothélium, et l'adhésion leucocytaire. Il contribue à la régulation de la pression sanguine, de la perméabilité vasculaire et de l'angiogenèse. Il permet l'augmentation physiologique de la volémie pendant la grossesse. Il est établi que la production de NO augmente au cours de la grossesse normale [51 ; 52]. Dans la PE, Il existe un défaut de synthèse du NO [23]. De plus, Il a été décrit que la grossesse était un état de déficit potentiel en arginine, du fait de l'augmentation de synthèse de NO pour la vasodilatation adaptative de la grossesse et l'utilisation de la L-arginine par le fœtus [51].

La régulation de l'activation de la eNOS obéit, entre autres, à 2 voies de signalisation cellulaire dépendantes de facteurs angiogéniques. La première est activée par l'engagement du récepteur de surface du VEGF (VascularEndothelialGrowth Factor) et du PlGF (PlacentalGrowth Factor), dénommé Flt1, exprimé par les cellules endothéliales et le trophoblaste : la voie de signalisation sous-membranaire alors mobilisée induit la phosphorylation du résidu Ser1177 de la eNOS, son activation et la production de NO. La seconde est activée par l'engagement du récepteur de surface au TGF- β 1 (TransformingGrowth Factor), dénommé T β R11 : la voie de signalisation sous-membranaire alors mobilisée induit la déphosphorylation du résidu Thr495 de la eNOS, favorisant son activation et la

production de NO. Le récepteur TβRII admet un co-récepteur de surface, l'endoglin (CD105), hautement exprimé à la surface de l'endothélium et du syncytiotrophoblaste, qui module l'action du TGFβ1. L'endogline se localise dans la caveole, invagination de la membrane cytoplasmique cellulaire recouverte de caveoline, soumise à endocytose sur le mode puits à clathrine, où elle peut s'associer avec la eNOS, régulant alors son activité et le tonus vasculaire local [53]. La régulation endothéliale de l'activité de la eNOS est complexe, impliquant une régulation dynamique de son statut de phosphorylation. Tandis que la phosphorylation du résidu Ser1177 est indicative de l'activation de la eNOS induite par les agonistes, elle est précédée par une déphosphorylation du résidu Thr495. La coordination de ces réactions détermine l'activité de la eNOS endothéliale [54]. Par ailleurs, le trophoblaste invasif synthétise du NO qui contribue aux modifications physiologiques précoces des artères spiralées utérines, avant la destruction de ses cellules musculaires lisses par les cellules invasives [55].

L'insuffisance de production du NO peut donc avoir deux conséquences:

- la mise en place des conditions placentaires qui prévalent à l'installation de la PE et /ou du RCIU d'origine placentaire,
- la médiation de la dysfonction endothéliale systémique de la PE.

De plus, le NO est un puissant inhibiteur de l'agrégation et de l'activation plaquettaire par des mécanismes dépendants et indépendants de la cGMP [56]. L'augmentation de l'agrégation plaquettaire est retrouvée chez les patientes pré-éclamptiques [57].

2- Facteurs angiogéniques et NO :

La conséquence commune de l'inhibition des deux voies de signalisation dépendantes de facteurs angiogéniques par ces 2 médiateurs solubles sFlt-1 et sEng, issus du placenta, est l'induction d'un syndrome biologique de déficit en NO, avec ses conséquences cliniques. En effet, l'augmentation de sFlt1 et sEng dans la PE entraînerait une diminution de l'angiogénèse et une régulation négative de la production de NO [42 ; 58].

Au total, la NOS est exprimée de façon constitutionnelle dans la cellule endothéliale et son activité dépend de son expression, de la disponibilité de son substrat, l'Arginine, et de la concentration des inhibiteurs associés à la PE (sFlt1, Eng, asymmetric dimethylarginine : ADMA).

3- Calcium et NO :

Le rôle du Calcium dans la prééclampsie est hautement probable, en particulier dans certaines populations à risque, mais ses mécanismes restent controversés. La Cochrane Database, à partir de 14 études sur plus de 15 000 femmes, a conclu que la supplémentation en calcium permettait une diminution significative du risque de PE dans les populations carencées en calcium [59]. Le rôle du NO pourrait en être un des maillons physiopathologique. Lopez-Jaramillo et al. en 1996 [60] et Chen et al. en 2013 [61] ont ainsi montré que la supplémentation en calcium pouvait jouer un rôle important dans le maintien de la production de NO et la prévention de la PE.

4- Héparine de bas poids moléculaire (HBPM) et NO :

Il a été montré, in vitro, par Yagüe et al. en 2005 [62] que les HBPM pouvaient stimuler la production endothéliale de NO via le VEGF. Par ailleurs, une étude menée sur un modèle animal de rat a mis en évidence que les complexes protamine-héparine stimulaient la synthèse de NO à partir de la NOS inductible conduisant à une hypotension artérielle [63].

Les HBPM peuvent modifier favorablement les Dopplers utérins qui sont à ce jour le meilleur critère prédictif de la PE et du RCIU vasculaire [64] ouvrant des perspectives aux anticoagulants dans la prévention de la PE.

Ainsi, dans le cadre de la prévention secondaire de la PE, un essai national français randomisé multicentrique est actuellement terminé et en cours d'analyse (HEPEPE : Prévention par une héparine à bas poids moléculaire des complications maternelles et fœtales chez les patientes ayant un antécédent de pré-éclampsie sévère avant 34 semaines d'aménorrhée), comparant un groupe aspirine 100mg/jour seule (jusqu'à 35SA) et un groupe aspirine 100mg/jour (jusqu'à 35SA) associée à l'énoxaparine 4000UI/jour jusqu'à l'accouchement.

VIII- Les donneurs de NO :

Cette classe thérapeutique nous sensibilise particulièrement. En effet, comme nous venons de le rappeler précédemment, la dysfonction endothéliale et la diminution de la biodisponibilité en NO semblent jouer un rôle clé dans la physiopathologie de la PE.

L'absence de traitement étiologique implique une mortalité et morbidité maternelle et fœtale persistante. Les composants intervenant sur la voie NO-guanylatecyclase soluble (sGC) en augmentant la biodisponibilité du NO pourraient avoir un intérêt dans la prévention de la PE (Figure 7). Ces molécules sont regroupées sous le terme de donneurs de NO. Parmi celles-ci un certain

nombre ont donné lieu à des études précliniques et/ou cliniques concernant la pré-éclampsie : les nitrates organiques (GTN et ISDN), les S-nitrosothiols, les inhibiteurs de la dégradation de la guanosine 3',5'-monophosphate cyclique (GMPC) tels que le Sildenafil, l'arginine et la citrulline.

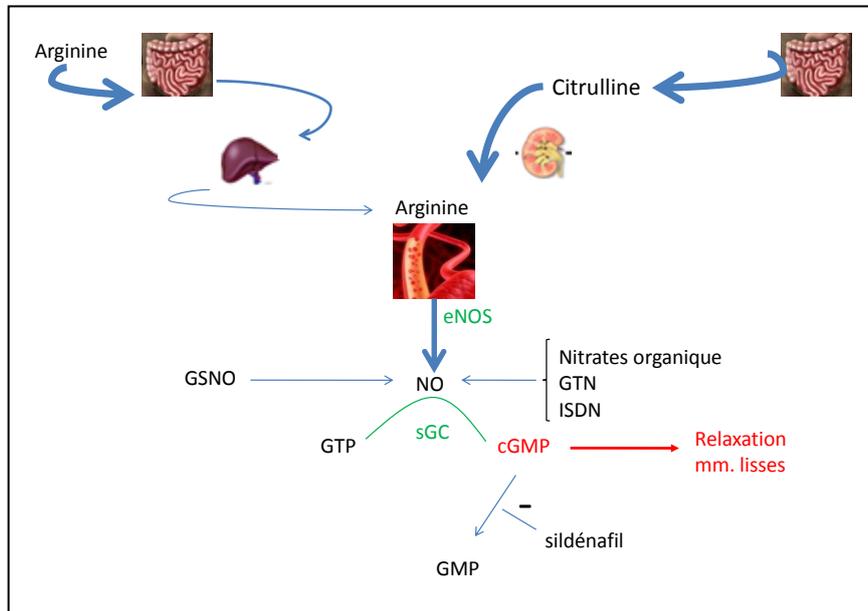


Figure 7 : Voie de la guanylate cyclase soluble (sGC) : La fixation de NO sur l'hétérodimère αβ constituant la sGC permet son activation.

1- Les nitrates organiques :

Le glyceryltrinitrate (GTN) [65 – 73], connu pour le traitement de l'angine de poitrine, ainsi que l'isosorbidedinitrate (ISDN) [74 – 78] ont été évalués dans le cadre de grossesses compliquées d'HTA maternelle, de PE ou de RCIU (Tableaux 1 et 2). Ces études, utilisant des voies d'administration diverses (IV, transdermique et sublinguale) ont montré des effets intéressants sur l'index de pulsatilité (IP) (Indice de Pulsatilité IP= (systolique-diastolique)/vitesse moyenne) et de l'IR (index de résistance IR= (Systolique-Diastolique)/Systolique) des artères utérines et ombilicales ainsi que sur la diminution de la pression artérielle maternelle. En revanche, il n'était pas retrouvé d'effet préventif sur l'incidence de la PE dans les groupes à risque. Il n'existe donc pas de donnée pour proposer les nitrates organiques en prévention de la PE.

Tableau 1 : Etudes cliniques évaluant les effets du glycéryltrinitrate (GTN)

	Résultats significatifs		Résultats non significatifs	
PA Doppler	<ul style="list-style-type: none"> • Grunewald 1995 [66], n=12 PE sévère ↓ significative PA maternelle ↓ significative IP a.ombilicale • Cétin 2004 [67], n=55 24 PE sévères, 15 éclampsie, 16 HELLP ↓ significative PA dans tous les groupes rétrospective, PA/PA 1^{er} jour de traitement, association MgSO4. • Manzur-Verastegui 2008 [68], n=32 randomisée double aveugle GTN vs nifédipine sublingual PE sévère, péripartum, assoc MgSO4 effet plus important et plus rapide avec GTN. 	I V	<ul style="list-style-type: none"> • Ramsay 1994 [65], n=15 Doppler utérins anormaux 24-26SA, Pas d'effet sur paramètres maternels et fœtaux 	PE RCIU
	<ul style="list-style-type: none"> • Cacciatore 1998 [69], n=17 PE traitement 3 jours consécutifs ↓ significative IP et IR, retour valeur base 12h après arrêt du traitement. • Trapani 2011 [70], n=30 PE sévère+anomalies Doppler traitement 3 jours consécutifs ↓ significative IP et IR aa.ut ériques +ombilicale ↓ signif. PAM 		P A T C H	
	<ul style="list-style-type: none"> • Luzi 1999 [71], n=30 vs placebo, 10 PE, 10MAP, 10 contrôles ↓ significative PA et IP ombical groupe PE ↓ significative IP IR groupes PE et MAP 	S L		

Tableau 2 : Etudes cliniques évaluant les effets de l'isosorbidedinitrate (ISDN).

		Résultats significatifs	Résultats non significatifs
PA Doppler	SL	<ul style="list-style-type: none"> Thaler 1999 [74], n=23 HTA gravidique ↓ significative PAM ↓ significative S/D aa. utérines et ombilicale Martnez-Abundis 2000 [76], n=60 randomisée double aveugle PE ↓ PAD Thaler 1996 [77], n=18 (abstract) grossesse faible risque ↓ significative PAM ↓ significative S/D aa. utérines et ombilicale 	
	P A T C H	<ul style="list-style-type: none"> Nakatsuka 2002 [75], n=12 PE ↓ significative PA ↓ significative IP aa. utérines Makino 1997 [78], n=37 18PE, 19 normales ↓ significative IR a. omb ilicale groupe PE 	<p>Pas de différence sur la PA Pas de différence sur IR aa. utérines</p>

2- Les S-Nitrosothiols :

D'autres donneurs de NO tels que les S-nitrosothiols pourraient également avoir un intérêt dans les complications thrombotiques et vasculaires de la PE. Etudiée en dehors de la grossesse, cette molécule a montré une diminution significative de l'agrégation plaquettaire [79 ; 80]. Dans la PE, l'utilisation de s-nitrosogluthatione (GSNO) a montré une diminution significative dose-dépendante de la pression artérielle, de la résistance des artères utérines et de l'activation plaquettaire [81], ainsi qu'une diminution significative du ratio protéinurie/créatinine et une forte tendance à la diminution du taux de sEng [82].

3- Le Sildénafil :

Concernant le Sildénafil, une étude menée sur modèle animal de rates pré-éclamptiques retrouvait un effet du Sildénafil avec une diminution significative de sFlt1 et sEng [83]. Une autre étude préclinique montrait une amélioration de la pression artérielle, de la protéinurie, et de la perfusion placentaire par le sildénafil [84]. En revanche, concernant les effets du sildénafil sur le RCIU, les résultats étaient contradictoires sur les données précliniques [85 – 86].

Sur le plan clinique (Tableau 3), Samangaya et al. en 2009 [87] ont étudié le traitement par sildénafil dans la PE entre 24 et 34 SA et ne retrouvaient pas de prolongation de la grossesse. En revanche, Panda et al. en 2014 [88] ont rapporté, à propos d'un cas, l'effet du sildénafil sur la diminution de l'IP (Indice de Pulsatilité $IP = \frac{\text{systolique} - \text{diastolique}}{\text{vitesse moyenne}}$) et de l'IR (index de résistance $IR = \frac{\text{Systolique} - \text{Diastolique}}{\text{Systolique}}$) des artères utérines dans le RCIU. D'autre part, Von Dadelszen et al. en 2011 [89] montraient sur 27 patientes présentant un RCIU sévère, une augmentation significative de la dynamique de croissance du périmètre abdominal après administration de sildénafil per os. Plusieurs équipes dans le monde travaillent actuellement sur les effets du Sildénafil dans le cadre du RCIU, dont les résultats préliminaires devraient être connus fin 2016 (STRIDER).

Tableau 3 : Etudes cliniques évaluant les effets du sildénafil :

		Résultats significatifs	Résultats non significatifs
Prolongement Grossesse	P E R O S	<ul style="list-style-type: none"> Panda 2014 [88] case report RCIU diminution IP et IR aa. utérines Von Dadelszen 2011 [89], n=27 RCIU sévère précoce augmentation significative de la dynamique de croissance (périmètre abdominal) 	<ul style="list-style-type: none"> Samangaya 2009 [87], n=35 PE 24-34SA Randomisée double aveugle n=17 sildénafil n=18 placebo pas de prolongement de la grossesse
RCIU			

Enfin, des équipes se sont portées vers un précurseur endogène de NO, pouvant également être apporté par voie exogène : l'Arginine. Dans notre projet, nous étudierons les effets de la citrulline, acide aminé précurseur de l'arginine dont l'apport par voie orale semble offrir une meilleure biodisponibilité en arginine que l'apport exogène d'arginine elle-même.

4- L'Arginine :

L'arginine, $C_6H_{14}N_4O_2$, est un acide aminé semi-essentiel, ce qui signifie que l'organisme peut le synthétiser mais que dans certaines conditions et selon l'âge développemental, cette synthèse est insuffisante pour répondre aux besoins et l'apport exogène serait donc nécessaire [90]. Environ 85% de la production endogène d'arginine provient de la libération par la protéolyse des protéines corporelles, et 15% d'une synthèse de novo. L'arginine est physiologiquement active sous sa forme L. La majeure partie de l'arginine est utilisée par les mammifères pour la synthèse protéique. L'arginine est également impliquée dans la synthèse de polyamines jouant un rôle clé dans la division cellulaire, la croissance tissulaire et la différenciation [91]. L'arginine apportée per os est absorbée au niveau de l'intestin grêle et une partie de l'arginine absorbée est métabolisée dans l'entérocyte. L'autre partie entre dans la circulation portale, est transportée jusqu'au foie où elle y est métabolisée. La L-arginine peut être catabolisée par des arginases, la NO synthase, l'arginine:glycineamidinotransférase, et l'arginine décarboxylase. Il en résulte au final une production d'urée, de proline, de glutamate, de polyamines, de monoxyde d'azote, de créatine et d'agmatine [92]. Son métabolisme est complexe et hautement régulé. Ces différentes réactions dépendent des tissus, des enzymes et de la disponibilité en arginine elle-même. L'arginine est le seul précurseur endogène de la synthèse de monoxyde d'azote. Le NO est produit par tous les tissus, formé à partir de la L-arginine par une enzyme, l'oxyde nitrique synthase (NOS). Il est à noter que la production de NO peut être affectée par la compétition entre la NOS, les arginases et l'argininosuccinatesynthétase. Le NO active la guanylatecyclase qui catalyse la synthèse de GMP cyclique. La grossesse semble être un état favorisant la carence en arginine, du fait de l'augmentation des besoins en NO [23]. Le NO est utilisé pour la vasodilatation nécessaire à l'adaptation vasculaire maternelle. Nous savons qu'il existe une diminution du NO chez les patientes présentant une pré-éclampsie.

Etudes pré-cliniques:

Des études sur modèles animaux ont démontré que le système L-arginine-NO était régulé de façon positive pendant la grossesse. De plus, l'hypertension, la protéinurie, le retard de croissance intra-utérin pourraient être induits par un blocage de la synthèse de NO, et l'hypertension induite par l'inhibition de la synthèse de NO pourrait être réversible par la supplémentation en arginine [93 ; 94]. La supplémentation en arginine semblerait améliorer la circulation utéro-placentaire et diminuer la pression artérielle maternelle. De plus, la supplémentation *per os* en arginine dans un modèle de RCIU induit par une hypoxie maternelle chez la rate, aurait un effet préventif sur le RCIU [95]. A l'inverse, l'inhibition de la NOS par la N-acetyl-methyl-arginine (L-NAME), analogue de l'arginine, entraîne une hypertension artérielle maternelle et un RCIU [96].

Etudes cliniques (Tableau 4) :

- Arginine et pression artérielle :

Plusieurs équipes ont travaillé sur la supplémentation en arginine dans le cadre de grossesses compliquées d'HTA, de PE ou de RCIU. Les résultats portent souvent sur de faibles effectifs et sont discordants, tant pour l'effet sur la pression artérielle que sur la croissance fœtale.

Deux études retrouvent un effet bénéfique de l'arginine apportée par voie parentérale sur la pression artérielle maternelle. Une première étude de Facchinetti et al. en 1999 [97] portant sur 23 patientes, 12 grossesses normales et 17 pré-éclampsiques retrouvait une diminution significative de la pression artérielle dans les 2 groupes traités par arginine, avec un effet plus important pour les patientes pré-éclampsiques. Par ailleurs il était observé une augmentation du taux sérique de nitrites chez les patientes normo tendues traitées par arginine, non retrouvée chez les patientes pré-éclampsiques traitées. Zhang et al., en 2007 [98] ont étudié l'effet de l'arginine comparé au traitement habituel chez des patientes dont la grossesse était compliquée d'un retard de croissance intra utérin et d'une HTA. 35 patientes ont été traitées par arginine IV pendant 14 jours. Il était retrouvé une diminution significative de la pression artérielle maternelle, de l'IR et de l'IP des artères utérines. Les concentrations plasmatiques de NO maternel et ombilical étaient augmentées chez les patientes recevant l'arginine par rapport à celles recevant le traitement habituel, mais restaient cependant inférieures aux concentrations des témoins.

La supplémentation en arginine *per os* a également été étudiée. Les résultats des études sont discordants. Deux auteurs retrouvaient une diminution de la pression artérielle maternelle chez les patientes pré-éclampsiques [99], ou avec Dopplers utérins pathologiques [100]. En revanche, Staff et al. en 2004 [101] ne retrouvaient pas de différence sur la PA dans une étude randomisée en double

aveugle chez des patientes pré-éclamptiques entre 28 et 36 SA traitées pendant 5 jours. Néri et al. en 2010 [102], dans une autre étude randomisée en double aveugle chez des patientes hypertendues chroniques traitées par arginine par voie orale avant 16 SA, ne retrouvaient pas de différence sur la pression artérielle. Cependant, il semblait exister une tendance à la diminution de l'incidence de la PE pour les naissances avant 34 SA.

- **Arginine et RCIU :**

Trois études ont retrouvé un effet bénéfique de l'arginine dans le retard de croissance intra utérin. Shen et al. en 2011 [103] retrouvaient une augmentation significative du diamètre bipariétal, de la longueur fémorale et du périmètre abdominal. Xiao et Li en 2005 [104] rapportaient une augmentation significative du poids de naissance dans le groupe recevant de l'arginine IV, dans le cas de RCIU peu sévères. Sieroszewski et al. en 2004 [105] retrouvaient des résultats comparables dans le RCIU peu sévère, avec une supplémentation en arginine par voie orale. Cependant, Winer et al. en 2009 [106], dans notre équipe, ne retrouvaient pas d'effet de la supplémentation entérale en arginine dans le RCIU sévère. Cette discordance a soulevé 2 hypothèses : soit il s'agissait de RCIU trop sévères traités trop tardivement, soit que l'arginine *per os* était inefficace du fait de son extraction splanchnique, argument soutenu par l'absence de différence sur les nitrites/nitrates dans les deux groupes (Arginine et Placebo).

- **Arginine et pré-éclampsie :**

Une seule étude de haut niveau de preuve, celle de Vadillo-Ortega et al. en 2011 [36], s'est intéressée à la supplémentation en arginine avec pour objectif principal l'incidence de la PE. Il s'agissait d'une étude randomisée en double aveugle, contrôlée versus placebo, portant sur 672 patientes ayant un antécédent personnel ou un antécédent familial au premier degré de PE. L'inclusion avait lieu entre 14 et 32 SA. Les patientes recevaient soit une supplémentation en arginine et antioxydants, soit une supplémentation en antioxydants seuls, soit un placebo. Dans le groupe supplémenté en arginine, la posologie était de 6,6g d'arginine par jour. Vadillo-Ortega retrouvait une diminution significative ($p < 0,001$) de l'incidence de la PE dans le groupe recevant l'arginine et les antioxydants par rapport aux deux autres groupes, lorsque la supplémentation était débutée avant 24SA. En revanche, il ne retrouvait pas d'effet sur le poids fœtal. Il était noté que le taux plasmatique de L-arginine était plus bas chez les patientes qui ont ensuite développé une PE. Cette étude relance l'intérêt des donneurs de NO dans les pathologies vasculaires placentaires.

Tableau 4 : Etudes cliniques évaluant les effets de l'arginine.

		Résultats significatifs		Résultats non significatifs
PA	RCIU	<ul style="list-style-type: none"> • Facchinetti 1999 [97], n=29 12 grossesses normales, 17 PE 1 perfusion 30g arginine diminution significative de la PA dans les 2 groupes, plus importante pour PE, augmentation sériques des nitrites chez normoTA, pas chez les PE. • Zhang 2007 [98], n=35/33 (arg/traitement habituel) HTA+RCIU 20g/jour pendant 14 jours diminution significative PAD, PAS, IR, IP aa. utérines augmentation taux NO plasmatique maternel et ombilical/traitement habituel mais toujours < aux contrôles augmentation poids de naissance • Shen 2010 [103], n=30/30 (arg/traitement habituel) RCIU 15g/jr analyse Bax / bcl2 (IHC++) augmentation significative BIP, LF, CA • Xiao 2005 [104], n=30/36 RCIU peu sévère 20g/jour 7 jours augmentation significative poids de naissance 	I V	<ul style="list-style-type: none"> • Shen 2010 [103], pas de différence significative pour le poids de naissance
		<ul style="list-style-type: none"> • Sieroszewski 2004 [105], n=78/30 RCIU 3g/jr pendant 20 jours augmentation significative poids de naissance (2823g/2495g) 		P E R O S
PA		<ul style="list-style-type: none"> • Rytlewski 2005 [99], n=30/31 PE 3g/jour 3 semaines diminution PAD, PAS, PAM • Germain 2004 [100], n=17 notch bilat, IR aa. ut. Élevés 0,1g/kg/jour de 10SA à accouchement diminution PAM et IR aa. ut. 	P E R O S	<ul style="list-style-type: none"> • Neri 2010 [102], n=80 random. Dble aveugle HTA chronique 4g/jr débuté<16SA pas de différence sur PA tendance diminution incidence PE avec naissance<34SA • Staff 2004 [101], n=30 random.dble aveugle PE 28-36SA 12g/jr 5 jours pas de différence sur la PA
PE		<ul style="list-style-type: none"> • Vadillo-Ortega 2011 [36], n=672 atcd PE sévère perso ou 1^{er} degré inclusion entre 14 et 32SA random dble aveugle 6,6g/jr diminution de l'incidence de la PE qd arg débuté avant 24SA. diminution du risque absolu 0,17 		<ul style="list-style-type: none"> • Pas de différence sur le poids foetal.

5- La Citrulline :

Etudes pré-cliniques :

La citrulline n'est pas le donneur de NO de référence, mais stimule fortement l'intérêt scientifique en raison de ses rapports avec la L Arginine et de ses capacités à régénérer du NO tout en évitant sa dégradation splanchnique. En effet, Lassala et al. 2009 [107] ont réalisé une étude pharmacocinétique comparant la citrulline et l'arginine sur des brebis gestantes. Les résultats montrent que la demi-vie de la citrulline plasmatique est 2 fois plus longue que celle de l'arginine chez la brebis gestante. En outre, l'apport parentéral de citrulline permet un maintien des concentrations plasmatiques d'arginine à un niveau élevé chez la mère et le fœtus, de manière plus efficace que l'apport en arginine, sans diminuer la concentration plasmatique fœtale des autres acides aminés.

Par ailleurs, il existe des données intéressantes concernant les effets de la citrulline sur la synthèse protéique en dehors de la grossesse. La citrulline a montré son bénéfice sur la synthèse protéique dans les états de dénutrition de l'adulte [108 ; 109]. Au sein de notre équipe, des travaux sont et ont été menés sur un modèle animal de RCIU et semblent montrer l'intérêt de la supplémentation en Citrulline sur la croissance fœtale. Ainsi, Bourdon et al. 2012 [110] ont montré dans un modèle de RCIU induit par restriction protéique chez des rates gestantes, que la supplémentation en citrulline augmentait le poids fœtal et stimulait puissamment la synthèse protéique au niveau du muscle fœtal, mesurée par l'incorporation de valine marquée dans le muscle fœtal, au 20^{ème} jour de gestation.

Hannigsberg et al. 2013 [111] retrouvaient une augmentation significative du poids de naissance des rats RCIU supplémentés en citrulline à partir du premier jour de gestation, par rapport au groupe contrôle. Un des mécanismes évoqués serait celui de l'augmentation de l'expression placentaire de facteurs de croissance (IGF2) ainsi que l'augmentation de l'expression des transporteurs placentaires des acides aminés permettant de favoriser la croissance fœtale [112].

Etudes cliniques :

- La citrulline en dehors de la grossesse :

Le traitement par citrulline a été étudié chez l'Homme comme donneur de NO, dans des pathologies cardiaques congénitales de l'enfant. Les résultats montraient une diminution du risque d'hypertension artérielle pulmonaire post opératoire chez les enfants traités par Citrulline [113].

- Citrulline et grossesse :

Il existe à ce jour, à notre connaissance, une seule étude clinique étudiant l'apport de Citrulline pendant la grossesse, celle de Powers et al. 2015 [114]. Il s'agit d'une étude originale prospective randomisée en double aveugle versus placebo portant sur les effets vasculaires de la supplémentation en Citrulline chez des femmes enceintes obèses. La posologie était de 3g de citrulline per os quotidienne pendant 3 semaines, à partir de 16 SA. Les critères de jugement étaient la pression artérielle, l'IR et l'IP des artères utérines, la dilatation de l'artère humérale induite par le flux (FMD), la concentration d'arginine et le rapport arginine/ADMA (assymetric dimethylarginine, inhibiteur endogène de la NOS, augmenté dans l'obésité et la PE). La citrulline augmentait de manière significative le rapport arginine/ADMA par rapport au groupe témoin ($308,1 \pm 166,7$ vs $163 \pm 41,3$, $p < 0,05$). La pression artérielle était significativement diminuée dans le groupe traité par citrulline ($108,1 \pm 4,2 / 65,8 \pm 6,6$ mmHg vs $116,1 \pm 6,4 / 72,2 \pm 6,2$ mmHg, $p < 0,05$). La FMD et l'IP des artères utérines étaient significativement améliorés. De plus, la pression artérielle restait significativement plus basse chez les patientes ayant reçu un traitement par citrulline.

Les acides aminés donneurs de NO sont prometteurs pour améliorer la pathologie vasculo-placentaire et un certain nombre d'auteurs font appel à la promotion de nouveaux essais cliniques soit pour la PE soit pour le RCIU en raison de leurs mécanismes communs [115].

L'étude unique chez la femme enceinte de Powers et al. [114] confirme et renforce l'idée que la citrulline agirait avec un tropisme vasculaire comme donneur de NO et justifie également que d'autres études cliniques soient proposées à la fois sur la PE mais également dans la prévention ou le traitement du RCIU.

DEUXIEME PARTIE : PROTOCOLE CITRUPE .

I- Bénéfices et risques pour les personnes se prêtant à la recherche.

1- Bénéfice individuel

En apportant une supplémentation en citrulline aux patientes présentant une PE avérée, nous souhaiterons, par son action vasculaire, allonger la durée de la grossesse, en corrigeant, retardant ou en prévenant la survenue des complications liées à la prématurité induite. Notre hypothèse est que cette supplémentation pourrait stabiliser ou restaurer en partie la fonction endothéliale, et ainsi apporter un bénéfice maternel et fœtal par rapport au groupe témoin.

Sur le plan maternel, les bénéfices espérés sont :

- Contrôler l'HTA, diminuer le nombre de traitements antihypertenseurs nécessaires ou la dose administrée.
- Diminuer l'administration de sulfate de magnésium pour cause maternelle.
- Stabiliser ou diminuer la protéinurie des 24h.
- Prévenir ou diminuer la sévérité de la thrombopénie.
- Prévenir ou diminuer la sévérité de la cytolysé hépatique.
- Prévenir la survenue d'une hémolyse.
- Diminuer ou stabiliser le ratio sFlt1/PlGF
- Augmenter les chances d'accouchement par voie basse, en allongeant la durée de la grossesse.

Sur le plan fœtal, les bénéfices espérés sont :

- Améliorer les Doppler fœto-placentaires.
- Diminuer l'oligoamnios, en améliorant la perfusion placentaire.
- Favoriser la croissance fœtale, grâce à la meilleure perfusion placentaire et aux effets spécifiques de la citrulline (données pré-cliniques).
- Diminuer les anomalies du rythme cardiaque fœtal.
- Diminuer la grande prématurité et les complications néonatales liées à la prématurité.

2- Bénéfice collectif

Si les résultats de cette étude montraient une efficacité de la supplémentation en citrulline sur au moins une partie des critères cités ci-dessus, ceci permettrait pour la première fois de bénéficier d'une prise en charge médicamenteuse de la PE sévère avant 34 SA et dans la pré-éclampsie modérée jusqu'à 37SA. En sus, des résultats positifs seraient susceptibles d'encourager des travaux de recherche pour son utilisation prophylactique, à l'instar de l'aspirine, chez des populations à haut risque (antécédents de pré-éclampsie ou de RCIU). Par ailleurs, le monitoring des facteurs angiogéniques et antiangiogéniques serait également susceptible de clarifier le mécanisme d'action de la citrulline et d'étayer la physiopathologie de la PE, permettant d'identifier de nouvelles cibles thérapeutiques. Enfin, il est à noter que d'un point de vue sociétal, l'existence de la citrulline dans la pharmacopée française et son développement historique par l'industrie pharmaceutique (Stimol®) suggère une capacité de synthèse et une production efficiente, compatible avec sa diffusion rapide.

3- Risque individuel

➤ Risques et contraintes physiques

Le projet CITRUPE est de nature interventionnelle puisqu'il implique une randomisation et un produit de santé nutritionnel dans une indication nouvelle, mais la prise en charge reste par ailleurs absolument conventionnelle. La citrulline (formulation galénique per-os) est disponible sans prescription sur le marché pharmaceutique depuis 1978. Il n'existe pas à ce jour d'effet secondaire répertorié en lien avec la citrulline, aucun argument tératogène chez l'animal, et aucun effet malformatif ou foetotoxique n'a pu être objectivé dans la littérature et/ou la pharmacovigilance. Une élévation prolongée de la concentration circulante maternelle de citrulline liée à une maladie héréditaire du métabolisme de la citrulline n'a pas d'effet détectable sur le fœtus [116]. En outre la posologie cible et la fenêtre thérapeutique visée dans le cadre de CITRUPE sont du même ordre que celles dont la sécurité et la tolérance ont été évaluées dans d'autres populations cibles adultes. En synthèse, la seule contrainte notable liée à la recherche et/ou au produit à l'étude reste sa prise 3 fois par jour, du premier jour de l'hospitalisation jusqu'à l'accouchement. Enfin, le monitoring des facteurs angiogéniques sera réalisé en même temps que les bilans à visée diagnostique prélevés en routine chez la patiente pour éviter des prélèvements supplémentaires.

➤ Risques liés à la maladie

Les risques sont la survenue de complications de la PE.

Sur le plan maternel :

- HTA sévère, nécessitant la mise en place d'un traitement antihypertenseur par mono ou bithérapie, per os ou par voie intra veineuse à la seringue électrique.
- Apparition d'œdèmes.
- Majoration de la protéinurie.
- Apparition d'un HELLP syndrome.
- Césarienne pour sauvetage maternel et/ou foetal.

Les complications sévères de la pré-éclampsie impliquant la naissance sont :

- HTA sévère non contrôlée.
- Atteinte rénale avec oligurie et insuffisance rénale (<500mL par 24h, créatininémie>135mmol/L, ou protéinurie des 24h >5g).
- OAP ou barre épigastrique persistante.
- Eclampsie ou troubles neurologiques rebelles (troubles visuels, réflexes ostéotendineux polycinétiques, céphalées).
- Thrombopénie <100G/L.
- Hématome rétro-placentaire.

Les risques de complications foetales :

- Oligoamnios.
- Mort in utero (MIU).
- RCIU.
- Anomalie du Doppler ombilical.
- Anomalies du rythme cardiaque foetal.
- Prématurité.

➤ Risques liés aux traitements à l'essai y compris comparateur le cas échéant (Effets Indésirables EI) :

Plusieurs études ont montré qu'il n'existait aucun effet secondaire à la prise orale de citrulline, même à forte dose (15g) [117 ; 118].

Les seuls effets indésirables pourraient être une intolérance aux excipients du traitement à l'essai et du placebo.

➤ Risques liés aux traitements associés :

La liste des risques liés aux traitements sert à établir la balance bénéfique / risque pour le comité de protection des personnes (CPP). Ces risques seront plus détaillés au niveau de la vigilance.

La liste exhaustive des EI figure dans la section pharmacovigilance.

Risques liés aux traitements dans la prise en charge habituelle de la PE :

- Risque lié à l'hospitalisation : risque de maladie thrombo-embolique veineuse. Prévention par le port de bas de contention.
- Risques liés aux traitements anti-hypertenseurs : hypotension artérielle, hypotension orthostatique. Risques spécifiques des inhibiteurs calciques (les plus utilisés) tels que la nicardipine : bouffées vaso-motrices, céphalées, palpitations, sensations vertigineuses.
- Risques liés à l'utilisation de sulfate de magnésium : dépression respiratoire, bradycardie, bloc auriculo-ventriculaire.
- Risques liés à l'utilisation des corticoïdes : prescription limitée à 2 cures maximum dispensées à 3 semaines d'intervalle. Risque de déséquilibre d'un diabète maternel.

➤ Risques et contraintes psychologiques :

Contrainte psychologique liée à l'état de la maladie :

La crainte repose essentiellement sur le risque d'extraction fœtale en urgence dans un contexte de prématurité, et les risques de morbidités liées au terme. Peu de risques psychologiques semblent encourus dans le cadre de la recherche, en regard de la balance bénéfique-risque résolument positive, et le double-aveugle permettant la mise en insu du placebo.

➤ Contraintes liées à la recherche :

Les données permettant l'évaluation de l'efficacité du traitement seront recueillies par la surveillance clinique, biologique et échographique habituelle. Il n'y aura pas de geste invasif supplémentaire. Les mesures biologiques (notamment les facteurs angiogéniques) seront intégrées harmonieusement aux soins courants prodigués aux patientes pour éviter tout prélèvement supplémentaire.

L'inclusion dans le protocole ne modifiera pas les pratiques habituelles des centres, tant sur le plan de la surveillance que sur la décision de la naissance.

4- Risque collectif :

Non applicable.

5- Balance bénéfiques / risques :

La balance bénéfice-risque de la recherche CITRUPE est éminemment positive.

En effet, il n'existe à ce jour aucun traitement curatif de la PE, alors qu'il s'agit d'une pathologie fréquente, source d'une importante morbi-mortalité maternelle et fœtale. La citrulline pourrait, par son activité donneur de NO, restaurer la fonction endothéliale et permettre de retarder ou corriger les complications de la PE, permettant ainsi de poursuivre la grossesse, et donc réduire la prématurité, tout en préservant le pronostic maternel. Par ailleurs, la citrulline pourrait favoriser la synthèse protéique fœtale et permettre une diminution du RCIU souvent associé à cette pathologie.

Les données pré-cliniques sont extrêmement rassurantes, tant dans la littérature que dans le cadre de nos recherches sur modèles animaux au sein de l'unité PHAN (UMR INRA Physiologie des Adaptations Nutritionnelles). Aucun effet tératogène, aucune surmortalité ou intolérance n'ont pu être décelés dans les groupes d'animaux exposés. Les données cliniques concernant l'utilisation de citrulline chez les enfants et les sujets sains sont également très rassurantes, démontrant une excellente tolérance, sans aucun effet secondaire décrit. Enfin, les contraintes liées à l'étude sont négligeables, circonscrites à la simple compliance thérapeutique de la patiente.

En synthèse, la participation à cette recherche sous-tend un bénéfice clinique majeur pour la dyade, en retardant ou évitant les complications fœto-maternelles de la PE ainsi que les risques liés à un accouchement trop prématuré.

II- La citrulline :

1- Physiologie de la citrulline :

La citrulline est un acide aminé non essentiel, identifié et isolé à partir de la pastèque *Citrullus vulgaris*. Sa forme naturelle est la forme L. Elle est incolore et soluble dans l'eau. Elle peut former des peptides mais n'est pas utilisée dans la synthèse protéique. La citrulline circule à faible concentration dans le plasma (environ 30 µmol/L). Elle est synthétisée au niveau de l'intestin grêle proximal à partir de la glutamine [119]. Libérée dans la veine porte, la citrulline passe à travers le foie sans y être métabolisée et atteint la circulation systémique. Le rein est le principal consommateur de la citrulline circulante. Environ 83% de la citrulline libérée par l'intestin est métabolisé par le rein dans un processus qui représente environ 35% de la citrulline circulante. 75% de la citrulline extraite du sang est convertie en arginine par l'argininosuccinate synthase et l'argininosuccinate lyase. L'arginine synthétisée est relarguée dans la veine rénale puis la circulation systémique.

2- Justification de l'évaluation des effets de la citrulline dans la PE :

La citrulline peut agir comme un précurseur de l'arginine et donc de NO. Elle joue un rôle important dans le métabolisme et la régulation du NO et dans la synthèse protéique [109]. Des études récentes ont montré qu'elle joue un rôle important dans le métabolisme et la régulation du NO. La production de NO par la NOS dépend de façon critique de la biodisponibilité de son substrat : la L-arginine. Le taux normal de L-arginine chez l'humain est entre 40 et 110 µM. Quand le taux d'arginine n'est pas suffisant pour la NOS, il existe une diminution de la production de NO et une augmentation de la production de superoxyde, favorisant le stress oxydant.

La citrulline en tant que précurseur de l'arginine, pourrait via la synthèse de NO, permettre de restaurer au moins en partie la fonction endothéliale, agir favorablement sur les facteurs angiogéniques et permettre de prolonger la grossesse en cas de PE, en contrôlant l'HTA, et retardant ou diminuant les complications cliniques et biologiques maternelles.

La citrulline pourrait également avoir un rôle dans l'homéostasie protéique. La supplémentation en citrulline pourrait favoriser la croissance dans le RCIU associé à la PE. En effet, la citrulline qui n'est pourtant pas un composé des protéines stimule la synthèse protéique dans le muscle squelettique par la voie de signalisation mTOR.

3- Données pharmacocinétiques : Justification de l'administration par voie orale :

Plusieurs études pharmacocinétiques ont confirmé que la citrulline était efficacement absorbée quand elle était administrée par voie orale, et pouvait être une alternative à l'administration de l'arginine par voie intraveineuse.

Des études sur volontaires sains ont permis d'étudier les propriétés pharmacodynamiques et pharmacocinétiques de la citrulline apportée par voie orale. Il était observé un pic plasmatique de citrulline à une heure de la prise, et un retour au niveau de base en 3 à 5h [120]. Le pic plasmatique d'arginine survenait entre 1,17h et 2,29h après la prise de citrulline. Puis la concentration plasmatique en citrulline diminuait sur 8h [120 ; 121]. Schwedhelm et al. en 2008 [122] ont montré que l'apport oral de citrulline augmentait de façon dose-dépendante la concentration circulante d'arginine chez des volontaires sains. En revanche au delà d'une prise de 15g il existerait une saturation de la conversion au niveau du rein, la concentration d'arginine n'étant plus liée à la dose administrée. Moinard et al. [120] ont donc suggéré que 10g était la dose la plus appropriée pour l'utilisation en pratique clinique. L'apport de citrulline n'affecte pas les concentrations des autres acides aminés en dehors de l'arginine et de l'ornithine [120]. L'administration de citrulline a également été évaluée chez des enfants avec succès sur l'hypertension artérielle pulmonaire post opératoire, en escomptant un effet donneur de NO dans le cadre de pathologies cardiaques [113].

En synthèse, l'apport oral de citrulline est adapté pour maximiser un effet donneur de NO, avec des modifications plasmatiques de la concentration en arginine rapides après l'ingestion et un retour au taux basal en maximum 8h. La dose quotidienne de 9g. en 3 prises, semble la plus appropriée en pratique clinique au long-cours. La citrulline est bien tolérée, sans effet secondaire.

Il est à noter que l'unité PhAN et la pharmacie du CHU de Nantes ont l'expérience de l'utilisation de la citrulline dans 3 essais cliniques (Rougé et al., 2007 [123], Thibault et al., 2011 [124], et Jirka chez le grêle court, étude en cours, 2015).

Dans le projet CITRUPE, la supplémentation sera débutée au plus près de l'admission des patientes. Une dose de charge de 9g per os en prise unique sera délivrée, puis le traitement sera maintenu à raison de 3g toutes les 6-8h (8h ; 16h ; 22h), de façon quotidienne jusqu'à la survenue de l'accouchement.

III- Objectifs et critères de jugement :

1- Objectif et critère d'évaluation principal :

Objectif principal :

Prolonger la grossesse des patientes présentant une pré-éclampsie avant 37SA.

Critère d'évaluation principal :

Délai entre l'admission et l'accouchement (en jours).

2- Objectifs et critères d'évaluation secondaires :

Objectifs secondaires :

- Améliorer la morbidité maternelle et fœtale en contexte de pré-éclampsie sévère ou modérée.
- Analyser la cinétique des facteurs angiogéniques et du ratio sFlt1/PlGF.
- Analyser l'impact vasculaire et métabolique de la supplémentation en citrulline.
- Augmenter la croissance staturo-pondérale fœtale.

Critères d'évaluation secondaires :

- Critères d'évaluation de la morbidité maternelle :
 - Mesure de la pression artérielle moyenne (PAM), recueil de la posologie et du nombre de traitements anti-hypertenseurs administrés.
 - Recueil du nombre d'OAP, recueil du nombre d'HRP.
 - Recueil du besoin de sulfate de magnésium pour cause maternelle.
 - Dosage de la protéinurie des 24h, urée, créatininémie.
 - Dosage des plaquettes.
 - Dosage des transaminases : ASAT, ALAT.
 - Dosage de l'hémoglobine, haptoglobine, schyzocytes, et LDH.
 - Dosage de la vitamine D.
 - Recueil de la voie d'accouchement (voie basse/césarienne).

- Critères d'évaluation de la morbidité fœtale:
 - Mesure des Doppler fœto-placentaires.
 - Mesure de la quantité de liquide (ILA, GC).
 - Mesure de la croissance fœtale : périmètre abdominal, périmètre céphalique, longueur fémorale et EPF.
 - ERF.
 - Stress métabolique fœtal : pH au cordon, lactates, BE, APGAR à 1 et 5 minutes de vie.
 - Nitrates-Nitrites au cordon et sur le sang maternel avant la naissance.

- Critères d'évaluation de l'impact sur les facteurs angiogéniques :
 - Dosages sFlt1, PlGF, VEGF et sEng.
 - Rapport sFlt1/PlGF

- Critères d'évaluation de l'impact métabolique :
 - Aminoacidogrammes maternels et fœtaux.

- Critères d'évaluation de l'impact vasculaire :
 - Mesure des Doppler fœto-placentaires.
 - Mesure de la pression artérielle moyenne (PAM), recueil de la posologie et du nombre de traitements anti-hypertenseurs administrés.

- Critères d'évaluation de la croissance fœtale :
 - Mesure du périmètre abdominal, périmètre céphalique et longueur fémorale.
 - Dernière Estimation du poids fœtal avant la naissance.
 - Poids de naissance.

IV- Biocollection ANGIOCOL :

Le monitoring biologique des facteurs angiogéniques s'articulera sur une biocollection nantaise ANGIOCOL (Patientes CITRUPE acceptant d'intégrer la Biocollection de Gynécologie-Obstétrique du Pôle Mère-Enfant) déclarée au ministère en charge de la recherche le 05/09/2011 sous la référence DC-2011-1399 avec avis favorable du CPP en date du 08/11/2011. Il s'agira d'une étude de cinétique des facteurs angiogéniques incriminés dans la physiopathologie de la PE : sFlt1, PlGF, VEGF et sEng. Dosés, analysés puis comparés entre groupes verum versus placebo, notre objectif sera de démontrer l'effet correcteur ou stabilisateur de la supplémentation en citrulline sur les voies de signalisation de ces facteurs de croissance, et leur retour à des niveaux physiologiques. A défaut d'une efficacité clinique étayée (dimension préventive de l'intervention peut-être insuffisante), nous espérons pouvoir valider la stratégie thérapeutique de l'essai en objectivant sur ces critères clinico-biologiques l'effet correctif recherché.

Cette Biocollection s'appuie sur une collaboration entre les Services de Gynécologie-Obstétrique du CHU de Nantes (Dr Winer) & La Roche sur Yon (Dr Ducarme), le Laboratoire de Biochimie du CHU de Nantes (Dr Masson & Dr Caillon), et le laboratoire Roche qui commercialise les kits de dosages des marqueurs sériques. L'analyse de 4 points cinétiques par patiente sur 2 facteurs angiogéniques (sFlt1, PlGF et ratio), est d'ores et déjà assurée dans le cadre de cet appel d'offre. La Biothèque se constituera autour de multiples fonds de tube inhérents aux soins courants et à la prise en charge de la patiente. L'objectif ultime est de lever des fonds à court terme (AOI Biocollection&Cohorte 2016) pour valoriser une approche cinétique puissante et intégrée sur des facteurs angiogéniques complémentaires ou émergents. A ce stade une négociation directe avec l'industriel a d'ores et déjà permis de bénéficier de tarifs extrêmement préférentiels (70% sur le prix HT des kits de dosage – donation à titre gracieux des réactifs) moyennant une communication active au décours des futurs congrès de spécialité.

V- Design de la recherche :

1- Méthodologie générale de la recherche :

Il s'agit d'une Etude Prospective Bicentrique Randomisée en Double-Aveugle versus Placebo entrant dans le cadre de Recherche Biomédicale Interventionnelle sur Produits de Santé. Une étude bicentrique (CHU de Nantes & CHD de La Roche sur Yon) nous paraît pertinente pour plusieurs raisons :

- a) Elle permet de recruter des patientes avec des degrés variés de sévérité de PE : une population cible de PE plus modérée permettant d'évaluer l'efficacité de la citrulline sur une plus longue durée, alors que les maternités de niveaux 3 concentrent les stades les plus sévères qui échappent à la prise en charge des cliniques et maternités de niveaux 1 & 2. Cette dimension préventive pourrait être cruciale dans le mécanisme d'action et l'efficacité thérapeutique des donneurs de NO en terme de modulation de la réponse vasculaire [36] ;
- b) le potentiel de recrutement propre de la Roche-sur-Yon conforte la faisabilité de notre étude et laisse présager d'un effet catalyseur par une réorientation efficace vers le CHU de Nantes en tant que maternité de niveau 3 (recrutement/inclusion/randomisation et traitement précoce avant transfert) ;
- c) Enfin, la validation de l'efficacité du traitement entre deux sites et deux maternités de niveau 2 & 3 structurellement différentes constitue également une vraie valeur-ajoutée à cette collaboration.
- d) Une culture scientifique et médicale commune dans la spécialité gynéco-obstétricale assure une homogénéité inter-centre en terme de management et prise en charge des PE (les 2/3 des équipes médicales et maïeutiques vendéennes sont issus du CHU de Nantes).

2- Schéma de l'étude :

Etude randomisée versus placebo, en double aveugle.

Durée d'inclusion : 16 mois (104 patientes) ;

Durée de suivi : au maximum : inclusion à partir de 20SA et accouchement à 37SA = 17 semaines.

Durée d'exposition au médicament : de l'inclusion à l'accouchement, au maximum 17 semaines en théorie, ce qui ne se réalisera pas en pratique.

L'analyse d'une base interne au service de GHR (Grossesses à Haut Risque ; N=31) et d'une base PMSI extraite sur 2013-2014 (N=216) nous a montré que la prééclampsie conduit dans 50% des cas à un accouchement prématuré dans les 72h suivant l'hospitalisation. La médiane du délai d'accouchement est ainsi estimée à 3,75j, et le 75^{ème} percentile est de 7,63 jours. Nous disposons donc d'une fenêtre thérapeutique de moins de 7,63 jours chez 75% des patientes dans notre population cible.

3- Analyse de la Base de données de Nantes :

PMSI CHU de Nantes (N=216) :

Tableau 5 : Délai d'accouchement, statistiques PMSI.

Variable	Statistiques Descriptives (BD PMSI PE 13032015) Condition d'exclusion : v5=1						
	N Actifs	Moyenne	Médiane	Minimum	Maximum	1er Quartile	3ème Quartile
Délai Accouchement	216	6,175016	3,746181	0,032639	34,44028	1,786111	7,633333

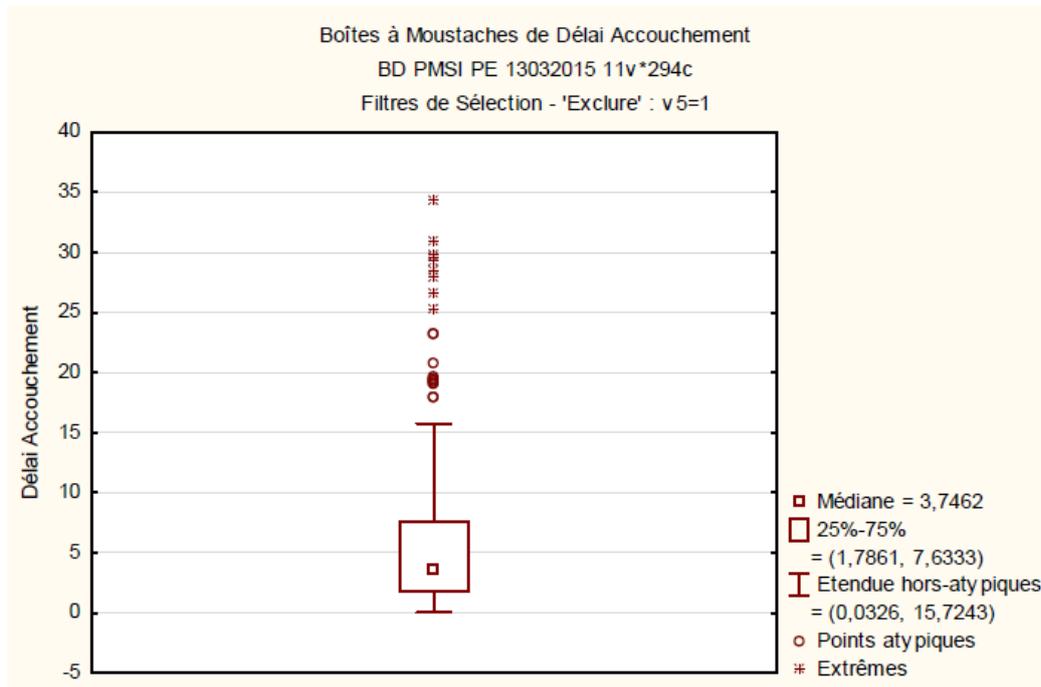


Figure 8 : Délai d'accouchement, base de données PMSI.

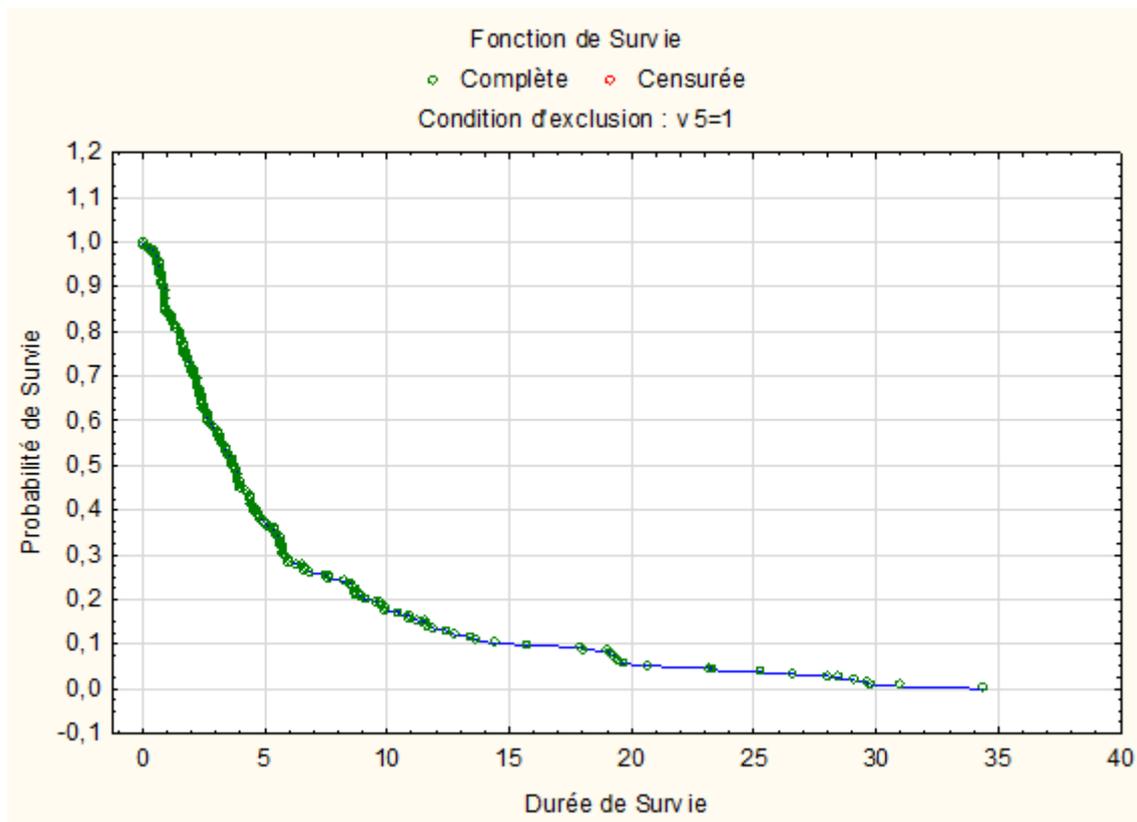


Figure 9 : Courbe de « survie ».

La représentation par courbe de survie précise la dimension cinétique de la fenêtre thérapeutique CITRUPE et invite à maximiser la supplémentation initiale, idéalement en dose de charge per os de 9g en 1 prise à l'admission puis un relais par 3g/6-8h (8h ; 16h ; 22h) per os, jusqu'à l'accouchement.

Ces données sont confirmées par l'analyse des 31 derniers dossiers de Pré-éclampsie du service qui fait état d'une médiane à 3 jours et qui révèle le même profil cinétique.

Analyse de la Base de Données Internes, dossiers GHR (N=31) :

Tableau 6 : Délai d'accouchement, statistiques GHR.

Variable	Statistiques Descriptives (BD PE Emille AL 04032015)											
	N Actifs	Moyenne	Médiane	Minimum	Maximum	1er Quartile	3ème Quartile	Centile 33.33000	Centile 66.67000	Variance	Ecart-type	Coef.Var.
Délai Accouchement	31	6.580645	3,000000	0,00	31,00000	2,000000	8,000000	3,000000	6,000000	60,18495	7,757896	117,8896

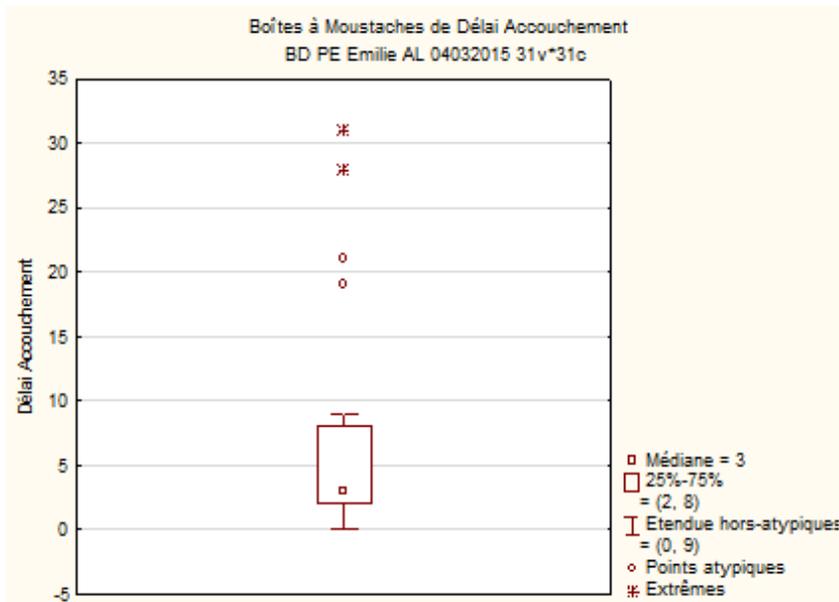


Figure 10 : Délai d'accouchement base de données dossiers GHR.

VI- Population étudiée :

1- Description de la population :

Seront incluses sur consentement maternel, l'ensemble des femmes enceintes présentant une pré-éclampsie modérée diagnostiquée à un Age Gestationnel estimé inférieur à 37 SA ou sévère avant 34 SA et hospitalisées initialement au CHU de Nantes ou au CH de la Roche sur Yon.

La pré-éclampsie est cliniquement définie par une pression artérielle systolique supérieure à 140 mmHg et/ou une pression artérielle diastolique supérieure à 90 mmHg et une protéinurie supérieure à 300 mg par 24 heures. Les recommandations formalisées d'experts communes SFAR/CNGOF/SFMP définissent la pré-éclampsie sévère selon la survenue d'un ou plusieurs éléments suivants :

- HTA sévère (PAS > 160 mm Hg et/ou PAD > 110 mm Hg)
- atteinte rénale avec : oligurie (<500 ml/24h) ou créatinine > 135mmol/L, ou protéinurie > 5 g/j
- OAP ou barre épigastrique persistante ou HELLP syndrome
- éclampsie ou troubles neurologiques rebelles (troubles visuels, ROT polycinétiques, céphalées),
- thrombopénie <100 G.L-1
- Hématome Rétro Placentaire (HRP) ou retentissement fœtal.

La discrimination des pré-éclampsies sévères, et la stratification sur ce critère paraît très raisonnable puisque la durée espérée du traitement sera courte chez ces patientes à risque d'accouchement imminent. Nous pressentons donc une efficacité thérapeutique significativement diminuée dans la PE sévère sur une fenêtre temporelle très restreinte. Le Calcul de Nombre de Sujets nécessaire, est basé sur un ratio attendu de PE sévère de 0.43 (3 PE sévères pour 7 modérées selon nos estimations), mais également une moindre efficacité dans cette population cible (nous souhaitons majorer de 25% la proportion de la population n'ayant pas accouché à J3, mais dans cette strate spécifique, nous extrapolons une efficacité limitée à 17,5%). A contrario, la contribution spécifique du CHD de La Roche sur Yon, laisse entrevoir une initiation thérapeutique plus précoce qu'au CHU de Nantes, sur des stades moins sévères de PE, traitées ou transférées secondairement vers le CHU de Nantes. Ainsi, cette collaboration nous permettra une évaluation per-protocole extrêmement intéressante sur une population précocement prise en charge, avec une dimension préventive renforcée en écho aux travaux de Ortega et al., 2011.

In fine, nous souhaitons donc mettre en évidence dans une approche en survie (RatioPEsévère/PEmodérée de 0,43), une majoration du délai d'accouchement d'au moins 25%. Dans une approche bilatérale, un risque alpha à 5%, une puissance cible 80%, une taille de cohorte de 104 patientes est requise (16 mois d'étude).

2- Critères de pré-inclusion

Non applicable.

3- Critères d'inclusion

- Femme enceinte ≥ 18 ans, hors contexte de tutelle et/ou curatelle.

- PE avérée (PAS \geq 140mmHg et/ou PAD \geq 90mmHg et protéinurie des 24h $>$ 0,3 g) requérant l'hospitalisation de la patiente, modérée jusqu'à 37SA et sévère jusqu'à 34 SA (pas d'inclusion des PE sévères après 34 SA car indication à la naissance).

- Grossesse monofoetale.
- Consentement éclairé et écrit de la patiente.
- Affiliation à un régime de sécurité sociale.

4- Critères de non-inclusion

- Femme enceinte $<$ 18 ans, et/ou en contexte de tutelle et/ou curatelle.
- HTA isolée ou protéinurie isolée, n'entrant donc pas dans la définition de la PE.
- Pré-éclampsie sévère avec indication d'extraction fœtale immédiate en urgence.
- Terme \geq 37SA (PE Modérée) ou $>$ 34SA (PE Sévère) au diagnostic.
- Grossesse multiple.
- Refus de Consentement éclairé et écrit de la patiente.
- Pas d'affiliation à un régime de sécurité sociale.
- Allergie aux excipients des formulations galéniques du verum ou du placebo

VII- Traitements utilisés pendant l'étude :

Verum et placebo seront élaborés à la Pharmacie Hospitalière du CHU de Nantes, selon les normes BPF (Bonnes Pratiques de Fabrication) et les certifications requises par les autorités de santé en RBM produits de Santé (Brochure Investigateur).

Une posologie de charge est visée dans les 24 premières heures avec une prise unique de 9g de citrulline per os, avant une dose d'entretien à raison de 3g x 3/jour.

1- Description des traitements nécessaires et modalités d'administration :

Identification des traitements :

Citrulline

La citrulline orale est en vente libre dans les pharmacies françaises sous forme de maleate de citrulline, comme anti-asthénique, à la posologie de trois grammes par jour. Elle est vendue sous le nom de Stimol® et est commercialisée par la firme Biocodex®, sous forme de sachet ou ampoule buvable de 1g. Il n'existe pas de formes génériques.

Dans le cadre de cette étude, la L-Citrulline de qualité pharmaceutique provient d'un laboratoire pharmaceutique. Compte-tenu de la posologie utilisée dans notre étude, la citrulline sous forme de poudre pour la voie orale (3 grammes à diluer dans de l'eau) sera conditionnée en flacon de verre opaque (brun), de même que le placebo, afin de maintenir le double aveugle.

Placebo

Le placebo correspondant (excipient inerte de qualité pharmaceutique) répond aux exigences de la Pharmacopée européenne. Le conditionnement sera réalisé à la pharmacie de l'Hôtel Dieu afin d'obtenir un conditionnement identique à celui de la L-Citrulline. L'étiquetage sera également réalisé à la pharmacie de l'Hôtel-Dieu.

Administration :

La posologie définie dans le cadre de cette étude est de :

- 9 g à T0 suivi de 9g/jour d'entretien de J2 à l'accouchement (3 prises de 3g / j → 8h – 16h - 22h)

Adaptation de la posologie :

L'absence d'effets secondaires ou indésirables, en lien avec une supplémentation intensive et/ou un effet de saturation de la conversion rénale nous permet de nous affranchir d'un monitoring biologique et cinétique de la citrullinémie plasmatique. Aucune adaptation de dose n'est donc prévue, dose de charge et dose d'entretien ayant été utilisées sur de larges populations adultes sans aucun effet notoire.

2- Médicaments et traitements autorisés et interdits :

Traitements autorisés :

L'ensemble de l'arsenal thérapeutique classiquement mis en œuvre dans la prise en charge clinique des patientes pré-éclamptiques est bien sur autorisé et listé ci-après :

- Traitements antalgiques : Paracétamol, phluoroglucinol,
- Traitements antihypertenseurs : inhibiteurs calciques, bêtabloquants,
- Corticoïdes
- Sulfate de magnésium
- Héparines
- Antiagrégants plaquettaires

Traitements non autorisés

Nous ferons simplement mention ici des cas très exceptionnels où la patiente bénéficie d'un traitement au long-court de citrulline-malate (STIMOL) sur consommation spontanée et/ou prescription médicale (asthénie).

3- Méthodes de suivi de l'observance au traitement :

Pendant hospitalisation l'observance et la compliance seront évaluées par un décompte précis des unités thérapeutiques consommées, par la pesée des flacons retournés ; croisée avec la durée de la grossesse (Jour de naissance – Jour d'Inclusion).

4- Circuit des médicaments expérimentaux :

Circuit général

La pharmacie de l'Hôtel-Dieu, CHU de Nantes, possède l'autorisation de réaliser des préparations rendues nécessaires dans le cadre de la recherche biomédicale et, à ce titre, pourra réaliser les opérations de préparation, de conditionnement et d'étiquetage et réétiquetage, le cas échéant, du produit et du placebo, conformément à la législation en vigueur et aux bonnes pratiques cliniques. En

ce qui concerne les conditions de conservation, le stockage sera réalisé en armoire fermée, dans un local à accès restreint (pharmacie de l'Hôtel-Dieu, CHU de Nantes). Les conditions de conservation à température ambiante seront garanties grâce à un relevé en continu, conformément aux dispositions et procédures internes à la pharmacie de l'Hôtel-Dieu.

Conditions de stockage des médicaments expérimentaux :

En regard de la haute réactivité requise pour la mise sous supplémentation, des unités thérapeutiques (UT) seront mises à disposition par la Pharmacie Hospitalière à proximité des services médicaux (Urgences Gynécologiques & Obstétriques UGO, Grossesses à Haut Risque GHR, et Suivi Intensif de Grossesses SIG) et feront l'objet d'un thermomonitoring par les Centres d'Investigation Cliniques et Unités de Recherche Clinique des 2 établissements. Après randomisation sur Capture System (stratification sur la sévérité de la PE) un N° d'UT sera généré et indiquera à l'équipe soignante les N° de traitement à administrer à la patiente. Les UT seront stockées dans les gammes de températures requises au sein des services (T° ambiante <25°C) dans des armoires fermées avec un accès sécurisé et restreint pour les seuls médecins investigateurs de l'étude. Il sera remis à la patiente 30 flacons correspondants à son bras de traitement et couvrant 10 jours de traitement. Le réapprovisionnement se fera dans le service d'hospitalisation.

Procédure de levée d'aveugle :

Une levée d'aveugle pourra être envisagée par l'investigateur en cas de suspicion concernant un effet délétère du traitement à l'étude si, et seulement si, la prise de connaissance du principe actif revêt un intérêt tangible pour la prise en charge de la patiente. Dans tout autre cas, une interruption du traitement sans levée d'aveugle est préconisée.

VIII- Déroulement de l'étude :

1- Techniques d'études et d'analyses :

Description détaillée des paramètres d'évaluation de l'efficacité

Concernant la mesure du critère de jugement principal de l'étude, la proportion de patientes n'ayant pas accouché à J3 sera comparée entre les 2 groupes. Complémentairement, le delta en jours et en heures entre l'accouchement et l'admission constituera également un angle d'analyse de l'efficacité thérapeutique de la citrulline et sera comparé entre les 2 bras de traitement.

Par ailleurs, les critères secondaires d'évaluation seront également analysés en intra-individuel (variations, delta de la mesure biologique au cours du temps) et en inter-individuel (moyennes du paramètre biologique comparées entre verum et placebo).

Peuvent être distingués :

Des paramètres individuels:

- ❖ Mesure de la pression artérielle moyenne (PAM) en mmHg, monitorée 3 fois par jour, la comparaison inter-bras portera sur les moyennes des Pressions Systolique et Diastolique de la journée. L'analyse sera ajustée par ANCOVA sur la tension en baseline à l'inclusion, et la consommation d'hypertenseurs, posologie et nombre de traitements anti-hypertenseurs administrés.
- ❖ Dosage de la protéinurie des 24h, urée, créatininémie (à l'admission et dernière créatininémie avant la naissance).
- ❖ Dosage des plaquettes.
- ❖ Dosage ASAT, ALAT.
- ❖ Dosage de l'hémoglobine, haptoglobine, schizocytes, et LDH.
- ❖ Mesures des indices de pulsatilité et résistance de la perfusion placentaire, et le Doppler des

artères utérines, avec présence ou non de notch.

- ❖ Mesure de la quantité de liquide (ILA, GC).
- ❖ Mesure de la vélocité de croissance fœtale : périmètre abdominal et EPF (Delta Baseline/ Accouchement).
- ❖ Dosages sFlt1, PlGF, VEGF et sEng.

Et des **paramètres d'évaluation globaux** :

- ❖ Recueil du nombre d'OAP, recueil du nombre d'HRP.
- ❖ Recueil si administration de sulfate de magnésium pour cause maternelle.
- ❖ Recueil de la voie d'accouchement (voie basse/césarienne programmée ou avant le travail).
- ❖ ARCF.
- ❖ Stress métabolique fœtal : pH au cordon, lactates, BE, APGAR
- ❖ Poids de naissance
- ❖ Dosages sFlt1, PlGF, VEGF et sEng.
- ❖ Aminoacidogrammes maternels et fœtaux.
- ❖ Nitrates /Nitrites.

Description des techniques et analyses

Les paramètres d'évaluation seront calqués sur la surveillance et la prise en charge habituelle de la PE, à savoir :

De l'admission jusqu'à l'accouchement :

- Cycles tensionnels 3 fois par jour, à réaliser 1h après la prise de Citrulline/placebo. Recueil de la PAM.
- Bilans biologiques : bilan vasculo-rénal : NFS, plaquettes, haptoglobine, schizocytes, LDH, ionogramme sanguin, ASAT, ALAT, Uricémie, urée, créatininémie : dosages répétés de maximum toutes les 6h, à minimum toutes les 48h, de manière identique à la surveillance actuelle, selon l'existence ou non d'anomalies biologiques et de critères de gravité clinique.
- Le dosage plasmatique des facteurs angiogéniques sera couplé à la surveillance biologique, toutes les 48h.
- Protéinurie des 24h quotidienne.
- Le monitoring fœtal (ERCF) sera réalisé 2 à 3 fois par jours selon l'existence ou non d'un RCIU, d'anomalie de la quantité de liquide amniotique, d'anomalies des Doppler, ou d'anomalie du rythme cardiaque fœtal.
- La surveillance échographique sera réalisée par une échographie de référence à l'admission puis en l'absence d'anomalie de croissance de quantité de liquide amniotique ou d'anomalies des Doppler, elle sera répétée tous les 15 jours. En cas d'anomalie d'un de ces paramètres, elle sera contrôlée 2 fois par semaine.

Seront recueillis :

- l'administration pendant toute la durée de l'hospitalisation jusqu'à l'accouchement : voie, posologie et modification de traitements antihypertenseurs, de corticoïdes, de sulfate de magnésium.
- La date et le terme d'admission, la date et le terme d'accouchement.

- la survenue d'un OAP, d'une éclampsie, ou d'un HRP.

- La voie d'accouchement (voie basse/césarienne, programmée ou pendant le travail).

- Le poids de naissance.

- Un prélèvement sera réalisé à la mère et au cordon ombilical pour réalisation d'aminogrammes maternel et foetal, au moment de l'accouchement.

2- Calendrier de l'étude :

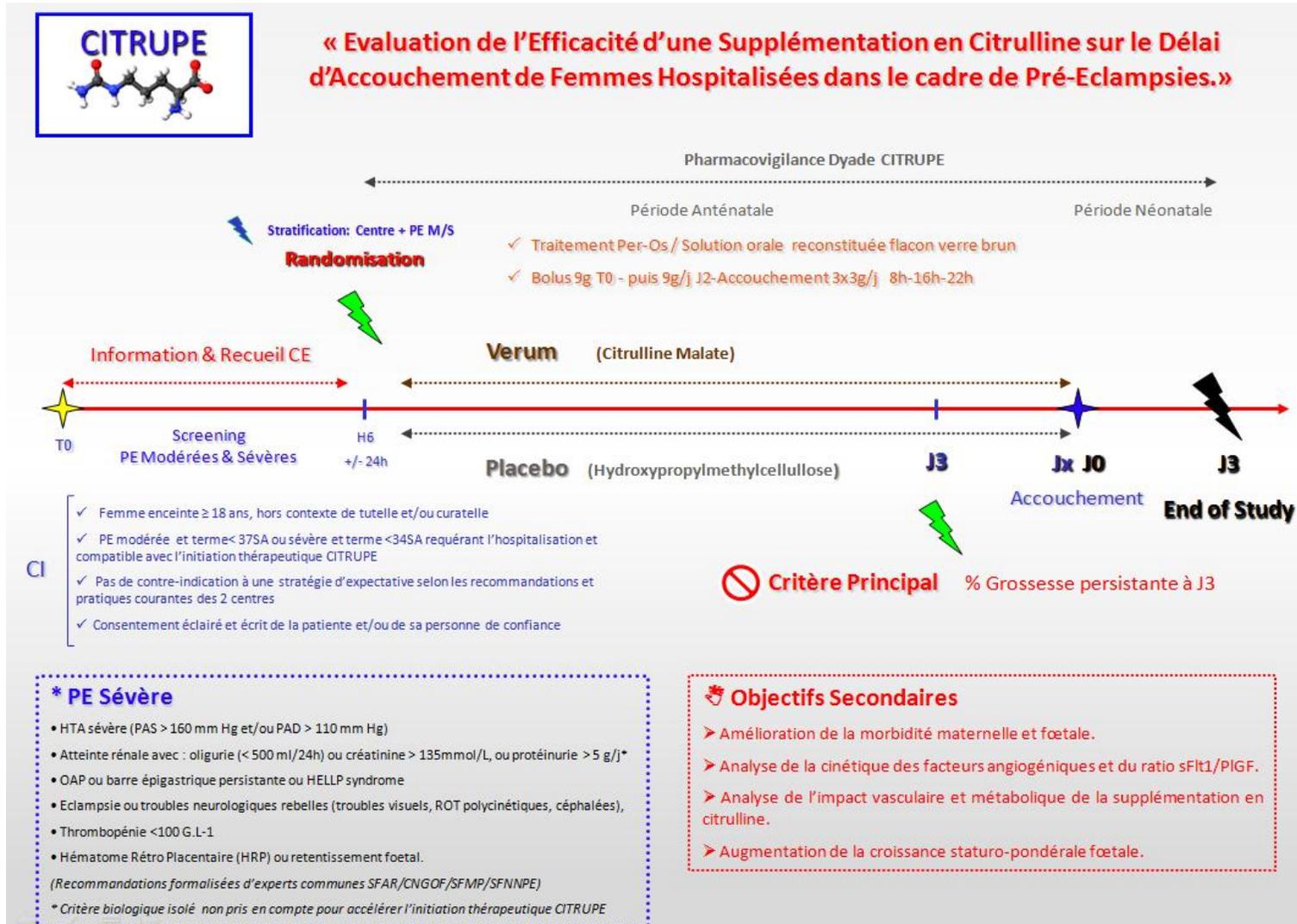


Figure 11 : Calendrier de l'étude :

3- Identification de toutes les données sources ne figurant pas dans le dossier médical

La majeure partie des données cliniques et paracliniques d'intérêt dans le cadre de CITRUPE sont colligées en pratique courante dans le dossier patient. Seules les informations concernant le traitement à l'étude, la randomisation et la pharmacovigilance seront spécifiquement recueillies dans l'eCRF de l'étude.

NB : Certaines explorations conservent un caractère relativement innovant à l'échelle des établissements mais sont collégalement préconisés au niveau national dans certaines recommandations ou guidelines de société savantes. Il s'agit par exemple des :

- Prélèvement/résultats dosages des facteurs angiogéniques
- Prélèvement du sang au cordon pour aminoacidogrammes.

4- Règles d'arrêt de la participation d'une personne :

Critères d'arrêt prématuré de la participation d'une personne à la recherche :

CITRUPE s'inscrit dans un design en intention de traiter ITT afin d'évaluer l'efficacité de notre stratégie thérapeutique en conditions réelles (délai d'administration de la supplémentation, étroitesse de la fenêtre thérapeutique, risques sur la compliance/observance...). Aucune patiente ne pourra théoriquement être exclue de l'analyse quelle que soit sa modalité de sortie d'étude (incapacité à prendre le traitement, sortie prématuré sur suspicion PV etc...). Des analyses per-protocoles complémentaires permettront toutefois d'évaluer l'efficacité thérapeutique au sein de cohortes restreintes (patientes ayant passé le cap des 72h etc..) et/ou rigoureuses (compliance optimale etc..).

Procédures d'arrêt prématuré de la participation d'une personne à la recherche :

En cas de sortie d'essai prématurée de la recherche, les patientes seront prises en charge selon les pratiques courantes des services. Pour les modalités d'exploitation des données des personnes ayant arrêté prématurément l'étude, se reporter à la section statistique.

Critères d'arrêt d'une partie ou de la totalité de la recherche (hors considérations biostatistiques) :

Une partie ou la totalité de l'étude peut être arrêtée définitivement ou temporairement sur décision de l'ANSM, du CPP, du Promoteur de l'étude ou du CIS (le cas échéant). En cas d'arrêt prématuré de

l'étude sur décision du Promoteur de l'étude ou du CIS (le cas échéant), l'ANSM et le CPP en seront informés dans les 15 jours maximum par courrier.

Dans tous les cas :

- Une confirmation écrite sera envoyée à l'investigateur coordonnateur de l'étude (précisant les raisons d'arrêt prématuré) ainsi qu'à l'investigateur principal de chaque centre le cas échéant.

- Toutes les patientes de l'étude seront informées et devront réaliser leur visite de sortie prématurée.

5- Modalité de prise en charge des patients à la fin de la recherche :

La fin de la recherche est marquée par l'évaluation du critère de jugement principal, articulée sur la date de l'accouchement. La prise en charge per et post-partum restant absolument conventionnelle.

6- Rapport final de l'étude :

Le rapport final de l'étude comprend la description complète et écrite de la recherche. Ce rapport doit être envoyé aux autorités compétentes et comité d'éthique moins d'un an après la fin de l'étude. Le rapport final est écrit en collaboration avec le promoteur et les investigateurs coordonnateurs de l'étude.

IX- Data Management et statistiques :

1- Recueil et traitement des données de l'étude :

Recueil des données :

Un cahier d'observation électronique CITRUPE (eCRF) sera développé via l'interface Capture System. Toutes les informations requises par le protocole figureront dans l'eCRF CITRUPE. Il comprendra l'ensemble des données cliniques, paracliniques et biologiques nécessaires aux analyses statistiques et à la description de la population de l'étude conformément à la publication scientifique visée. Il

permettra également de déceler les écarts majeurs au protocole et le suivi pharmacovigilant de la population cible CITRUPE.

La/les personne(s) responsable(s) du remplissage des CRF/ eCRF (investigateur, ARC...) sont définie(s) et identifiée(s) en Annexe dans le tableau de délégations des responsabilités de chaque centre (conservé dans le classeur investigateur).

Codage des données :

L'encodage des patients de la cohorte CITRUPE se déclinera sur la racine suivante :

- N°Centre (1=Nantes/2=LaRochesur Yon)
- N° Patient (assigné par ordre chronologique d'entrée dans l'étude)
- 1^{ère} Lettre Nom – 1^{ère} Lettre Prénom
- Date de Naissance Patient MM/AAAA

Exemple :

1 / 003 / A-L / 07-1975

En signant ce protocole l'investigateur principal et l'ensemble des co-investigateurs s'engagent à maintenir confidentielles les identités des patients ou patientes qui ont participé à l'étude.

Définition de la règle de codage des patients :

Ce code sera la seule information qui figurera sur le cahier d'observation (CRF/ eCRF) et qui permettra de rattacher à posteriori le CRF/ eCRF au patient.

L'investigateur est également tenu de coder les données patients sur tous les documents qu'il pourrait avoir en sa possession (compte-rendus d'exams d'imagerie, de biologie, ...) qui seraient joints au CRF/ eCRF.

Traitement des données

La collecte des données cliniques reposera sur la mise en place d'une base de données et la création de masques de saisie à l'image du cahier d'observation en conformité avec le protocole et les réglementations actuellement en vigueur.

La structure de la base de données et des écrans de saisie sera approuvée par le promoteur de l'essai. A la fin de l'étude, une réconciliation entre la base de données du CRF et la base de données de sécurité est faite. Cette réconciliation se fait avant le gel de la base de données.

2- Statistiques

Noms et coordonnées des responsables de l'analyse : Christelle VOLTEAU, ingénieur statisticienne au Département Promotion du CHU de Nantes et Arnaud LEGRAND, ingénieur de recherche clinique à l'HME.

Les analyses statistiques seront réalisées sous le logiciel SAS[®] version 9.4.

Une revue des données (blind review) sera réalisée en fin d'étude, avant le début des analyses statistiques avec toutes les personnes ayant participé à l'étude (médecin, TEC, IRC, data-manager, ARC, statisticien, ...). L'objectif sera de faire le point sur le déroulement de l'étude, sur les éventuels problèmes rencontrés et de classer les éventuelles déviations en mineures ou majeures.

Les variables mesurées à l'inclusion seront décrites pour l'ensemble des patientes et par groupe, par les effectifs et pourcentages de chaque modalité pour les variables qualitatives et par les minimum, maximum, moyenne, écart-type et quartiles pour les variables quantitatives.

Analyse du critère principal :

Le critère principal est le délai entre l'admission et l'accouchement. Les courbes de survie avant accouchement seront estimées par la méthode de Kaplan-Meier. Les courbes seront comparées entre les 2 bras par un test du Logrank stratifié sur le centre et la sévérité.

Les éventuels décès avant accouchement seront censurés.

Une analyse de sensibilité sera effectuée en ajustant sur le terme à l'entrée d'hospitalisation.

Analyses des critères secondaires :

Selon la nature des variables, des modèles de régression linéaire, linéaire mixte (données répétées dans le temps) et logistique seront réalisés pour comparer les deux groupes. Ces modèles prendront en compte les facteurs de stratification.

Justification statistique du nombre d'inclusions

Nous souhaitons mettre en évidence dans une approche en survie, une majoration du délai (AG) d'accouchement d'au moins 25% grâce à la supplémentation en Citrulline. Considérant un ratio PE Sévère/Modéré de 0.43, nous rechercherons in fine une majoration à 67,5% dans le bras Citrulline. Avec une approche bilatérale, considérant un risque de première espèce de 5% et une puissance de 80% et un taux d'attrition de 10 % une taille de 58 patients par bras est requise pour notre évaluation. La faisabilité de l'étude est donc pleinement assurée sur une fenêtre de 16 mois.

Degré de signification statistique prévu :

Le degré de signification statistique est fixé à 5 % pour l'ensemble des critères de jugement.

Méthode de prise en compte des données manquantes, inutilisées ou non valides :

Critère principal : étant donné le contexte de l'étude, le nombre de donnée manquante sur le critère principal sera faible voir nul. En cas de décès maternel ou fœtal, le délai d'accouchement sera censuré. Une analyse de sensibilité sera effectuée en considérant le décès comme évènement concurrent, ceci afin de vérifier la robustesse des résultats obtenus.

Critères secondaires : il n'y aura pas d'imputation des données manquantes pour les critères secondaires.

Choix des personnes à inclure dans les analyses :

La population principale d'analyse sera la population en « Intention de Traiter ». Cette population correspond à l'ensemble des patientes randomisées dans l'étude.

Une analyse de sensibilité sur la population « Per protocol » sera réalisée. Cette population comprend les patientes randomisées n'ayant pas eu de déviations majeures au protocole.

Randomisation

La randomisation sera effectuée en double aveugle par l'obstétricien référent de la patiente, accompagné par l'équipe de recherche clinique (sur heures ouvrées). Elle sera effectuée selon un ratio 1 : 1 et sera réalisée par blocs. La randomisation sera stratifiée sur le degré de sévérité de la PE (sévère versus modérée) et le centre.

La randomisation sera effectuée via le logiciel Clinsight par la connexion au site Internet : <https://www.dirc-hugo-online.org/csonline/>. La connexion s'effectuera grâce à un login, un mot de

pas et un numéro d'étude (DIRCXXX), délivrés par un data-manager du Département Promotion de la Recherche du CHU de Nantes.

Les informations suivantes devront être renseignées :

- Première initiale du nom
- Première initiale du prénom
- année et mois de naissance
- Respect des critères d'inclusion et de non inclusion (oui/non)
- Signature de consentement

Le numéro de randomisation sera attribué automatiquement lors de la randomisation. Une confirmation par mail sera envoyée à la personne ayant effectué la randomisation ainsi qu'à toutes les personnes concernées. Seuls le pharmacien et le statisticien recevront par mail le bras de randomisation.

X- Pharmacovigilance et gestion des évènements indésirables :

1- Définitions :

Tableau 7 : Définitions pharmacovigilance et gestion des évènements indésirables.

Pharmacovigilance	C'est la surveillance des médicaments, dispositifs médicaux et autres produits de santé. Elle consiste également à la prévention du risque d'effet indésirable résultant de leur utilisation, que ce risque soit potentiel ou avéré,
Evénements indésirables (Evl)	Toute manifestation nocive chez un patient ou un participant à un essai clinique, et qui n'est pas nécessairement liée au traitement

	prévu dans l'essai clinique.
Intensité des Evénements indésirables (EVI)	<p>Elle sera cotée selon les critères choisis lors de la rédaction du protocole. Pour tout événement non noté dans la classification choisie, la cotation sera la suivante :</p> <p>1 = bénin</p> <p>2 = modéré</p> <p>3 = sévère</p> <p>4 = mettant en jeu le pronostic vital</p>
Effets Indésirables (EI)	Tout événement indésirable pour lequel un lien de causalité, quelque soit son importance (douteux, plausible, possible, certain) peut être envisagé soit avec le traitement à l'étude soit avec le comparateur ou le protocole.
Effets/ Evènements indésirables graves (EIG)/ (EVIg)	<p>Tout effet / évènement indésirable qui :</p> <ul style="list-style-type: none"> * entraîne le décès, * met en jeu le pronostic vital, * entraîne une incapacité ou une invalidité temporaire ou définitive, * nécessite ou prolonge une hospitalisation du patient, * entraîne une anomalie congénitale ou néonatale, * est médicalement important (la liste des effets/ évènements médicalement important est définie par l'EMA).

Effets indésirables inattendus (EII)	Un effet dont la nature, la sévérité, la fréquence ou l'évolution ne concordent pas avec les informations relatives aux produits telles qu'elles sont listées dans la brochure investigateur, le Résumé des Caractéristiques du Produit ou telles que définies dans le protocole.
Surdosage	Réel= Administration du médicament à une quantité supérieure (en une seule administration ou cumulée) que celle autorisée dans le Résumé des Caractéristiques du produit, la brochure investigateur. Relatif= Administration du médicament à la posologie recommandée mais pas adaptée à la personne (dénutrition, déshydratation, insuffisance rénale...)
Mésusage	Usages inappropriés par rapport aux données de référence pertinentes, survenant au cours de la chaîne des soins, exposant un patient donné à un risque avéré ou potentiel, sans bénéfice corrélatif
Erreur médicamenteuse (EM)	Correspond à l'omission ou la réalisation non intentionnelle d'un acte survenu au cours du processus de soins impliquant un médicament, qui peut être à l'origine d'un risque ou d'un événement indésirable pour le patient.

2- Paramètres d'évaluation de la sécurité :

Critères d'évaluation particuliers liés à la sécurité :

Les données de sécurité et tolérance émanant des recherches pré-cliniques ou cliniques sur la citrulline sont extrêmement rassurantes et ne laissent présager aucun effet délétère identifié à ce jour. Le choix des excipients et du placebo (Hydroxypropylmethylcellulose) est également stratégique puisqu'il annule le risque glycémique éventuel chez des patientes pré-éclamptiques sujettes à un diabète gestationnel. En synthèse, dans l'état des connaissances actuelles, aucun EIG

attendu lié au traitement et/ou à l'intervention ne peut être identifié et cible d'un plan de pharmacovigilance.

Méthodes et calendrier prévus pour mesurer, recueillir et analyser les paramètres d'évaluation de la sécurité :

La stratégie de pharmacovigilance encadrant CITRUPE est conventionnelle dans le cadre d'une Recherche Biomédicale de Médicament Catégorie Assurantielle B : Déclaration spontanée des EIGs à la Pharmacovigilance du CHU de Nantes par l'équipe d'investigation via des formulaires dédiés, suivi des EI per-hospitalisation et per-partum (le statut clinique du nouveau-né clôturant la fenêtre de suivi PV du protocole CITRUPE) via l'eCRF CITRUPE, et enfin monitoring du critère de jugement principal et des éléments de pharmacovigilance par la DRC de Nantes.

3- Liste des EI attendus :

Dans le cadre du présent protocole, les EI attendus sont :

Concernant le traitement à l'étude / le comparateur : aucun

Concernant le protocole : aucun

Concernant la pathologie :

Sur le plan maternel :

- HTA non contrôlée sous traitement
- Majoration de la protéinurie, survenue d'une insuffisance rénale
- Barre épigastrique persistante
- Symptômes neurologiques : céphalées rebelles, éclampsie
- OAP
- HRP
- Anomalies biologiques : hémolyse, cytolyse hépatique, thrombopénie.
- Déclenchement/Césarienne en urgence pour sauvetage maternel.

Sur le plan fœtal :

- RCIU
- MIU

- Anomalies Doppler
- Oligoamnios
- Anomalies du rythme cardiaque fœtal
- Déclenchement/césarienne en urgence pour cause fœtale.

4- Gestion des événements indésirables :

Notification des EIG/ EvIG :

Tout EIG/EvIG nécessite le remplissage d'un rapport de survenue d'EIG/EvIG, qu'il soit attendu ou non attendu. L'investigateur doit vérifier que les informations renseignées sur ce feuillet sont complètes, précises et claires (ne pas mettre d'abréviation...). La déclaration d'EIG et les documents joints à cette déclaration doivent être codés.

L'EIG/EvIG doit être rapporté immédiatement (dans les 24 heures qui suivent sa mise en évidence par l'investigateur) au promoteur.

Après réception de la notification d'un EIG, le promoteur le déclare aux autorités de tutelle. Une fois par an, il établit un rapport annuel de sécurité.

NB : Le surdosage, le mésusage, les erreurs ou risque d'erreurs médicamenteuses font l'objet d'une déclaration au promoteur par l'investigateur même s'il n'y a pas d'effet indésirable.

NB : Selon les spécifications du protocole, certains événements indésirables non graves peuvent faire l'objet d'une déclaration au promoteur.

Comité de surveillance indépendant :

En regard des données de sécurité à disposition concernant la citrulline et du rationnel même de l'étude (supplémentation à visée corrective de la femme enceinte carencée en situation pré-éclampsique), il ne nous semble pas approprié d'identifier un Comité de Surveillance Indépendant en complément de la cellule de pharmacovigilance du CHU de Nantes.

5- Modalités et durée du suivi des personnes suite à la survenue d'événements indésirables :

Tout événement sera suivi jusqu'à guérison, consolidation ou décès (événement clos).

XI- Aspects administratifs et réglementaires :

1- Droit d'accès aux données et documents source :

Les données médicales de chaque patiente ne seront transmises qu'au promoteur ou toute personne dûment habilitée par celui-ci et, le cas échéant, aux autorités sanitaires habilitées, dans les conditions garantissant leur confidentialité.

Le promoteur et les autorités de tutelle pourront demander un accès direct au dossier médical pour vérification des procédures et/ou des données de l'essai clinique et dans les limites autorisées par les lois et réglementations.

Les données recueillies lors de l'essai feront l'objet d'un traitement informatique, en conformité avec les exigences de la CNIL (conformité à la méthodologie de référence MR001).

2- Monitoring de l'essai :

Le monitoring sera assuré par le département promotion de la Direction de la recherche. Un Attaché de Recherche Clinique (ARC) se rendra régulièrement sur chaque site (investigateur, pharmacie...) afin de procéder au contrôle qualité des données rapportées dans les cahiers d'observations.

Le protocole a été classé selon le niveau risque estimé pour le patient se prêtant à la recherche. Il sera suivi de la manière suivante :

Risque A : risque prévisible faible ou négligeable

Risque B : risque prévisible proche de celui des soins usuels

Risque C : risque prévisible élevé

Risque D : risque prévisible très élevé

En regard de la classe de risque résolument faible de la recherche CITRUPE, il nous semble qu'une mise en place (commune aux 2 centres), complétée par 2 monitoring sur site (N=10 et N=50) et une visite de clôture sont correctement dimensionnés pour la recherche CITRUPE.

Les visites de monitoring sur site seront organisées après rendez-vous avec l'investigateur. Les ARC devront pouvoir consulter sur chaque site:

- les cahiers de recueil de données des patients inclus,
- les dossiers médicaux et infirmiers des patients,
- le classeur investigateur.

3- Inspection / Audit :

Dans le cadre de la présente étude, une inspection ou un audit pourra avoir lieu. Le promoteur et/ou les centres participants doivent pouvoir donner l'accès aux données aux inspecteurs ou auditeurs.

4- Considérations éthiques :

Consentement éclairé écrit :

Le parcours de soins de la population cible de CITRUPE est relativement variable en fonction de la sévérité de la pré-éclampsie et/ou de la capacité du CHU de Nantes et du CH de la Roche sur Yon à centraliser la file active de patientes au niveau loco-régional. Un gradient existe donc entre différents scénarii cliniques (antécédent de pré-éclampsie surveillée avec diagnostic initial d'un stade modéré en clinique ou par le gynécologue libéral et réorientation immédiate vers le CHU après sensibilisation à la recherche CITRUPE versus suivi intégral extra-hospitalier avec admission en urgence sur situation pré-éclampsique sévère) lequel conditionne directement l'accès au patient et la fenêtre de sensibilisation, information et recueil de consentement. L'initiation précoce de la supplémentation constituant un enjeu fondamental de la stratégie thérapeutique de CITRUPE dans un contexte clinique très précaire, la patiente sera sollicitée dès son admission et la première administration sera réalisée avant H2 idéalement. Un délai de réflexion supérieur pourra être accordé dans le cadre des PE modérées prises en charge précocement.

De manière générique, l'information sur l'essai sera prodiguée au moment de l'entretien médical à l'admission, intégrée à l'information habituelle (hospitalisation, traitement hypertenseur...).

L'investigateur s'engage à informer le patient de façon claire et juste du protocole et à lui demander un consentement éclairé et écrit (note d'information et formulaire de recueil de consentement en annexe). Il remettra au patient un exemplaire de la note d'information et un formulaire de recueil de consentement. Le patient ne pourra être inclus dans l'étude qu'après avoir pris connaissance de la note d'information et avoir signé et daté le formulaire de recueil de consentement. L'investigateur

doit également signer et dater le formulaire de recueil de consentement. Ces deux documents seront délivrés sur papier en 2 exemplaires minimum afin que le patient et l'investigateur puissent chacun en garder un exemplaire. L'original de l'investigateur sera classé dans le classeur investigateur. En cas de consentement signé en duplicate, l'investigateur conserve l'original, le duplicata est remis au patient.

Modalités de recueil du consentement en cas d'urgence :

Le scénario le plus délicat s'inscrit donc dans une admission en urgence des stades sévères sans présensibilisation par le médecin gynécologue référent. L'information et le recueil de consentement sera donc réalisé en urgence par les équipes de soins (sages-femmes ou médecin de salle d'accouchement, du SIG, de GHR ou de l'UGO) avec un délai de réflexion le plus minimal possible pour permettre une supplémentation immédiate et espérer stabiliser le processus physiopathologique et l'accouchement imminent. La balance bénéfices-risques résolument positive devrait faciliter cette inclusion rapide. En cas de décès maternel (ou de la dyade) intercurrent sur complications pré-éclamptiques sévères (prise en charge réanimatoire immédiate après extraction fœtale en urgence et exposition à une seule dose de supplémentation), le consentement de poursuite ne sera pas recherché pour des raisons principalement éthiques (démarche anxiogène chez un proche affecté par une issue dramatique sans lien avec le traitement à l'étude).

Comité de Protection des Personnes :

Le promoteur s'engage à soumettre le projet d'étude à l'autorisation préalable d'un Comité de Protection des Personnes (CPP). Les informations communiquées portent d'une part sur les modalités et la nature de la recherche et d'autre part, sur les garanties prévues pour les patients participant à cet essai.

5- Amendements au protocole :

Les demandes de modifications substantielles seront adressées par le promoteur pour autorisation ou information auprès de l'ANSM et /ou au comité de protection des personnes concerné conformément à la loi 2004-806 du 9 août 2004 et ses arrêtés d'application.

Le protocole modifié devra faire l'objet d'une version actualisée datée.

Les formulaires d'information et de recueil consentement du patient feront l'objet de modification si nécessaire.

6- Déclaration aux autorités compétentes :

Le présent protocole fera l'objet d'une demande d'autorisation auprès de l'ANSM.

7- Fichier des personnes se prêtant aux recherches biomédicales :

Les personnes participant à cette étude seront inscrites dans le fichier national des personnes se prêtant aux recherches biomédicales par les investigateurs. Une personne ne peut pas participer simultanément à une autre recherche (art L1121-12 du CSP), le CPP et l'autorité compétente fixent le cas échéant, une période d'exclusion au cours de laquelle la personne qui s'y prête ne peut participer à une autre recherche. La durée de cette période varie en fonction de la nature de la recherche.

8- Financement et assurance :

Le promoteur assure le financement de l'étude et souscrit une police d'assurance garantissant les conséquences pécuniaires de sa responsabilité civile, conformément à la réglementation.

9- Règles relatives à la publication :

Une copie de la publication sera remise au CHU de Nantes, promoteur de l'étude qui sera nécessairement cité. Les auteurs seront déterminés au prorata du nombre de patients inclus (ou autres règles le cas échéant).

10- Devenir des échantillons biologiques :

A la fin de la recherche, les échantillons biologiques résultant du prélèvement de la patiente dans le cadre spécifique de CITRUPE (facteurs angiogéniques), seront conservés sous réserve de leur intégration à la biocollection Gynécologie-Obstétrique du Pôle HME du CHU de Nantes (recueil de non-opposition extemporanément à l'inclusion dans CITRUPE (la fenêtre du post-partum est à privilégier pour limiter l'effet anxiogène associé à des sollicitations répétées).

11- Archivage des données sources :

L'investigateur doit conserver toutes les informations relatives à l'étude pour au moins 25 ans après la fin de l'étude. A la fin de l'étude, l'investigateur recevra également une copie des données de chaque patient de son centre via un CD-ROM envoyé par le promoteur.

Conclusion :

Les différents axes de recherche sur la pré-éclampsie s'orientent à la fois vers le dépistage (facteurs angiogéniques), la prévention de la récurrence (aspirine, antioxydants, vitamine D, calcium, donneurs de NO) et le traitement curatif une fois la pathologie avérée.

Actuellement, seuls l'arrêt de la grossesse et la délivrance du placenta permettent d'enrayer le processus de la pré-éclampsie. L'aphérèse par adsorption extracorporelle de sFlt1, notamment pour les pré-éclampsies sévères et précoces, reste d'accès difficile. S'ils s'avéraient bénéfiques pour la stabilisation ou la restauration de la fonction endothéliale, les donneurs de NO seraient une voie intéressante. De plus, des donneurs de NO comme le sildenafil, suscitent l'intérêt dans le RCIU vasculaire. Dans ce contexte, la citrulline pourrait apporter un double intérêt : 1) par son métabolisme particulier, permettre une forte biodisponibilité en arginine et escompter une meilleure activité donneur de NO et 2) en favorisant la synthèse protéique, permettre de prévenir ou corriger le RCIU.

Ainsi, si un acide aminé donneur de NO pouvait modifier favorablement le déterminisme vasculaire des PE, cela ouvrirait des projets sur la prévention et le traitement de la PE et du RCIU.

BIBLIOGRAPHIE :

- [1] Beaufils M, Haddad B, Bavoux F. Hypertension artérielle pendant la grossesse : aspects physiopathologiques et pronostic à long terme. EMC (Elsevier SAS,Paris), Gynécologie/Obstétrique,5-036-A-10,2006
- [2] Wilson BJ, Watson MS, Prescott GJ, Sunderland S, Campbell DM, Hannaford P, et al. Hypertensive diseases of pregnancy and risk of hypertension and stroke in later life: results from cohort study. *BMJ*. 2003 Apr 19;326(7394):845.
- [3] Vikse BE. Pre-eclampsia and the risk of kidney disease. *Lancet*. 2013 Jul 13;382(9887):104–6.
- [4] Vikse BE, Irgens LM, Leivestad T, Skjaerven R, Iversen BM. Preeclampsia and the risk of endstage renal disease. *N Engl J Med*. 2008 Aug 21;359(8):800–9.
- [5] Haddad B, Deis S, Goffinet F, Paniel BJ, Cabrol D, Sibai 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.
- [6] Fournié A, Kessler S, Biquard F, Parant O, Connan L. Hypotrophie, retard de croissance intra-utérin, souffrance fœtale chronique. 2004. EMC gynécologie/obstétrique, Ed Elsevier Masson, section 5-076-E-10.
- [7] Barker DJ. Intrauterine programming of adult disease. *Mol Med Today* 1995;1:418-423.
- [8] Robillard PY, Dekker G, Chaouat G, Hulsey TC, Saftlas A. Epidemiological studies on primipaternity and immunology in preeclampsia--a statement after twelve years of workshops. *J Reprod Immunol*. 2011;89:104-17
- [9] Goffinet F. [Epidemiology]. *Ann Fr Anesthésie Réanimation*. 2010 Mar;29(3):e7–12.

- [10] Redman CW, Bonnar J, Beilin L. Early platelet consumption in pre-eclampsia. *Br Med J.* 1978 Feb 25;1(6111):467-9.
- [11] Bussolino F, Benedetto C, Massobrio M, Camussi G. Maternal vascular prostacyclin activity in pre-eclampsia. *Lancet* 1980 Sep 27;2(8196):702.
- [12] Masotti G, Galanti G, Poggesi L, Abbate R, Neri Serneri GG. Differential inhibition of prostacyclin production and platelet aggregation by aspirin. *Lancet* 1979 Dec 8;2(8154):1213-7
- [13] Beaufils M, Uzan S, Donsimoni R, Colau JC. Prevention of pre-eclampsia by early antiplatelet therapy. *Lancet.* 1985 Apr 13;1(8433):840–2.
- [14] Sibai BM. Prevention of preeclampsia: a big disappointment. *Am J Obstet Gynecol.* 1998 Nov;179:1275-8.
- [15] Duley L, Henderson-Smart DJ, Meher S, King JF. Antiplatelet agents for preventing preeclampsia and its complications. *Cochrane Database Syst Rev.* 2007;(2):CD004659.
- [16] Bujold E, Roberge S, Lacasse Y, Bureau M, Audibert F, Marcoux S. Prevention of preeclampsia and intrauterine growth restriction with aspirin started in early pregnancy: a meta-analysis. *Obstet Gynecol.* 2010 Aug;116(2 Pt 1):402–14.
- [17] Prévention et traitement de la pré-éclampsie et de l'éclampsie. Manuel OMS d'élaboration des directives. Genève; 2008.
- [18] SFAR, CNGOF. Prise en charge multidisciplinaire des formes graves de prééclampsie. Recommandations formalisées d'experts communes. 2009.
- [19] CNGOF. Recommandations pour la pratique clinique. Le retard de croissance intra-utérin. 2013.
- [20] Dekker GA. Management of preeclampsia. *Pregnancy Hypertens.* 2014 Jul;4(3):246-7.
- [21] Haddad B, Beaufils M, Bavoux F. Prise en charge de la prééclampsie. EMC (Elsevier SAS, Paris), Gynécologie/Obstétrique, 5-036-A-20, 2006.
- [22] Tsatsaris V, Fournier T, Winer N. Physiopathologie de la prééclampsie. *Ann Fr Anesth Reanim.* 2010 Mar ;29(3) :e13-8.

- [23] Morris NH, Eaton BM, Dekker G. Nitric oxide, the endothelium, pregnancy and pre-eclampsia. *Br J Obstet Gynaecol.* 1996 Jan;103(1):4-15.
- [24] Raijmakers MT, Peters WH, Steegers EA, Poston L. NAD(P)H oxidase associated superoxide production in human placenta from normotensive and preeclamptic women. *Placenta.* 2004 Apr;25 Suppl A :S85-9.
- [25] Raijmakers MT, Dechend R, Poston L. Oxydative stress and preeclampsia : rationale for antioxidant clinical trials. *Hypertension.* 2004 Oct;44(4):374-80.
- [26] Patil SB, Kodliwadmth MV, Kodliwadmth M. Lipid peroxidation and antioxidant activity in complicated pregnancies. *Clin Exp Obstet Gynecol* 2009;36(2):110-12.
- [27] Madazli R, Benian A, Aydin S, Uzun H, Tolun N. The plasma and placental levels of malondialdehyde, glutathione and superoxide dismutase in pre-eclampsia. *J Obstet Gynaecol.* 2002 Sep;22(5):477-80.
- [28] Roberts JM, Myatt L, Spong CY, Thom EA, Hauth JC. Vitamine C et E to prevent complications of pregnancy-associated hypertension. *N Engl J Med.* 2010 Apr 8;362(14):1282-91.
- [29] Weissgerber TL, Gandley RE, McGee PL, Spong CY, Myatt L. Haptoglobin phenotype, preeclampsia risk and the efficacy of vitamin C and E supplementation to prevent preeclampsia in racially diverse population. *PLoS One.* 2013;8(4):e60479.
- [30] Rumbold A, Duley L, Crowther CA, Haslam RR. Antioxidants for preventing preeclampsia. *Cochrane Database Syst Rev.* 2008 Jan 23;(1):CD004227.
- [31] Salles AM, Galvao TF, Silva MT, Motta LC, Pereira MG. Antioxydants for preventing preeclampsia: a systematic review. *Scientific World Journal.* 2012;2012:243476.
- [32] Tara F, Maamouri G, Rayman MP, Ghayour-Mobarhan M, Sahebkar A. Selenium supplementation and the incidence of preeclampsia in pregnant Iranian women: a randomized, double-blind, placebo-controlled pilot trial. *Taiwan J Obstet Gynecol.* 2010 Jun;49(2):181-7.
- [33] Rayman MP, Searle E, Kelly L, Johnsen S, Bodman-Smith K, Bath SC, Mao J, Redman CW. Effect of selenium on markers risk of pre-eclampsia in UK pregnant women: a randomized, controlled pilot trial. *Br J Nutr.* 2014;112(1):99-111.
- [34] Watson M, van Leer L, Vanderlelie JJ, Perkins AV. Selenium supplementation protects trophoblast cells from oxidative stress. *Placenta.* 2012 Dec;33(12):1012-9.

- [35] Khera A, Vanderlelie JJ, Perkins AV. Selenium supplementation protects trophoblast cells from mitochondrial oxidative stress. *Placenta*. 2013 Jul;34(7):594-8.
- [36] Vadillo-Ortega F, Perichart-Perera O, Espino S. Effect of supplementation during pregnancy with L-arginine and antioxidant vitamins in medical food on pre-eclampsia in high risk population: Randomised controlled trial. *BMJ* 2011; 342: d2901.
- [37] Venkatesha S, Toporsian M, Lam C, Hanai J, Mammoto T, Kim YM, Bdolah Y, Lim KH, Yuan HT, Libermann TA, Stillman IE, Roberts D, D'Amore PA, Epstein FH, Sellke FW, Romero R, Sukhatme VP, Letarte M, Karumanchi SA. Soluble endoglin contributes to the pathogenesis of preeclampsia. *Nat Med*. 2006 Jun;12(6):642-9.
- [38] Maynard SE, Min JY, Merchan J, Lim KH, Li J, Mondal S, Libermann TA, Morgan JP, Selke FW, Stillman IE, Epstein FH, Sukhatme VP, Karumanchi SA. Excess placental soluble fms-like tyrosine kinase 1 (sFlt1) may contribute to endothelial dysfunction, hypertension, and proteinuria in preeclampsia. *J Clin Invest*. 2003 Mar;111(5):649-58.
- [39] Levine RJ, Maynard SE, Qian C, Lim KH, England LJ, Yu KF, Schisterman EF, Thadhani R, Sachs BP, Epstein FH, Sibai BM, Sukhatme VP, Karumanchi SA. Circulating angiogenic factors and the risk of preeclampsia. *N Engl J Med*. 2004 Feb 12;350(7):672-83.
- [40] Thadhani R, Mutter WP, Wolf M, Levine RJ, Taylor RN, Sukhatme VP, et al. First trimester placental growth factor and soluble fms-like tyrosine kinase 1 and risk for preeclampsia. *J Clin Endocrinol Metab*. 2004 Feb;89(2):770-5.
- [41] Robinson CJ, Johnson DD, Chang EY, Armstrong DM, Wang W. Evaluation of placenta growth factor and soluble Fms-like tyrosine kinase 1 receptor levels in mild and severe preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol*. 2006 Jul;195(1):255-9.
- [42] Levine RJ, Lam C, Qian C, Yu KF, Maynard SE, Sachs BP, et al. Soluble endoglin and other circulating antiangiogenic factors in preeclampsia. *N Engl J Med*. 2006 Sep 7;355(10):992-1005.
- [43] Rana S, Powe CE, Salahuddin S, Verlohren S, Perschel FH, Levine RJ, et al. Angiogenic factors and the risk of adverse outcomes in women with suspected preeclampsia. *Circulation*. 2012 Feb 21;125(7):911-9.
- [44] Baumann MU, Bersinger NA, Mohaupt MG, Raio L, Gerber S, Surbek DV. First-trimester serum

levels of soluble endoglin and soluble fms-like tyrosine kinase-1 as first-trimester markers for late-onset preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol.* 2008 Sep;199(3):266.e1–6.

[45] Stepan H, Herraiz I, Schlembach D, Verlohren S, Brennecke S, Chantraine F, Klein E, Lapaire O, Llurba E, Ramoni A, Vatish M, Wertaschnigg D, Galindo A. Implementation of the sFlt-1/PlGF ratio for prediction and diagnosis of pre-eclampsia in singleton pregnancy : implications for clinical practice. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2015;45:241-6.

[46] Chaiworapongsa T, Romero R, Koreniewski SJ, Kusanovic JP, Soto E, Lam J, Dong Z, Than NG, Yeo L, Hernandez-Andrade E, Conde-Agudelo A, Hassan SS. Maternal plasma concentrations of angiogenic/antiangiogenic factors in the third trimester of pregnancy to identify the patient at risk for stillbirth at or near term and severe late preeclampsia. *Am J Obstet.* 2013 ;208:287.E1-287.E15.

[47] Thadhani R, Kisner T, Haggmann H, Bossung V, Noack S, Schaarschmidt W, Jank A, Kribs A, Cornely OA, Kreyssig C, Hemphill L, Rigby AC, Khedkar S, Lindner TH, Mallmann P, Stepan H, Karumanchi SA, Benzing T. Pilot study of extracorporeal removal of soluble fms-like tyrosine kinase 1 in preeclampsia. *Circulation.* 2011, 23;124:940-50.

[48] Romero R, Nien JK, Espinoza J, Todem D, Fu W, Chung H, et al. A longitudinal study of angiogenic (placental growth factor) and anti-angiogenic (soluble endoglin and soluble vascular endothelial growth factor receptor-1) factors in normal pregnancy and patients destined to develop preeclampsia and deliver a small for gestational age neonate. *J Matern-Fetal Neonatal Med Off J Eur Assoc Perinat Med Fed Asia Ocean Perinat Soc Int Soc Perinat Obstet.* 2008 Jan;21(1):9–23.

[49] Kalyanaraman B. Teaching the basics of redox biology to medical and graduate students: oxidants, antioxidants and disease mechanisms. *Redox Biol.* 2013;1:244-57.

[50] Krause BJ, Hanson MA, Casanello P. Role of nitric oxide in placental vascular development and function. *Placenta.* 2011 Nov;32(11):797-805.

[51] Conrad KP, Vill M, McGuire PG, Dail WG, Davis AK. Expression of nitric oxide synthase by syncytiotrophoblast in human placental villi. *FASEB J.* 1993 Oct;7(13):1269-76.

[52] Goodrum LA, Saade GR, Belfort MA, Moise KJ Jr, Jahoor F. Arginine flux and nitric oxide production during human pregnancy and postpartum. *J Soc Gynecol Investig.* 2003 Oct;10(7):400-5.

- [53] Toporsian M, Gros R, Kabir MG, Vera S, Govindaraju K, Eldelman DH, Husain M, Letarte M. A role for endoglin in coupling eNOS activity and regulating vascular tone revealed in hereditary hemorrhagic telangiectasia. *Circ res* 2005 Apr 1;96(6):684-92.
- [54] Fleming I, Fisslthaler B, Dimmeler S, Kemp BE, Busse R. Phosphorylation of Thr(495) regulates Ca(2+)/calmodulin-dependent endothelial nitric oxide synthase activity. *Circ Res* 2001 Jun 8;88(11):E68-75.
- [55] Lyall F. development of the utero-placental circulation : the role of carbon monoxide and nitric oxide in trophoblast invasion and spiral artery transformation. *Microsc Res Tech.* 2003 Mar 1;60(4):402-11.
- [56] Crane MS, Rossi AG, Megson IL. A potentiel role for extracellulaire nitric oxide generation in cGMP-independant inhibition of human platelets aggregation :biochemical and pharmacological considerations. *Br J Pharmacol* 2005; 144 : 849-59.
- [57] Konijnenberg A, Stokkers EW, Van Der Post JA, Schaap MC, Boer K, Bleker OP, Sturk A. Extensive platelets activation in preeclampsia compared with normal pregnancy : enhanced expression of cell adhesion molecules. *Am J ObstetGynecol* 1997; 176:461-9.
- [58] Sandrim VC, Palei AC, Metzger IF, Gomes VA, Cavalli RC, Tanus Santos JE. Nitric oxide formation is inversely related to serum levels of antiangiogenic factors soluble fms-like tyrosine kinase-1 and soluble endoglin in preeclampsia. *Hypertension* 2008; 52:402-7.
- [59] Hofmeyr GJ, Lawrie TA, Atallah AN, Duley L, Torloni MR. Calcium supplementation during pregnancy for preventing hypertensive disorders and related problems. *Cochrane Database Syst rev.* 2014 Jun 24;6:CD001059.
- [60] Lopez-Jaramillo P. Prevention of preeclampsia with calcium supplementation and its relation with the L-arginine: nitric oxide pathway. *Braz J Med Biol Res.* 1996;29:731-741.
- [61] Chen Q, Tong M, Wu M, Stone PR, Snowise S, Chamley LW. Calcium supplementation prevents endothelial cell activation: possible relevance to preeclampsia. *J Hypertens.* 2013;31:1828-36.
- [62] Yagüe S, Alvarez Arroyo V, Castilla A, Gonzalez Pacheco FR, Llamas P, caramel C. Modulation of the effect of vascular endothelial growth factor on endothelial cells by heparin : critical role of nitric oxide-mediated mechanisms. *J Nephrol.* 2005 May-Jun;18(3):234-42.
- [63] Takakura K, Mizogami M, Fukuda S. Protamine sulfate causes endothelium-independent vasorelaxation via inducible nitric oxide synthase pathway. *Can J Anaesth.* 2006 Feb;53(2):162-7.

- [64] Torricelli M, Reis FM, Florio P, Severi FM, Bocchi C, Picciolini E, Guidoni CG, Etragila F. Low-molecular-weight heparin improves the performance of uterine artery Doppler velocimetry to predict preeclampsia and small-for-gestational age infant in women with gestational hypertension. *Ultrasound Med Biol* 2006; 32: 1431-5.
- [65] 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 pre-eclampsia. *Eur J Clin Invest* 1994; 24 76-8.
- [66] Grunewald C, Kublickas M, Carlström K, Lunell NO, Nisell H. Effects of nitroglycerin on the uterine and umbilical circulation in severe preeclampsia. *Obstet gynecol.* 1995 Oct;86(4 Pt 1):600-4.
- [67] Cetin A, Yurtcu N, Guvenal T, Imir AG, Duran B, Cetin M. The effect of glyceryl trinitrate on hypertension in women with severe preeclampsia, HELLP syndrome, and eclampsia. *Hypertens Pregnancy.* 2004;23(1):37-46.
- [68] Manzur-Verastegui S, Mandeville PB, Gordillo-Moscoso A, Hernandez-Sierra JF, Rodriguez-Martinez M. Efficacy of nitroglycerin infusion versus sublingual nifedipine in severe pre-eclampsia : a randomized, triple blind, controlled trial. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 2008;35:580-5.
- [69] Cacciatore B, Halmesmäki 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 Jul;179(1):140-5.
- [70] Trapani A Jr, Goncalves LF, Pires MM. Transdermal nitroglycerin in patients with severe pre-eclampsia with placental insufficiency : effect on uterine, umbilical and fetal middle cerebral artery resistance indices. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2011 Oct;38(4):389-94.
- [71] 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 Aug;14(2):101-9.
- [72] Lees C, Valensise H, Black R, Harrington K, Byiers S, Romanini C, Campbell S. The efficacy and fetal-maternal 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 Nov;12(5):334-8.

- [73] Picciolo C, Roncaglia N, Neri I, Pasta F, Arreghini A, Facchinetti F. Nitric oxide in the prevention of pre-eclampsia. *Prenat Neonatal Med* 2000;5:212-5.
- [74] 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:(4 Pt 1):341-7.
- [75] Nakatsuka M, Takata M, Tada K, Asagiri K, Habara T, Noguchi S, Kudo T. A long-term transdermal nitric oxide donor improves uteroplacental circulation in women with preeclampsia. *J Ultrasound Med* 2002;21:831-6.
- [76] Martinez-Abundis E, Gonzalez-Ortiz M, Hernandez-Salazar F, Huerta-J-Lucas MT. Sublingual isosorbide dinitrate in the acute control of hypertension in patients with severe preeclampsia. *Gynecol Obstet Invest.* 2000;50:39-42.
- [77] Thaler I, Amit A, Jakobi P, Itskovitz-Eldor J. The effect of isosorbide dinitrate on uterine artery and umbilical artery flow velocity waveforms at mid-pregnancy. *Obstet Gynecol.* 1996;88:838-43.
- [78] Makino Y, Izumi H, Makino I, Shirakawa K. The effect of nitric oxide on uterine and umbilical artery flow velocity waveform in pre-eclampsia. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 1997;73:139-43.
- [79] De Belder AJ, MacAllister R, Radomski MW, Moncada S, Vallance PJ. Effects of S-nitroso-gluthathione in the human forearm circulation : evidence for selective inhibition of platelet activation. *Cardiovasc res*; 1994 May;28(5):691-4.
- [80] Ramsay B, Radomski M, De Belder A, Martin JF, Lopez-Jaramillo P. Systemic effects of S-nitroso-gluthathione in the human following intravenous infusion. *Br J Clin Pharmacol.* 1995 Jul;40(1):101-2.
- [81] Lees C, Langford E, Brown AS, de Belder A, Pickles A, Martin JF, Campbell S. The effects of S-nitrosogluthathione on platelet activation, hypertension, and uterine and fetal Doppler in severe preeclampsia. *Obstet Gynecol.* 1996 Jul;88(1):14-9.
- [82] Johal T, Lees C, Everett TR, Wilkinson IB. The nitric oxide pathway and possible therapeutic options in pre-eclampsia. *Br J Clin Pharmacol.* 2013 Dec;78(2):244-57.
- [83] Ramesar SV, Mackraj I, Gathiram P, Moodley J. Sildenafil citrate decreases sFlt1 and sEng in pregnant l-NAME treated Sprague-Dawley rats. *Eur Gynecol reprod boil.* 2011 Aug;157(2):136-40.

- [84] Herraiz S, Pellicer B, Serra V, Cauli O, Cortijo J, Felipe V, Pellicer A. Sildenafil citrate improves perinatal outcome in fetuses from pre-eclamptic rats. *BJOG*. 2012 Oct;119(11):1394-402.
- [85] Stanley JL, Andersson IJ, Poudel R, Rueda-clausen CF, Sibley CP, Davidge ST, Baker PN. Sildenafil citrate rescues fetal growth in the catechol-O-methyl transferase knockout mouse model. *Hypertension*. 2012 May;59(5):1021-8.
- [86] Nassar AH, Masrouha KZ, Itani H, Nader KA, Usta IM. Effects of sildenafil in Nω-nitro-L-arginine methyl ester-induced intrauterine growth restriction in rat model. *Am J Perinatol*. 2012 Jun;29(6):429-34.
- [87] Samangaya RA, Mires G, Shennan A, Skilleem L, Howe D, McLeod A, Baker PN. A randomised, double-blinded, placebo-controlled study of the phosphodiesterase type 5 inhibitor sildenafil for the treatment of preeclampsia. *Hypertens Pregnancy*. 2009 Aug;28(4):369-82.
- [88] Panda S, Das A, Md Nowroz H. Sildenafil citrate in fetal growth restriction. *J Reprod infertile*. 2014 Jul;15(3):168-9.
- [89] Von Dadelszen P, Dwinnel S, Magee LA, Carleton BC, Gruslin A, Lee B, Lim KI, Liston RM, Miller SP, Rurak D, Sherlock RL, Skoll MA, Wareing MM, Baker PN. Sildenafil citrate therapy for severe early-onset intrauterine growth restriction. *BJOG*. 2011 Apr;118(5):624-8.
- [90] Visek WJ. Arginine needs, physiological state and usual diets : a reevaluation. *J Nutr* 1986;116:36-46.
- [91] Pegg AE et McCann PP. Polyamine metabolism and function. *Am. J. Physiol*. 1982;243:C212-C221.
- [92] Morris SM, Enzymes of arginine metabolism. *J Nutr*. 2004;134(10suppl):2743S-2747S;discussion 2765S-2767S. Review.
- [93] Molnar M, Sütö T, Hertelendy F. Prolonged blockade of nitric oxide synthesis in gravid rats produces sustained hypertension, proteinuria, thrombocytopenia, and intrauterine growth retardation. *Am J Obstet gynecol*. 1994 May;170(5 Pt 1):1458-66.
- [94] Baylis C, Mitruka B, Deng A. Chronic blockade of nitric oxide synthesis in the rat produces systemic hypertension and glomerular damage. *J Clin Invest*. 1992 Jul;90(1):278-81.

- [95] Vosatka RJ, Hassoun PM, Harvey-Wilkes KB. Dietary L-arginine prevents fetal growth restriction in rats. *Am J Obstet Gynecol*. 1998 Feb;178(2):242-6.
- [96] Kaya A, Boztosun A, Seckin H, Guven AS, Kucukdurmaz Z, Gulturk S, Cevit O. The evaluation of hypoxia-inducible factor 1 in N-nitro-L-arginine methyl ester preeclampsia model of pregnant rats. *J Investig Med*. 2011;59(8):1268-72.
- [97] Facchinetti F, Longo M, Piccinini F. L-arginine infusion reduces blood pressure in preeclamptic women through nitric oxide release. *J Soc Gynecol Investig*. 1999; 6: 202–207.
- [98] Zhang N, Xiong AH, Xiao X. Effect and mechanism of L-arginine therapy for fetal growth retardation due to pregnancy-induced hypertension [in Chinese]. *Nan Fang Yi Ke Da Xue Xue Bao* 2007; 27: 198–200.
- [99] Rytlewski K, Olszanecki R, Korbut R, et al. 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.
- [100] 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 Jul;44(1)e1.
- [101] Staff AC, Berge L, Haugen G, Lorentzen B, Mikkelsen B, Henriksen T. Dietary supplementation with L-arginine or placebo in women with pre-eclampsia. *Acta Obstet Gynecol Scand* 2004; 83: 103–107.
- [102] Neri I, Monari F, Sgarbi L, Berardi A, Masellis G, Facchinetti F. L-arginine supplementation in women with chronic hypertension : impact on blood pressure and maternal and neonatal complications. *J Matern Fetal neonatal Med*. 2010 Dec;23(12):1456-60.
- [103] Shen SF, Hua CH. Effect of L-arginine on the expression of Bcl-2 and Bax in the placenta of fetal growth restriction. *J Matern Fetal neonatal Med*. 2011 Jun;24(6)822-6.
- [104] Xiao XM, Li LP. L-arginine treatment for asymmetric fetal growth restriction. *Int J Gynaecol Obstet*. 2005 Jan;88(1):15-8.
- [105] Sieroszewski P, Suzin J, Karowicz-Bilinska A. Ultrasound evaluation in intrauterine growth restriction therapy by a nitric oxide donor (L-arginine). *J Matern Fetal Neonatal Med*. 2004 Jun;15(6):363-6.

- [106] Winer N, Branger B, Azria E, Tsatsaris V, Philippe HJ, Rozé JC, Descamps P, Boog G, Cynober L, Darmaun D. L-arginine treatment for severe vascular fetal intrauterine growth restriction : a randomized double-blind controlled trial. *Clin Nutr.* 2009 Jun;28(3):243-8.
- [107] Lassala A, Bazer F.W, Cudd T.A, Li P, Li X, Satterfield M.C., Spencer T.E., Wu G. Intravenous administration of L-citrulline to pregnant ewes is more effective than L-arginine for increasing arginine availability in the fetus. *J. Nutr.*2009;139: 660–665.
- [108] Osowska S, Moinard C, Neveux N, Loi C, Cynober L. Citrulline increases arginine pools and restores nitrogen balance after massive intestinal resection. *Gut.* 2004, 53, 1781–1786.
- [109] Osowska S. Citrulline modulates muscle protein metabolism in old malnourished rats. *AJP: Endocrinology and Metabolism.* 2006. 291, E582–E586.
- [110] Bourdon A, Rougé C, Legrand A, Des Robert C, Piloquet H, Vodovar M, Voyer M, Rozé JC, Darmaun D. Urinary citrulline in very low birth weight preterm infants receiving intravenous nutrition. *Br J Nutr.* 2012 Oct;108(7):1150-4.
- [111] Hannigsberg J, Bourdon A, Tran T, Castellano B, Poupeau G, Parnet P, Winer N, Darmaun D. Effets de la supplémentation orale en citrulline sur la croissance fœtale dans un modèle animal de retard de croissance intra utérin. *Nutr Clin Metab.* 2013. S23-S55.
- [112] Misbert E, Bourdon A, Hannigsberg J, Tran TN, Parnet P, Winer N, Darmaun D. Effet anabolisant de l'arginine et de la citrulline dans un modèle de retard de croissance intra-utérin : rôle des hormones et des transporteurs des acides aminés. 38^{èmes} Journées nationales Collège National Des Gynécologues et Obstétriciens Français, 4 décembre 2014, Paris.
- [113] Smith HA, Canter JA, Christian KG, Drinkwater DC, Scholl FG, Christman BW, Rice GD, Barr FE, Summar ML. Nitric oxide precursors and congenital heart surgery : a randomized controlled trial of oral citrulline. *J Thorac Cardiovasc surg.* 2006 Jul;132(1):58-65.
- [114] Powers R, Weissgerber TL, McGonigal S, Myerski A, Gallaher M, Speer PD, Roberts JM, Jeyabalan A, Hubel CA. L-citrulline administration increases the arginine/ADMA ratio, decreases blood pressure and improves vascular function in obese pregnant women. *Pregnancy Hypertens.* 2015 Jan;5(1):4.
- [115] Khalil A, Hardman L, O'Brien P. The role of Arginine, homoarginine and nitric oxide in pregnancy. *Amino Acids.* 2015 Jun 20 [Epub].

- [116] Potter MA, Zeesman S, Brennan B, Kobayashi K, Gao HZ, Tabata A, Saheki T, Whelan DT. Pregnancy in a healthy woman with untreated citrullinemia. *Am J Med Genet A*. 2004 Aug 15;129A(1):77-82.
- [117] Smith HA, Canter JA, Christian KG, Drinkwater DC, Scholl FG, Christman BW, Rice GD, Barr FE, Summar ML. Nitric oxide precursors and congenital heart surgery : a randomized controlled trial of oral citrulline. *J Thorac Cardiovasc surg*. 2006 Jul;132(1):58-65.
- [118] Moinard C, Nicolis I, Neveux N, Darquy S, Benazeth 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 Apr;99(4):855-62.
- [119] Crenn P, Messing B, Cynober L. Citrulline as a biomarker of intestinal failure due to enterocyte mass reduction. *Clin Nutr*. 2008 Jun;27(3):328-39.
- [120] Moinard C, Nicolis I, Neveux N, Darquy S, Benazeth 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 Apr;99(4):855-62.
- [121] Mandel H, Levy N, Izkovitch S, Korman SH. Elevated plasma citrulline and arginine due to consumption of *Citrullus vulgaris* (watermelon). *J Inher Metab Dis*. 2005;28(4):467-72.
- [122] Schwedhelm E, Mass R, Freese R, Jung D, Lukacs Z, Jambrecina A, Spickler W, Schulze F, Böger RH. Pharmacokinetic and pharmacodynamic properties of oral L-citrulline and L-arginine : impact on nitric oxide metabolism. *Br J Clin Pharmacol*. 2008 Jan;65(1):51-9.
- [123] 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 Gastrointest Liver Physiol*. 2007 Nov ;293(5) :G1061-7.
- [124] Thibault R, Flet L, Vavasseur F, Lemerle M, Ferchaud-Roucher V, Picot D, Darmaun D. Oral citrulline does not affect whole body protein metabolism in healthy human volunteers : results of a prospective, randomized, double-blind, cross-over study. *Clin Nutr*. 2011 Dec;30(6):807-11.

Serment médical d'Hippocrate

Au moment d'être admis (e) à exercer la médecine, je promets et je jure d'être fidèle aux lois de l'honneur et de la probité.

Mon premier souci sera de rétablir, de préserver ou de promouvoir la santé dans tous ses éléments, physiques et mentaux, individuels et sociaux.

Je respecterai toutes les personnes, leur autonomie et leur volonté, sans aucune discrimination selon leur état ou leurs convictions. J'interviendrai pour les protéger si elles sont affaiblies, vulnérables ou menacées dans leur intégrité ou leur dignité. Même sous la contrainte, je ne ferai pas usage de mes connaissances contre les lois de l'humanité.

J'informerai les patients des décisions envisagées, de leurs raisons et de leurs conséquences. Je ne tromperai jamais leur confiance et n'exploiterai pas le pouvoir hérité des circonstances pour forcer les consciences.

Je donnerai mes soins à l'indigent et à quiconque me les demandera. Je ne me laisserai pas influencer par la soif du gain ou la recherche de la gloire.

Admis (e) dans l'intimité des personnes, je tairai les secrets qui me seront confiés. Reçu à l'intérieur des maisons, je respecterai les secrets des foyers et ma conduite ne servira pas à corrompre les mœurs.

Je ferai tout pour soulager les souffrances. Je ne prolongerai pas abusivement les agonies. Je ne provoquerai jamais la mort délibérément.

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

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

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

Vu, le Président du Jury,
(tampon et signature)

Vu, le Directeur de Thèse,
(tampon et signature)

Vu, le Doyen de la Faculté,
(tampon et signature)

TITRE DE THESE :

Elaboration du protocole CITRUPE : Evaluation de l'efficacité d'une supplémentation en Citrulline sur le délai d'accouchement de femmes hospitalisées pour pré-éclampsies.

RESUME :

La pré-éclampsie (PE) est secondaire à une dysfonction de l'implantation du placenta entraînant des lésions de l'endothélium maternel, avec pour conséquences une hypertension artérielle, une néphropathie glomérulaire et une augmentation de la perméabilité vasculaire. La pré-éclampsie touche 2 à 8% des grossesses et est responsable de près de 20 % de la mortalité maternelle liée à la grossesse aux Etats-Unis et 15 % en Europe. Par ses conséquences périnatales à la fois sur le fœtus et sur la mère, la PE représente un problème de santé publique majeur, pour lequel il n'existe pas de traitement curatif à l'heure actuelle.

Stratégiquement, l'attention s'est portée vers les donneurs de NO et plus particulièrement vers la L-arginine, avec l'hypothèse de restaurer la fonction endothéliale et d'améliorer la vascularisation placentaire. Les résultats d'une étude randomisée, montrant une diminution significative de la récurrence de la pré-éclampsie chez les patientes supplémentées en arginine, ont renforcé notre intérêt pour les donneurs de NO. D'autres essais de supplémentation en arginine, par voie parentérale ou entérale, dans un contexte de RCIU, ont toutefois donné des résultats contradictoires. Ceci pouvait en partie être expliqué par la dégradation splanchnique de l'arginine par l'arginase, la rendant inefficace lorsqu'elle est apportée par voie orale.

La citrulline est un acide aminé qui échappe au métabolisme intestinal et hépatique, convertie en arginine au niveau du rein. Elle pourrait ainsi, par une biodisponibilité supérieure, être plus efficace. Les données cliniques et pré-cliniques sont très encourageantes. Chez des volontaires sains en dehors de la grossesse, la citrulline orale est efficace pour augmenter la concentration circulante en arginine. Chez la brebis gestante, un apport parentéral de citrulline produit une élévation de la concentration d'arginine plus élevée que la perfusion d'une dose équimolaire d'arginine, chez la mère et son fœtus. De plus, la citrulline a un effet anabolisant dans des états de dénutrition et améliore significativement le poids fœtal dans un modèle animal de RCIU.

Ainsi, la Citrulline, véritable stratégie thérapeutique novatrice, pourrait éventuellement permettre de prolonger la grossesse en restaurant ou stabilisant la fonction endothéliale, et en retardant ou diminuant les complications cliniques et biologiques materno-fœtales de la PE.

L'essai CITRUPE vise donc à évaluer l'efficacité de la Citrulline avec pour objectif principal d'accroître l'âge gestationnel de l'accouchement des femmes en contexte de pré-éclampsie. Les objectifs secondaires seront d'améliorer la morbi-mortalité maternelle et fœtale, d'analyser la cinétique des facteurs angiogéniques en particulier du ratio sFlt1/PlGF, d'analyser l'impact vasculaire et métabolique de la supplémentation en citrulline, et d'augmenter la croissance staturo-pondérale fœtale.

Il s'agit d'un essai clinique bicentrique randomisé en double-aveugle versus placebo (104 patientes), stratifié sur le centre et la sévérité de la pré-éclampsie (modérée versus sévère). Elle s'appuiera sur une forte collaboration/complémentarité entre le CHU de Nantes et le CHD de La Roche-sur-Yon.

Seront incluses, après consentement maternel, l'ensemble des femmes hospitalisées au CHU de Nantes et au CHD de La Roche-sur-Yon, dans le cadre de Pré-éclampsies.

La supplémentation en citrulline sera débutée au plus près de l'admission, avec une dose de charge de 9g per os en prise unique puis sera poursuivie de J2 jusqu'à l'accouchement à raison de 3g x 3 par jour.

MOTS-CLES :

Pré-éclampsie, citrulline, NO, facteurs angiogéniques, retard de croissance intra-utérin.