



Vers une meilleure connaissance des pathologies vasculaires placentaires

Tiphaine Barjat

► To cite this version:

Tiphaine Barjat. Vers une meilleure connaissance des pathologies vasculaires placentaires. Médecine humaine et pathologie. Université de Lyon, 2017. Français. NNT : 2017LYSES026 . tel-02183533

HAL Id: tel-02183533

<https://theses.hal.science/tel-02183533>

Submitted on 15 Jul 2019

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



THESE de DOCTORAT DE L'UNIVERSITE DE LYON
opérée au sein de l'Université Jean Monnet – Saint-Etienne

Ecole Doctorale SIS N°488
Science, Ingénierie, Santé

Discipline de doctorat : Gynécologie Obstétrique

Soutenue publiquement le 15 septembre 2017, par :
Tiphaine BARJAT

**VERS UNE MEILLEURE CONNAISSANCE DES
PATHOLOGIES VASCULAIRES PLACENTAIRES**

Devant le jury composé de :

Professeur Jean-Christophe Gris CHU de Nîmes
Professeur Pascal Gaucherand CHU de Lyon HFME
Professeur Céline Chauleur CHU de Saint Etienne
Professeur Patrick Mismetti CHU de Saint Etienne

Rapporteur
Rapporteur
Directeur de Thèse
Examineur

« Les défis sont ce qui rend la vie intéressante et les surmonter est ce qui lui donne du sens. »

– Joshua Marine

REMERCIEMENTS

Madame le Professeur Céline Chauleur,

Tout d'abord, je tiens à remercier le Professeur Céline Chauleur pour son soutien indéfectible. Il y a maintenant 5 ans, tu as été à l'initiative de mon parcours. Master 2 puis inscription en thèse, la filière hospitalo-universitaire n'est pas toujours simple mais, grâce à tes encouragements, je parcours les étapes. MCU-PH en septembre, sans toi, rien de tout ça n'aurait été possible. J'admire ton travail, ton envie d'avancer, d'innover, de motiver les troupes, ta droiture, ta franchise. Je te suis infiniment reconnaissante et j'espère être digne de la confiance que tu m'as accordée.

Monsieur le professeur Patrick Mismetti,

Je tiens également à remercier le Pr Patrick Mismetti qui m'a accueilli au sein de son équipe de recherche. Nos spécialités collaborent à Saint Etienne comme nulle part ailleurs grâce à cette équipe de recherche. Merci d'avoir accepté de juger mon travail.

Monsieur le professeur Jean-Christophe Gris,

Je remercie le Pr Jean-Christophe Gris pour son accueil lors de mon stage de Master 2. J'ai découvert un chef de service disponible, répondant aux mails à toute heure du jour comme de la nuit (même si avec Céline j'étais déjà un peu habituée), statisticien, pratiquant la lecture d'article et le conseil en publication comme personne. Les articles qui constituent cette thèse, vous les connaissez pour la plupart. Merci d'avoir accepté d'être le rapporteur externe de ce travail et ainsi de le juger.

Monsieur le professeur Gaucherand,

Je suis touchée de l'honneur que vous nous faites en acceptant de juger cette thèse. Vous êtes un professeur charismatique passionné et passionnant. Comme vous me l'avez dit vous suivez de près les parcours universitaires stéphanois. Soyez assuré de ma gratitude pour le temps que vous me consacrez.

Je remercie Eva Nouvellon qui m'a encadrée et hébergée lors de mes séjours à Nîmes et toute l'équipe du laboratoire d'hématologie nîmois pour ses conseils. Et oui, la découverte du travail en laboratoire : dilution, pipettes, ELISA, que de bon souvenirs...

Je remercie tous les membres du service de gynécologie-obstétrique du CHU de Saint Etienne: médecins, internes, sages-femmes, AP, ASH, secrétaires, Stéphanie Weiss, Maud et Aline du réseau. Merci de m'aider dans mes études. Merci à Aurélie Di Bartolomeo et Cécile Fanget de m'avoir permis de retravailler et soumettre leurs travaux. Merci à Tiphaine Semay pour sa motivation sur le sujet proposé et de m'avoir permis d'encadrer son mémoire. Merci à Jean-Philippe Klein pour son aide et ses conseils lors de ses 3 années de thèse.

Je remercie les membres de la DRCI toujours de bons conseils. Au début la relecture de protocole en réunion est difficile mais j'ai tellement appris avec vous sur la rédaction d'un protocole. Merci à toute l'équipe : Florence Rancon, Emilie Presles, Silvy Laporte, Céline Chapelle et Paul Zufferey. L'obtention du PHRC régional n'aurait pas été possible sans vous.

Merci Annick de me chouchouter.... Promis un jour peut être j'apprendrai à dire non (ou pas).

D'un point de vue plus personnel,

A Christophe

Merci pour ton soutien, ta patience, et ton amour sans lesquels rien n'aurait été possible. Tu es un papa formidable et pas seulement parce que tu mets la Wii. Merci pour tout ce que tu m'apportes au quotidien. Avec mon amour...

A Alban et Margaux,

Mes rayons de soleil. Je vous aime à la FOLIE !!!

A ma maman

Dans ma thèse d'exercice, je t'avais remercié pour m'avoir donné des racines et des ailes. Mes ailes grandissent et je ne m'arrête plus... C'est toujours grâce à toi tout ça. Merci d'être si présente pour mes deux loulous.

A mon frère, Tati Laetitia et Andréa,

De beaux moments en famille qui j'espère ne finiront jamais... Merci de m'avoir confié le rôle de marraine d'Andréa. Je vous adore.

A mes amis,

Vous vous reconnaitrez... Une pensée pour Lucas et Gatien dont je suis fière d'être la marraine et pour Agathe avec son deuxième prénom Tiphaine...

L'amitié c'est un bouquet de fleurs offert, c'est une maison toujours ouverte, ce sont des rires et des chansons, ce sont des pleurs à l'unisson, l'amitié quand elle vous tient elle vous transporte vers l'horizon toujours sans fin, vers des échanges de toutes sortes. (Daniel Lacouture)

Merci les amis car c'est ce que vous nous faites vivre....

SOMMAIRE

REMERCIEMENTS	3
SOMMAIRE	6
TABLE DES ILLUSTRATIONS.....	8
TABLE DES TABLEAUX	10
GLOSSAIRE DES ABREVIATIONS	11
SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE	14
Introduction	14
Description des travaux de recherche du service.....	14
Description de mes travaux :	16
1. Définition et épidémiologie des PVP	18
1.1 Versant maternel.....	18
1.2 Versant fœtal	18
2. Physiopathologie des PVP.....	20
2.1 Description des modifications placentaires et de l'endothélium maternel	20
2.1.1 1 ^{ère} étape = défaut de remodelage vasculaire utérin	20
2.1.2 2 ^{ème} étape = hypoxie placentaire entraînant une dysfonction placentaire.....	22
2.1.3 3 ^{ème} étape= maladie endothéliale maternelle	23
2.2 Une pathologie mais deux entités.....	25
3. Prédiction du risque de survenue d'une PVP	25
3.1. Paramètres cliniques.....	26
3.2. Paramètres échographiques	28
3.2.1 Mesure du Doppler utérin.....	28
3.2.2. Doppler utérin au deuxième trimestre	30
3.2.3. Doppler utérin au premier trimestre	32
3.2.4. Efficacité du dépistage par les Dopplers utérins	34
3.2.5. Intérêt du volume placentaire	35
3.2.6 Echo-angiographie utéro-placentaire.....	39
3.3. Marqueurs biologiques	41
3.3.1 Facteurs de l'hémostase.....	41
3.3.2 Facteurs angiogéniques	41
3.4 Dépistage combiné	45

4.	Prévention de la survenue des pathologies vasculaires placentaires	51
4.1.	Utilisation de l'aspirine	51
4.2.	Utilisation d'HBPM (Héparines de bas poids moléculaire)	53
5.	Traitement lorsque la PVP est constituée	54
5.1.	Aspirine en cas de Dopplers pathologiques au deuxième trimestre	55
5.2.	Prévention orientée sur une stratégie de dépistage au premier trimestre.....	56
5.3.	HBPM.....	58
5.4	Alternatives	58
PARTIE EXPERIMENTALE		61
1.	Prédiction du risque de pathologies vasculaires placentaires.....	61
1.1.	Utilisation de facteurs biologiques : étude ANGIOPRED	61
1.1.1.	Valeur prédictive de l'inhibiteur du facteur tissulaire (TFPI) sur la survenue de pathologies vasculaires placentaires chez des patientes à haut risque: étude ANGIOPRED	61
1.1.2.	Valeur prédictive des facteurs angiogéniques sur la survenue de pathologies vasculaires placentaires chez des patientes à haut risque: étude ANGIOPRED	74
1.1.3.	Valeur prédictive des facteurs angiogéniques combinés à la mesure des Dopplers utérins à 22SA sur la survenue de pathologies vasculaires placentaires chez des patientes à haut risque: étude ANGIOPRED	104
1.2.	Utilisation du volume placentaire: étude VOLUPLA	128
2.	Traitement du retard de croissance intra-utérin d'origine vasculaire : Etude GROWTH	139
DISCUSSION, CONCLUSIONS, PERSPECTIVES		163
1.	Discussion	163
1.1	Synthèse de la littérature et de nos résultats	163
1.2.	Limites de nos travaux.....	166
2.	Conclusion.....	167
3.	Perspectives	167
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES		170
RESUME.....		183

TABLE DES ILLUSTRATIONS

Figure 1 : Illustration de l'invasion trophoblastique physiologique des artères spiralées. http://www.embryology.ch/	21
Figure 2 : Comparaison de l'invasion des artères spiralées dans une grossesse normale et dans une grossesse marquée par une pré-éclampsie.	22
Figure 3 : Schéma de la physiopathologie de la pré-éclampsie. Lecarpentier et al.	24
Figure 4: Différences de physiopathologie entre les PVP précoces et tardives. Roberts et al.	25
Figure 5 : Effet des différents facteurs de risque sur le délai à l'accouchement en cas de pré-éclampsie	28
Figure 6 : Schéma illustrant la classification des notchs. Notch de grade 1 : profondeur de l'incisure télésystolique au-dessus du flux télédiastolique (courbe rouge). Notch de grade 2 : profondeur de l'incisure télésystolique au même niveau que le flux télédiastolique (courbe verte). Notch de grade 3 : profondeur de l'incisure télésystolique au-dessous du flux télédiastolique (courbe bleu clair). Notch de grade 4 : rapport A/C supérieur à 3 (courbe bleu foncé).	30
Figure 7 : Corrélation entre les index moyens de pulsatilité dans les artères utérines au premier et au deuxième trimestre en fonction du site de mesure.	34
Figure 8 : Intervention obstétricale en cas de dépistage ou non par le Doppler des artères utérines au deuxième trimestre dans une population à bas risque	35
Figure 9 : Technique de mesure du volume placentaire. Acquisition du VP en échographie 3 dimensions sur Voluson E8. Travail de l'image (ajustement permettant de visualiser le placenta entièrement, amélioration du contraste entre placenta et myomètre). Contour manuel du placenta plan par plan autour d'un axe fixe de 30°	36
Figure 10: Différentes méthodes de segmentation placentaire à l'aide du logiciel VOCAL®	39
Figure 11: Définition du volume d'intérêt par traçage manuel et résultats de la quantification de la vascularisation par le logiciel VOCAL®	40
Figure 12 : Détection de la PE précoce (ligne pleine), de la PE tardive (ligne en pointillés longs), et les HTA gravidique (ligne pointillée) pour un taux fixe de faux positifs en utilisant un algorithme pour la PE précoce (A), pour la PE tardive (B) et pour les HTA gravidiques (C), basée sur la combinaison de paramètres maternels (PAM, IP des artères utérines) et biologiques (PAPP-A et PlGF).	46

Figure 13 : Coubes ROC des différentes stratégies de dépistage des PE avant terme à gauche et à terme à droite par les facteurs maternels en noir, mini-test combiné en vert, test biophysique en bleu, test biochimique en violet, et triple test en rouge	47
Figure 14 : Coubes ROC des différentes stratégies de dépistage des PE avant 32SA à gauche, >37SA au milieu et à terme à droite par les facteurs maternels + IP des artères utérines en noir, la PAM en vert, PlGF en violet, SFLT1 en rouge, et combinaison en noir épais	48
Figure 15 : Algorithme proposé par la Fetal Medecine Foundation https://fetalmedicine.org/research/assess/preeclampsia	49
Figure 16 : Méta-analyse sur la prévention de la pré-éclampsie par les anti-agrégants plaquettaires	52
Figure 17 : Flowchart de l'étude ASPREE	56

TABLE DES TABLEAUX

Tableau 1 : Principaux facteurs de risque de PVP	26
Tableau 2 : Valeur prédictive d'un nomogramme basé sur des caractéristiques cliniques	27
Tableau 3 : Critères de qualité de la mesure des dopplers des artères utérines au premier trimestre	29
Tableau 4 : Valeur prédictive des anomalies du Doppler utérin au deuxième trimestre dans une population à bas risque	31
Tableau 5 : Performance de l'IP moyen >1,40 entre 19 et 24SA	31
Tableau 6 : Valeur prédictive des anomalies du Doppler utérin au deuxième trimestre dans une population à haut risque	32
Tableau 7 : Valeur prédictive des anomalies du Doppler utérin au premier trimestre dans une population à bas risque	33
Tableau 8 : Efficacité estimée de la mesure du Doppler des artères utérines au premier trimestre pour prédire la survenue de complications maternelles ou fœtales dans une population à bas risque	33
Tableau 9 : Principales études évaluant l'intérêt diagnostique et pronostique en population à risque pour le diagnostic de pré-éclampsie	42
Tableau 10 : Valeur prédictive du ratio sFlt1/PlGF de la PE en utilisant un seuil à 38	43
Tableau 11 : Taux de détection des PE avec accouchement avant et après 37SA pour des taux fixe de 5 ou 10% de faux positifs par une stratégie de dépistage combinant facteurs maternels et biomarqueurs	47
Tableau 12 : Taux de détection des différents types de pré-éclampsie en fonction des tests utilisés	50
Tableau 13 : Comparaison entre les performances rapportées et observées par les modèles de prédiction de la pré-éclampsie	50
Tableau 14 : Prévention primaire du risque de pré-éclampsie par l'aspirine	51
Tableau 15 : Résultats de l'étude HEPEPE	54
Tableau 16 : Prévention du risque de pré-éclampsie par l'aspirine en cas de Dopplers pathologiques au deuxième trimestre	55
Tableau 17 : Résultats de l'étude ASPREE	57

GLOSSAIRE DES ABREVIATIONS

ACOG: american college of obstetricians and gynecologists

AG : âge gestationnel

AUC : area under the curve

CIVD : coagulation intra-vasculaire disséminée

Cngof : collège national des gynécologues et obstétriciens français

EPF : estimation de poids foetal

FCS : fausse couche spontanée

FI : Flow Index

FN : faux négatifs

FP : faux positifs

HBPM : héparine de bas poids moléculaire

HCG: human chorionic gonadotropin

HELLP: hemolysis elevated liver enzymes low platelets

HRP : hématome rétro-placentaire

HTA : hypertension artérielle chronique

IMC : indice de masse corporelle

IP : indice de pulsatilité

IR: indice de résistance

ISSHP : international society for the study of hypertension in pregnancy criteria

LHR+ : likelihood ratio positive

LHR- : likelihood ratio négative

MoM : multiples de la médiane

MVTE : maladie veineuse thrombo-embolique

PAG : petit poids pour l'âge gestationnel

PAM : pression artérielle moyenne

PAPP-A : pregnancy-associated plasma protein-A

PE : pré-éclampsie

PlGF : placental growth factor

PVP : pathologie vasculaire placentaire

RCIU : retard de croissance intra-utérin

SA : semaines d'aménorrhée

Se : sensibilité

SEng: soluble endogline

sEPCR : soluble endothelial protein C receptor

sFlt-1 : soluble Fms-like tyrosine kinase 1

SMD : différence moyenne standardisée

Sp : spécificité

TFPI: tissue factor pathway inhibitor

VEGF : vascular endothelial growth factor

VFI : vascularization-flow index

VI : vascularization index

VP : volume placentaire

VPN : valeur prédictive négative

VPP : valeur prédictive positive

VOCAL® (Virtual Organ Computer Aided Analysis)

α FP : d'alpha foeto protéine

SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

Introduction

Ce travail a été effectué au sein du groupe de recherche Dysfonctions Vasculaires et de l'Hémostase appartenant à l'unité INSERM U1059 SAINBIOSE.

Les travaux qui vont vous être présentés s'inscrivent dans la continuité du travail engagé par le Professeur Céline Chauleur au sein du groupe de recherche sur la thrombose axé sur le thème global de thrombose et grossesse.

Description des travaux de recherche du service

Sur cette thématique, les travaux de recherche se sont organisés autour de trois axes principaux.

- La prévention :

La prévention de la survenue d'une maladie veineuse thrombo-embolique (MVTE) en cours de grossesse a été et est l'objet de travaux au sein du DVH.

Etude STRATHEGE : Le Professeur Chauleur a mené à bien un PHRC dont l'objectif était de proposer une thérapeutique anti-thrombotique adaptée avec l'utilisation d'un score STRATHEGE validé par une méthode Delphi pour la prévention de la MVTE lors d'une grossesse.

1^{ère} étape : Elaboration d'un score d'estimation du risque thromboembolique et/ou du risque de pathologie vasculaire placentaire chez des femmes enceintes.

2^{ème} étape : Evaluation prospective multicentrique d'une stratégie thérapeutique anti-thrombotique chez des femmes enceintes à risque thromboembolique et/ou à risque de pathologie vasculaire placentaire, stratégie déterminée à l'aide d'un score d'estimation du risque.

Etude HIGHLOW : Le Professeur Chauleur avec le Docteur Andréa Buchmuller ont obtenu un financement au PHRC 2014 pour cette étude dont l'objectif est de comparer l'efficacité et la tolérance d'une dose intermédiaire d'HBPM adaptée en fonction du poids versus une faible

dose fixe d'HBPM chez des patientes à haut risque de récurrence de MVTE. Il s'agit d'une étude internationale.

- La prédiction

Nous nous intéressons aussi à la prédiction des pathologies vasculaires placentaires (PVP).

Etude ANGIOPRED: Etude financée par un AOL en 2008. Prédiction du risque de pathologie vasculaire placentaire et de maladie thromboembolique veineuse : place des facteurs angiogéniques, de l'hémostase et de l'écho-Doppler utérin. Il s'agit d'une étude de cohorte prospective multicentrique de 200 patientes à haut risque de récurrence de pathologies vasculaires placentaires.

Etude VOLUPLA : Evaluation du volume placentaire en échographie pour la prédiction de la survenue d'une PVP.

VOLUPLA 1 : Etude monocentrique prospective de cohorte ayant incluses 40 patientes dont l'objectif était d'étudier le volume placentaire mesuré en échographie 3D et les taux plasmatiques de D-Dimères et de sEPCR (soluble endothelial protein C receptor) pour la prédiction du risque de pathologies vasculaires placentaires.

VOLUPLA 2 : Etude prospective monocentrique de cohorte, réalisée au CHU de Saint Etienne sur 1000 patientes de mai 2012 à juin 2016. Objectifs : (1) Etablir une courbe de référence du volume placentaire en fonction de l'âge gestationnel, entre 12 et 22 SA (2) Evaluer le volume placentaire mesuré à 12, 16 et 22 SA comme facteur prédictif du risque de pathologie vasculaire placentaire chez des patientes à bas risque (3) Evaluer les facteurs influençant le volume placentaire.

- Le traitement

Etude GROWTH : Héparine de bas poids moléculaire pour le traitement du retard de croissance intra-utérin d'origine vasculaire. Essai randomisé multicentrique. Objectif principal : Evaluer l'efficacité d'un traitement par énoxaparine à dose préventive administrée du diagnostic de RCIU vasculaire jusqu'à 36SA ou à l'extraction fœtale, pour réduire le nombre de nouveau-nés ayant un poids de naissance inférieur au 10ème percentile.

Description de mes travaux :

Les travaux qui vont vous être présentés sont le fruit de mon implication dans ces différentes études au cours des trois dernières années :

Etude ANGIOPRED :

- Analyse des facteurs angiogéniques : dans le cadre de mon master 2 recherche, j'ai réalisé les dosages des deux facteurs angiogéniques SflT1 et SEng au sein du laboratoire d'hématologie du CHU de Nîmes. L'analyse du dosage de ses facteurs angiogéniques a conduit à la rédaction d'un article soumis.
- Analyse du TFPI : le dosage et l'analyse du TFPI dans cette population avait fait l'objet du mémoire de master 1 du Docteur Aurélie Di Bartoloméo. En retravaillant les données, j'ai rédigé l'article qui a été accepté dans PLOS ONE Tissue factor pathway inhibitor for prediction of placenta-mediated adverse pregnancy outcomes in high-risk women: AngioPred study.
- Analyse des données échographiques : L'intégration des données des facteurs angiogéniques issues de mon travail de master 2 et des données d'échographie à 22SA a fait l'objet du mémoire de DIU de grossesses pathologiques de Tiphaine Semay. Nous avons ainsi essayé d'évaluer l'apport de ces deux examens biologique et échographique pour la prédiction du risque de survenue de PVP.
- Sur ces mêmes patientes d'autres dosages ont été réalisés notamment de facteurs de l'hémostase. Je termine l'analyse des données de la valeur prédictive des D-dimères et du temps de génération de thrombine. L'objectif est de pouvoir intégrer toutes ces données aux données cliniques dans un modèle prédictif de ces PVP.
- J'ai également obtenu une bourse de recherche de l'association AIRE pour réaliser un dosage de vitamine D sur les échantillons conservés en bibliothèque.

Etude VOLUPLA :

VOLUPLA 1 : L'étude VOLUPLA qui a fait l'objet de la thèse du Docteur Fanget. Parmi les 40 patientes évaluées à 12, 16 et 22SA, 11 patientes ont présenté une pathologie vasculaire placentaire. Les résultats préliminaires mettaient en évidence un lien entre le volume placentaire

et la survenue d'une PVP mais ces résultats étaient connus de la littérature. Nous avons alors travaillé sur des paramètres plus originaux : la sEPCR et les D-Dimères. Nous avons mis en évidence un lien entre le volume placentaire et le taux de D-dimères ce qui n'avait jusqu'alors pas été décrit. L'article a été publié dans PLOS-ONE. Relationship between plasma D-dimer concentration and three-dimensional ultrasound placental volume in women at risk for placental vascular diseases. Monocentric prospective study.

VOLUPLA 2 : Le Dr Fanget a obtenu le financement, construit et mis en place l'étude. Nous avons terminé les inclusions de 1000 patientes en 2016 et parachevé le recueil des données. J'ai participé aux inclusions, effectué l'analyse des données et la rédaction de l'article.

Etude GROWTH :

J'ai élaboré le protocole d'étude qui a été retenu au PHRC régional 2015. Je suis le médecin responsable coordinateur de l'étude. Sept centres participent à l'étude.

Dans les travaux qui vont vous être présentés, nous nous sommes intéressés à la prédiction de la survenue des PVP et à leur traitement. Ce document est divisé en deux parties distinctes une partie bibliographique qui vise à remettre le travail effectué dans son contexte scientifique et une partie expérimentale.

La partie bibliographique est elle-même divisée en cinq chapitres :

- Le premier chapitre s'intéresse à la définition et à l'épidémiologie des PVP
- Le deuxième chapitre expose la physiopathologie de ces pathologies
- Le troisième chapitre reprend les différents travaux sur la prédiction des PVP
- Le quatrième chapitre parle de la prévention de la survenue de ces pathologies
- Le cinquième chapitre traite du traitement de ces PVP.

La partie expérimentale correspond aux articles, publiés ou soumis, issus des travaux décrits.

L'ensemble du travail est enfin discuté dans une dernière partie et les études envisagées pour le poursuivre y sont évoquées.

1. Définition et épidémiologie des PVP

Les pathologies vasculaires placentaires (PVP) correspondent à un groupe hétérogène de désordres multi-systémiques.

1.1 Versant maternel

Ces pathologies peuvent être d'ordre maternel (pré-éclampsie (PE), éclampsie, hématome rétro placentaire (HRP), hemolysis elevated liver enzymes low platelets (HELLP) syndrome). La prééclampsie est définie d'après la ISSHP (International Society for the Study of Hypertension in Pregnancy criteria) comme la survenue d'une hypertension artérielle après 20 semaines d'aménorrhée (SA) avec une systolique $\geq 140\text{mmHg}$ et/ou une diastolique $\geq 90\text{mmHg}$ retrouvée sur 2 mesures, associée à une protéinurie $\geq 0,3\text{g}/24\text{ h}$ ou $\geq 1+$ à la bandelette urinaire à 2 reprises sans infection urinaire associée (1). Elles sont fréquentes puisque la pré-éclampsie complique entre 2 et 3% des grossesses (2). Elles sont aussi graves puisqu'elles sont responsables en grande partie de la morbi-mortalité materno-fœtale et contribuent de façon majeure aux naissances prématurées (2,3). La PE s'accompagne d'un accouchement prématuré dans 15 à 67 % des cas, de retard de croissance intra-utérin (RCIU) dans 10 à 25 % des cas et d'une mortalité néonatale de 1 à 2 % (4). La symptomatologie de la pré-éclampsie associant céphalées, douleurs épigastriques, troubles visuels, œdèmes, prise de poids... est souvent brutale, de même que son évolution vers des formes plus sévères : insuffisance rénale, œdème cérébral, hémorragies, œdème aigu du poumon, HELLP syndrome ou crise d'éclampsie.

1.2 Versant fœtal

Outre les complications maternelles, l'hypoperfusion placentaire induite peut être responsable de désordres foeto-placentaires (RCIU, mort fœtale in utero (MFIU), fausses couches spontanées à répétition (FCS)). Le collège national des gynécologues obstétriciens français (CNGOF) a émis des recommandations sur le retard de croissance intra-utérin en Décembre 2013 (5). Le petit poids pour l'âge gestationnel (PAG) est ainsi défini par un poids isolé (estimation de poids fœtal (EPF) ou poids de naissance) inférieur au 10^{ème} percentile. Le RCIU correspond le plus souvent à un PAG associé à des arguments en faveur d'un défaut de croissance pathologique : arrêt ou infléchissement de manière longitudinale (au moins 2 mesures à 3 semaines d'intervalle) ou une altération du bien-être fœtal : diminution des

mouvements fœtaux, anomalies des dopplers, oligoamnios (6). Ce seuil du 10^{ème} percentile est recommandé également par l’American College of Obstetricians and Gynecologists (ACOG) (7). 10% des grossesses se compliquent par définition d’un PAG.

Quatre-vingts à 90 % des RCIU sont d’origine vasculaire (5). L’argument majeur pour une origine vasculaire repose sur les anomalies de compliance des artères utérines maternelles : élévation des index de résistance des artères utérines, diminution du flux diastolique et présence de notchs au-delà de 24 SA. L’analyse est subjective (présence de notchs) et objective (index de pulsatilité >1.45) (8). L’examen doppler des artères utérines au deuxième trimestre apparaît être l’examen le plus précoce et le plus sensible pour le dépistage des pathologies vasculaires placentaires (9). L’index de résistance ombilical fœtal est également un bon reflet de la fonction placentaire (10). La diminution du flux diastolique apparaît lorsque plus de 30% de la vascularisation chorale est endommagée. La disparition complète du flux diastolique correspond généralement à des dommages supérieurs à 60% (11,12). Les autres arguments sont : le caractère asymétrique du RCIU, les anomalies de structure et de volume placentaire, et l’oligoamnios (13). Le RCIU dit vasculaire est le plus souvent dysharmonieux (rapport périmètre céphalique/périmètre abdominal inférieur au 10^{ème} percentile), le paramètre biométrique le plus touché est le périmètre abdominal, le pôle céphalique étant conservé par le phénomène d’épargne céphalique.

Le retard de croissance intra-utérin (RCIU) représente la troisième cause de mortalité périnatale en France et est associée à une morbidité importante (14). Le RCIU augmente le risque de complication gestationnelle, la morbidité néonatale et la mortalité néonatale (15). Pour des poids de naissance inférieur au 10^{ème} percentile pour l’âge gestationnel, le risque de décès néonatal est doublé par rapport au poids normaux et se situe à 1.5% (16). Les études épidémiologiques ont démontré que les fœtus présentant un RCIU étaient prédisposés au développement de troubles cognitifs mineurs, de difficultés scolaires dans l’enfance et de syndrome métabolique à l’âge adulte (obésité, diabète de type 2, pathologies et accidents cardio-vasculaires) (17,18). L’étude multicentrique prospective observationnelle PORTO a évalué la valeur pronostique des différents paramètres échographiques sur la morbidité et la mortalité périnatale. 1116 fœtus présentant un petit poids pour l’âge gestationnel (EPF<10^{ème} percentile) ont été inclus. Les anomalies du doppler ombilical et l’estimation de poids fœtal <3^{ème} percentile étaient les plus fortement corrélés aux complications périnatales. Parmi ces fœtus dont l’estimation de poids fœtal était <10^{ème} percentile, 28% des fœtus ont été admis en

soins intensifs néonataux, 5.2% ont présenté une complication majeure et 0.7% n'ont pas survécu (19).

Les PVP sont des pathologies fréquentes et graves qui peuvent être d'ordre maternel dont la principale entité est représentée par la pré-éclampsie et d'ordre fœtal avec principalement le retard de croissance intra-utérin. Ces deux pathologies peuvent survenir indépendamment ou être associées.

2. Physiopathologie des PVP

La physiopathologie des PVP est particulièrement bien expliquée dans les cours du MOOC pré-éclampsie (<https://www.fun-mooc.fr/courses/course-v1:USPC+37009+session01/about>) dont le cours a été publié dans la Presse Médicale par l'équipe du Pr Tsatsaris (20).

2.1 Description des modifications placentaires et de l'endothélium maternel

2.1.1 1^{ère} étape = défaut de remodelage vasculaire utérin

La majorité du flux sanguin de l'utérus provient des artères utérines. Au cours de la grossesse, le flux sanguin utérin est multiplié par 10 en lien avec l'invasion trophoblastique des artères spiralées et une augmentation de 50% de la volémie maternelle.

Invasion trophoblastique normale

Les cellules du cytotrophoblaste vont envahir la caduque et le myomètre, ainsi que la lumière des artères spiralées. Cette invasion de la paroi des vaisseaux maternels par le cytotrophoblaste, conduit à la destruction des cellules musculaires lisses et au remplacement partiel des cellules endothéliales. Elle est responsable de la modification des caractéristiques d'élasticité des artères spiralées, permettant l'adaptation de la vascularisation de l'unité foeto-placentaire à la croissance rapide du fœtus (figure 1).

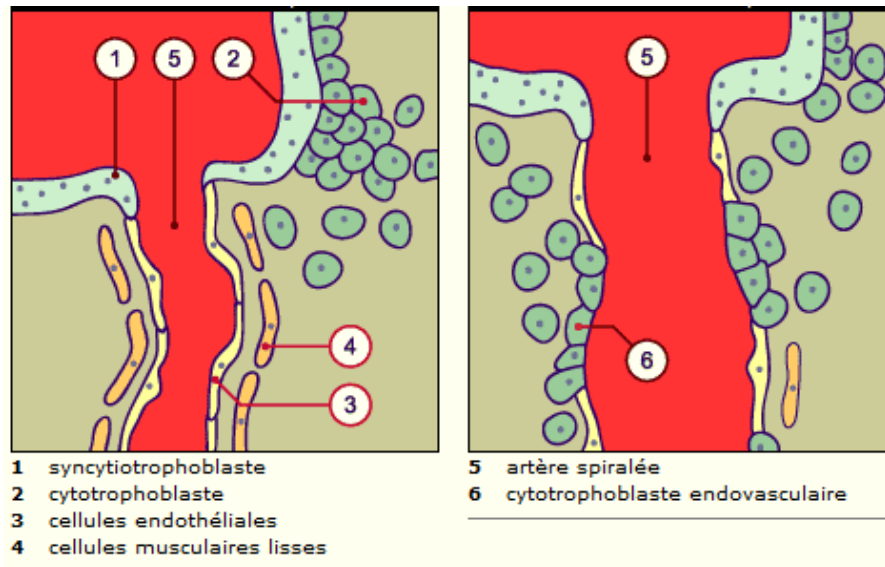


Figure 1 : Illustration de l'invasion trophoblastique physiologique des artères spiralées.
<http://www.embryology.ch/>

Deux conséquences vont découler de ses modifications : (1) La tunique de l'artère devient atone, insensible aux éléments vasoactifs permettant ainsi une perfusion facilitée de la chambre inter-villeuse. (2) Cette modification physiologique permet une augmentation du calibre des artères spiralées autorisant une augmentation progressive du débit sanguin adaptée aux besoins en cours de grossesse.

Invasion trophoblastique anormale

La lésion primitive a d'abord été décrite comme un déficit d'invasion du trophoblaste vers les artères spiralées utérines maternelles durant le second trimestre de la grossesse (21). Il en résulte un défaut de remodelage avec persistance des cellules musculaires lisses et non remplacement des cellules endothéliales par les trophoblastes (22). Cette anomalie de l'invasion trophoblastique est illustrée par le figure 2.

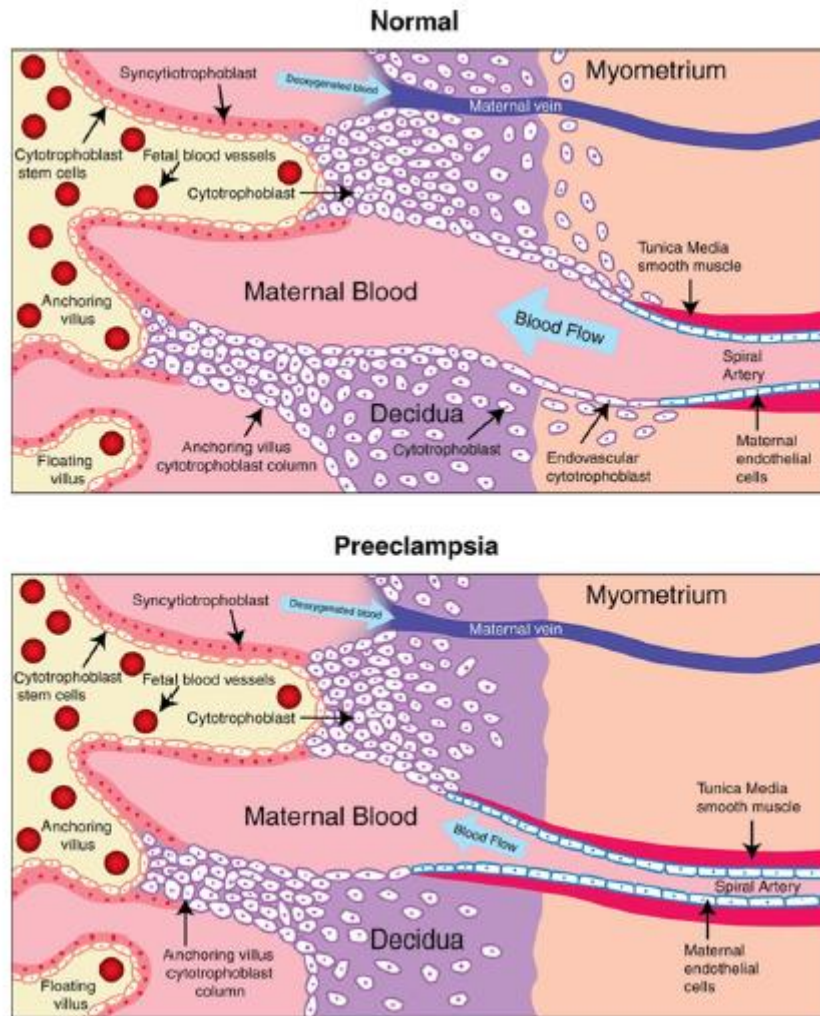


Figure 2 : Comparaison de l'invasion des artères spiralées dans une grossesse normale et dans une grossesse marquée par une pré-éclampsie (23).

La conséquence est que les artères ont un calibre plus petit avec persistance de leur pouvoir vasoconstricteur entraînant un défaut de perfusion du placenta.

Les pathologies vasculaires placentaires se caractérisent par une étape pré-clinique consistant en un défaut d'invasion trophoblastique des artères spiralées conduisant à une hypoxie placentaire.

2.1.2 2^{ème} étape = hypoxie placentaire entraînant une dysfonction placentaire

L'hypoxie placentaire va se traduire par des anomalies morphologiques visible en anatomopathologie. L'examen anatomopathologique des placentas de grossesses compliquées de RCIU a mis en évidence une association de lésions multiples. Salafia et al. ont notamment mis en évidence 5 grands types d'anomalies : (1) absence ou adaptation incomplète de la

vascularisation utéroplacentaire, (2) nécrose fibrinoïde / athérome, (3) présence de trophoblastes endovasculaires, (4) thromboses utéroplacentaires, (5) vascularite utéroplacentaire chronique (24–26).

Il existe également une augmentation de l'index mitotique, une augmentation de l'épaisseur du syncytium et des marqueurs d'hypoxie (27).

L'hypoxie placentaire entraîne une dysfonction placentaire dont les mécanismes précis sont encore discutés.

2.1.3 3^{ème} étape= maladie endothéliale maternelle

Dysfonction de l'endothélium maternel

La souffrance placentaire résulterait du largage de médiateurs dans la circulation maternelle, responsable du développement d'une réponse endothéliale vasoconstrictrice inadaptée, et du syndrome clinique et biologique développé par la mère lors de la pré-éclampsie. L'activation des plaquettes et du système de la coagulation peuvent survenir tôt lors de l'installation de cette pathologie, avant que les symptômes cliniques ne se développent (28). 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, a pu être argumenté (29,30).

Déséquilibre de la balance des facteurs angiogéniques

Un déséquilibre de la balance des facteurs angiogéniques pourrait être responsable de la dysfonction endothéliale maternelle. Ce déséquilibre serait secondaire à l'hypoxie placentaire. Le **VEGF** (Vascular Endothelial Growth Factor) est un mitogène spécifique des cellules endothéliales et joue un rôle de promotion de l'angiogenèse. La **sFlt1** (soluble Fms-like tyrosine kinase) est un récepteur capable de se lier au VEGF et au **PlGF** (placenta Growth Factor) et ainsi d'antagoniser leur action. Les études confirment qu'un excès de sFlt1 induit un état anti-angiogénique dans le sérum des femmes atteintes de pré-éclampsie, qui peut être levé par l'apport exogène de VEGF et de PlGF. (31) Une augmentation de la sFlt1 et une diminution du PlGF sont retrouvées en cas de pré-éclampsie et l'amplitude de ces anomalies biologiques serait corrélée à la sévérité des pré-éclampsies et retards de croissance intra-utérins. (32,33) Mais la valeur absolue de ses protéines varie selon les études. Ces anomalies biologiques

seraient également présentes en cas de morts fœtales in utero (34) et en cas de fausses couches spontanées (FCS ≥ 2) idiopathiques. (35) A partir de ces premiers résultats, d'autres protéines placentaires ont été étudiées comme la **soluble endoglin** (S Eng) dont la présence en excès entraînerait des dysfonctionnements endothéliaux responsables de pré-éclampsie (31,36,37) et de retard de croissance intra-utérin. (38) Ces anomalies biologiques semblent précéder l'apparition des PVP et pourraient donc permettre de prédire le risque de survenue de ces pathologies. Le rôle prédictif du dosage de sFlt1, sEng et PlGF chez les femmes à haut risque a également été décrit (39,40).

La littérature sur le sujet place les facteurs angiogéniques à différents niveaux de la prise en charge (1) prédiction du risque de survenue d'une pré-éclampsie dans une population à bas risque, (2) prédiction du risque de survenue d'une pré-éclampsie dans une population à haut risque, (3) en cas de suspicion d'une pré-éclampsie c'est-à-dire au moment de l'évènement. Peu d'études s'intéressent se sont intéressées aux facteurs angiogéniques en cas de RCIU.

Au total, les modifications conduisant aux pathologies vasculaires placentaires sont résumées dans la figure 3.

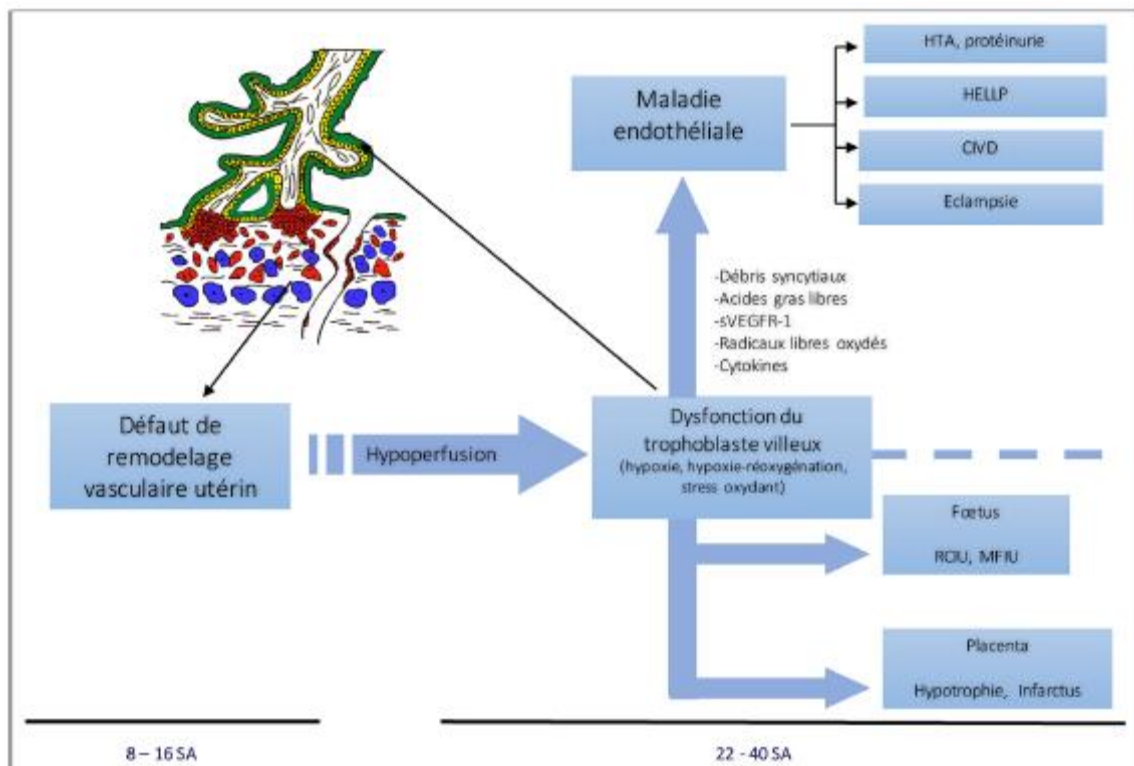


Figure 3 : Schéma de la physiopathologie de la pré-éclampsie. Lecarpentier et al. (20)

2.2 Une pathologie mais deux entités

Deux formes de pré-éclampsie peuvent être distinguées :

- la forme précoce ,ou Early Onset, survenant avant 34SA qui pourrait être secondaire à une anomalie de la placentation avec altération de la balance angiogénique. Cette forme concerne les patientes avec un âge avancé, hypertendues chronique, ou d'origine afro-caribéenne. La mortinatalité est augmentée (OR 5,8 [4,0-8,3]) ainsi que la morbidité sévère et la mortalité périnatale (OR 16,4 [14,5-18,6]) (41).
- la forme tardive, ou Late Onset, survenant après 34SA avec une placentation normale mais sur un terrain à risque cardio-vasculaire (42). Cette forme concerne plus souvent les patientes jeunes, nullipares, ou avec un diabète. Elle ne s'accompagne pas d'augmentation de la mortinatalité mais d'une morbi-mortalité modérément accrue (OR 2,0 [1,8-2,3]) (41).

Ces différences sont illustrées par la figure 4 (43).

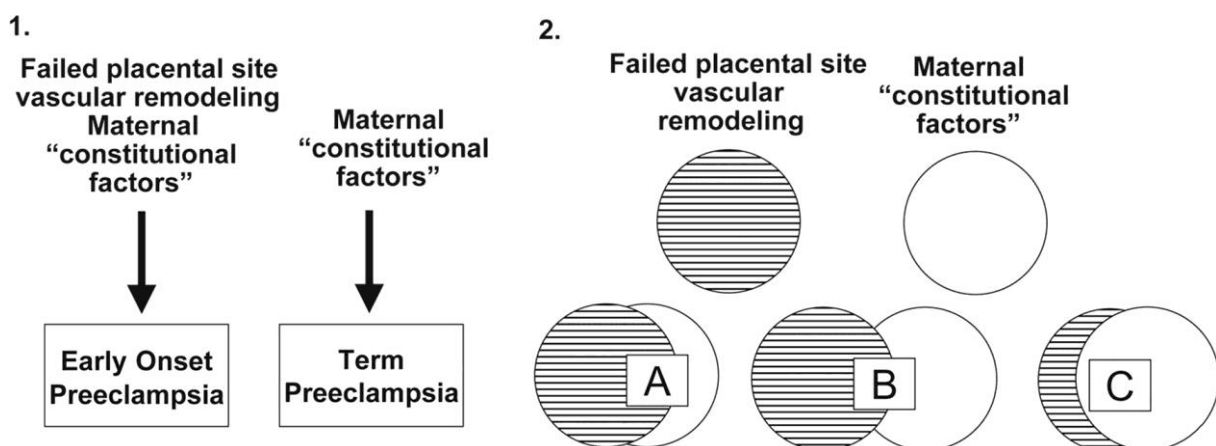


Figure 4: Différences de physiopathologie entre les PVP précoces et tardives. Roberts et al. (43)

3. Prédiction du risque de survenue d'une PVP

En utilisant les critères de recherche « preeclampsia AND prediction » dans pubmed, nous obtenons 1154 réponses dont 31 méta-analyses. Cette abondance reflète à la fois l'intérêt pour le sujet mais aussi la difficulté à obtenir un modèle satisfaisant, ainsi que l'hétérogénéité des tests et des populations étudiées.

3.1. Paramètres cliniques

Les facteurs de risque cliniques de PVP sont connus et ont été utilisés dans des scores ou nomogrammes pour tenter de prédire la survenue ultérieure de la pré-éclampsie. Les principaux paramètres cliniques ressortant dans la littérature comme des facteurs de risque sont : les antécédents, le poids et l'indice de masse corporelle (IMC), la pression artérielle.

Une cohorte récente sur plus de 110 000 patientes de l'équipe de Nicolaides et al. a confirmé ses différents facteurs de risque (tableau 1) (44).

Tableau 1 : Principaux facteurs de risque de PVP (44)

Variable	Preeclampsia (n = 2704)	Unaffected (n = 117,788)	P value
Maternal age, y ^a	31.4 (26.6–36.0)	31.3 (26.7–35.1)	.001 ^b
Maternal weight, kg ^a	72.0 (62.2–85.8)	65.8 (58.9–75.8)	< .0001 ^b
Maternal height, cm ^a	163 (159–167)	164 (160–168)	< .0001 ^b
Body mass index, kg/m ^{2a}	27.0 (23.5–31.9)	24.2 (21.8–27.9)	< .0001 ^b
Gestational age, wk ^a	12.7 (12.3–13.1)	12.7 (12.3–13.1)	.120
Racial origin, n (%)			
White	1557 (57.6)	87,295 (74.1)	< .0001 ^b
Afro-Caribbean	894 (33.1)	18,460 (15.7)	< .0001 ^b
South Asian	151 (5.6)	6144 (5.2)	.420
East Asian	47 (1.7)	3112 (2.6)	.004 ^b
Mixed	55 (2.0)	2777 (2.4)	.301
Medical history, n (%)			
Chronic hypertension	285 (10.5)	1153 (1.0)	< .0001 ^b
Diabetes mellitus	60 (2.2)	895 (0.8)	< .0001 ^b
Systemic lupus erythematosus/ antiphospholipid syndrome	16 (0.6)	207 (0.2)	< .0001 ^b
Cigarette smokers, n (%)	199 (7.4)	11,543 (9.8)	< .0001 ^b
Family history of preeclampsia, (n, %)	197 (7.3)	4353 (3.7)	< .0001 ^b
Parity			
Nulliparous, n (%)	1686 (62.4)	58,261 (49.5)	< .0001 ^b
Parous with previous preeclampsia and small for gestational age, n (%)	352 (13.0)	3360 (2.9)	< .0001 ^b
Pregnancy interval, y ^a	3.9 (2.3–6.9)	2.9 (1.9–4.8)	< .0001 ^b
Gestation of last birth, wk ^a	39.0 (37.0–40.0)	40.0 (39.0–40.0)	< .0001 ^b
Conception, n (%)			
Spontaneous	2555 (94.5)	113,552 (96.4)	< .0001 ^b
Ovulation induction	42 (1.6)	1587 (1.3)	.405
In vitro fertilization	107 (4.0)	2649 (2.2)	< .0001 ^b

Comparisons between outcome groups were by χ^2 or Fisher exact test for categorical variables and Mann-Whitney U test for continuous variables.

^a Data are given as median (interquartile range); ^b Significance value: $P < .05$.

Wright. Computing risks model in screening for preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol* 2015.

La pression artérielle moyenne mesurée dans des conditions standardisées entre 11 et 13 SA présente pour un taux de faux-positifs de 10%, un taux de détection des PE précoces de 74%, des PE tardives de 63% et des PE globales de 49%. En ajoutant une deuxième mesure entre 20 et 24SA, les taux de détection passent respectivement à 84, 66 et 53% (45).

En utilisant une association de facteurs maternels (caractéristiques maternelles et histoire médicale), le taux de détection est de 40% des PE totales, 48% des PE avec naissance avant 37SA et 54% en cas de naissance avant 34SA avec un taux de 11% de faux positifs. Cette valeur prédictive positive est mauvaise et ces facteurs utilisés seuls ne sont pas utilisables en pratique clinique (tableau 2) (44).

Tableau 2 : Valeur prédictive d'un nomogramme basé sur des caractéristiques cliniques (44)

Pregnancy group	Total, n	Preeclampsia, n	Risk cutoff for preeclampsia at <37 weeks' gestation, %					
			1 in 50	Detection rate	1 in 75	Detection rate	1 in 100	Detection rate
Preeclampsia at <34 weeks' gestation								
All pregnancies	120,492	370	6.1	4.0	12.1	55	17.9	65
Nulliparous	59,947	214	6.6	2.9	15.7	48	24.5	62
Parous	60,545	156	5.6	5.6	8.7	65	11.5	68
Afro-Caribbean racial origin								
All pregnancies	19,354	149	22.5	6.0	43.6	81	56.6	87
Nulliparous	77,21	61	33.6	5.6	73.4	90	92.8	97
Parous	11,633	88	15.4	6.4	24.1	75	33.0	80
White racial origin								
All pregnancies	88,852	187	2.9	2.7	5.9	39	9.9	51
Nulliparous	45,991	129	2.7	1.8	6.9	31	13.3	50
Parous	42,861	58	3.2	4.8	4.9	55	6.3	55
Preeclampsia at <37 weeks' gestation								
All pregnancies	120,492	786	6.1	3.6	12.1	50	17.9	60
Nulliparous	59,947	465	6.6	2.5	15.7	42	24.5	57
Parous	60,545	321	5.6	5.1	8.7	60	11.5	64
Afro-Caribbean racial origin								
All pregnancies	19,354	291	22.5	5.7	43.6	77	56.6	84
Nulliparous	77,21	129	33.6	5.3	73.4	84	92.8	95
Parous	11,633	162	15.4	6.0	24.1	70	33.0	75
White racial origin								
All pregnancies	88,852	418	2.9	2.3	5.9	33	9.9	44
Nulliparous	45,991	289	2.7	1.5	6.9	26	13.3	41
Parous	42,861	129	3.2	4.0	4.9	48	6.3	50
Preeclampsia any gestation								
All pregnancies	120,492	2704	6.1	3.0	12.1	42	17.9	52
Nulliparous	59,947	1686	6.6	2.2	15.7	37	24.5	49
Parous	60,545	1018	5.6%	4.4	8.7	52	11.5	57
Afro-Caribbean racial origin								
All pregnancies	19,354	894	22.5	5.6	43.6	76	56.6	84
Nulliparous	77,21	437	33.6	5.4	73.4	87	92.8	97
Parous	11,633	457	15.4	5.7	24.1	66	33.0	72
White racial origin								
All pregnancies	88,852	1557	2.9	1.7	5.9	25	9.9	35
Nulliparous	45,991	1086	2.7	1.1	6.9	19	13.3	31
Parous	42,861	471	3.2	3.1	4.9	38	6.3	44

Weight: Co-spring risk model in assessing for preeclampsia. Am J Obstet Gynecol 2015.

Weight: Comparing this model to screening for preeclampsia. Am J Obstet Gynecol 2015.

Les auteurs ont mis en évidence que ses paramètres cliniques influencent également le délai à l'accouchement en cas de pré-éclampsie (figure 5) (44).

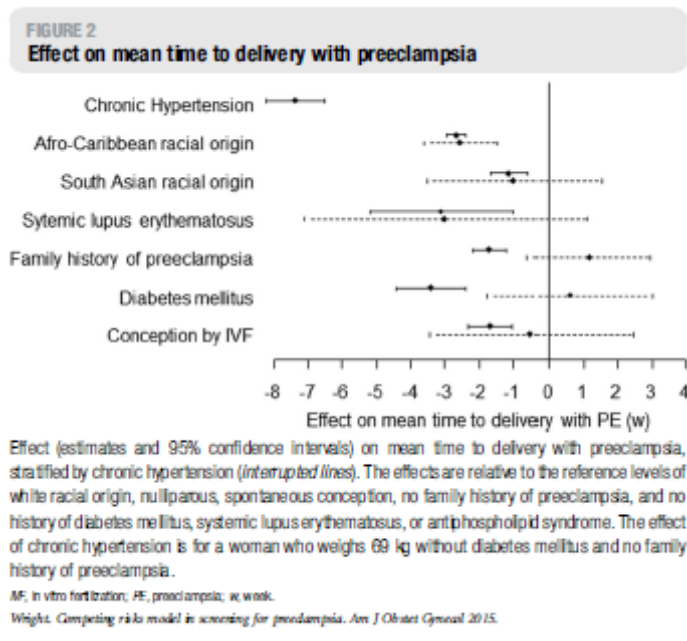


Figure 5 : Effet des différents facteurs de risque sur le délai à l'accouchement en cas de pré-éclampsie (44)

3.2. Paramètres échographiques

3.2.1 Mesure du Doppler utérin

La mesure du Doppler des artères utérines se fait par voie abdominale la plupart du temps, la voie vaginale peut être utile en cas d'obésité maternelle. L'artère utérine naît de l'artère iliaque interne et remonte latéralement le long du corps utérin. A l'aide du Doppler couleur en mode pulsé sur le bord latéral de l'utérus, l'artère est repérée à 2 - 3 cm en dedans des épines iliaques. La mesure du spectre se fait au-dessus de la crosse de l'artère utérine, sur sa partie verticale au premier trimestre. Au deuxième et troisième trimestre la mesure se fait sur la portion ascendante, au croisement de l'artère utérine et de l'artère iliaque externe. Un flux parallèle au faisceau d'ultrasons à moins de 45° est recherché (18). Au premier trimestre, la mesure doit être réalisée en latérocervicale de façon bilatérale. Par un mouvement de translation latérale, l'artère utérine est repérée le long du col utérin à la hauteur de son orifice interne. La fenêtre du Doppler est positionnée dans l'axe du vaisseau à la partie verticale de l'artère utérine juste au-

dessus de sa crosse. Les critères de qualité de la mesure du Doppler utérin au premier trimestre sont résumés dans le tableau 4 (46).

Tableau 3 : Critères de qualité de la mesure des Dopplers des artères utérines au premier trimestre (46)

<i>Critères majeurs</i>
Coupe para-sagittale : visualisation de la vessie, du col utérin et mesure à la hauteur de l'orifice interne du col ^a
Angle d'insonation $\leq 30^\circ$
Vitesse du flux ≥ 60 cm/s
<i>Critères mineurs</i>
3 à 5 complexes visualisés à l'écran
Réglage satisfaisant du gain et de la PRF
Précision de la mesure : position correcte des calipers de vitesse systolique et diastolique. Dessin correct de l'enveloppe spectrale (« autotrace » ou manuelle)
Notch utérin : interprétation correcte de sa présence ou de son absence, le <i>notch</i> « pertinent » correspondant à un grade ≥ 2 (flux télésystolique $\leq$ au flux télédiastolique)
PRF : <i>Pulse Repetition Frequency</i> .
^a La coupe étant para-sagittale l'orifice interne du col n'est jamais visualisable sur le cliché.

La courbe de Doppler utérin est unique et évolue au cours de la grossesse. En début de grossesse, le flux sanguin est faible et les résistances vasculaires élevées donnant au signal Doppler une diastole faible et une incisure proto-diastolique. Avec l'invasion trophoblastique et la modification des artères spiralées, la perfusion placentaire augmente et la circulation utéro-placentaire devient à haut débit avec de faible résistance. Il existe alors une disparition du notch et une augmentation du flux diastolique. Lorsque l'invasion trophoblastique est pathologique, les résistances vasculaires sont augmentées et la perfusion placentaire est donc diminuée (47). La classification des notchs utérins est illustrée sur la figure 6.

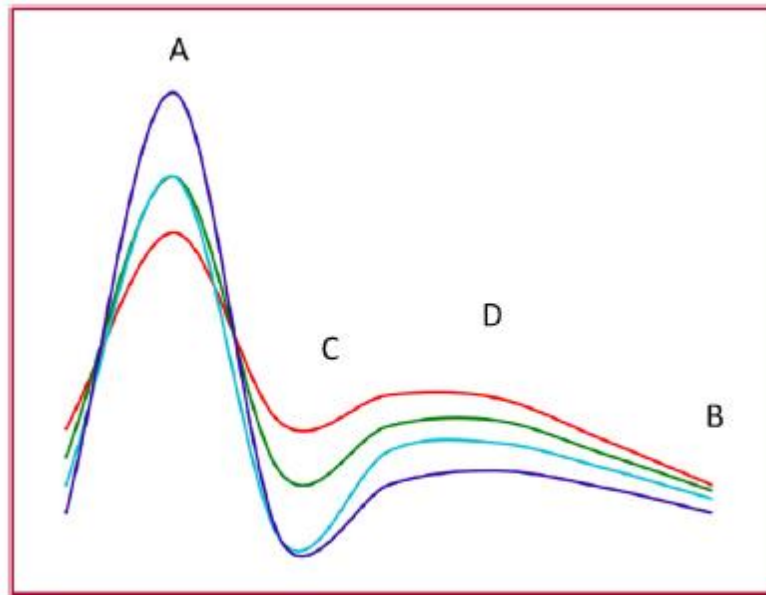


Figure 6 : Schéma illustrant la classification des notchs. Notch de grade 1 : profondeur de l'incisure téléstolique au-dessus du flux télédiastolique (courbe rouge). Notch de grade 2 : profondeur de l'incisure téléstolique au même niveau que le flux télédiastolique (courbe verte). Notch de grade 3 : profondeur de l'incisure téléstolique au-dessous du flux télédiastolique (courbe bleu clair). Notch de grade 4 : rapport A/C supérieur à 3 (courbe bleu foncé). (46)

3.2.2. Doppler utérin au deuxième trimestre

De multiples études ont évalué l'intérêt de l'analyse du Doppler des artères utérines pour le dépistage de la pré-éclampsie.

Population à bas risque

Dans la méta-analyse de Cnossen et al., le Doppler des artères utérines lors de l'échographie du 2^{ème} trimestre, réalisé dans une population à bas risque présente une sensibilité d'environ 40 % pour 10% de faux-positif pour la pré-éclampsie. La performance pour le retard de croissance intra-utérin n'est pas meilleure avec des sensibilités proche de 30% (tableau 4) (9). La valeur prédictive positive pour la PE dans une population à bas risque varie entre 20 et 25% (48).

De ce fait, si un tel dépistage était préconisé dans une population à faible risque, moins d'un quart des patientes ayant une anomalie des Dopplers utérins développerait effectivement une pré-éclampsie ou une autre pathologie vasculaire placentaire. La majorité des patientes ainsi dépistées serait donc soumise à une surveillance spécifique potentiellement anxiogène et ne développerait cependant aucune pathologie. Par ailleurs, la VPN élevée en cas de normalité des Dopplers utérins n'a guère d'intérêt clinique vu la faible prévalence de la pré-éclampsie dans cette population (de l'ordre de 3 à 5 %).

Tableau 4 : Valeur prédictive des anomalies du Doppler utérin au deuxième trimestre dans une population à bas risque (9)

Doppler Index*	No. of studies	No. of women	Sensitivity (95% CI), %	Specificity (95% CI), %	Positive likelihood ratio (95% CI)	Negative likelihood ratio (95% CI)
Second trimester						
<i>Overall pre-eclampsia</i>						
Resistance Index (> 0.58 or 90th centile)	11	3 778	74 (62-86)	79 (71-87)	3.5 (2.2-4.8)	0.33 (0.18-0.48)
Resistance Index (> 0.70 or 95th centile)	1	346	41 (18-67)	88 (84-91)	3.4 (1.7-5.7)	0.67 (0.42-0.90)
Pulsatility Index	7	38 230	42 (25-58)	91 (86-96)	4.5 (1.7-7.3)	0.64 (0.47-0.82)
Bilateral notching	17	36 969	43 (26-60)	93 (90-97)	6.5 (4.3-8.7)	0.61 (0.44-0.79)
Unilateral notching	6	8 016	39 (23-55)	92 (88-95)	4.6 (1.3-7.9)	0.67 (0.48-0.86)
Any notching	8	4 205	74 (60-87)	84 (76-92)	4.6 (2.0-7.3)	0.31 (0.15-0.48)
Resistance Index or notching	7	8 151	79 (62-95)	83 (73-92)	4.5 (2.6-6.5)	0.26 (0.08-0.44)
Resistance Index and notching	5	1 654	72 (48-96)	87 (79-96)	5.6 (3.1-8.1)	0.32 (0.07-0.58)
Pulsatility Index or notching	2	18 563	47 (44-51)	92 (88-96)	5.7 (2.9-8.4)	0.57 (0.53-0.62)
Pulsatility Index and notching	1	1 757	23 (14-35)	99 (98-99)	7.5 (5.4-10.2)	0.59 (0.47-0.71)
S/D ratio	2	672	76 (68-84)	71 (62-80)	2.6 (1.8-3.5)	0.34 (0.22-0.46)
A/C ratio	3	1 284	74 (62-86)	82 (71-92)	4.0 (2.4-5.7)	0.32 (0.20-0.43)
Notch Index	2	819	12 (9-15)	86 (81-90)	0.8 (0.5-1.2)	1.00 (0.96-1.10)
S/D or notching	2	1 083	28 (18-37)	88 (84-92)	2.4 (1.2-3.5)	0.82 (0.70-0.94)
<i>Severe pre-eclampsia</i>						
Pulsatility Index	1	15 392	78 (66-87)	95 (94-95)	15.6 (13.3-17.3)	0.23 (0.15-0.35)
Bilateral notching	1	4 149	65 (38-86)	95 (94-96)	13.4 (8.5-17.4)	0.37 (0.18-0.62)
Any notching	1	4 149	76 (50-93)	85 (84-86)	5.0 (3.4-5.9)	0.28 (0.11-0.56)
Resistance Index or notching	1	2 058	79 (60-92)	85 (83-86)	5.3 (4.0-6.0)	0.24 (0.12-0.45)
S/D ratio	1	122	100 (55-100)	74 (65-82)	3.5 (1.9-3.9)	0.11 (0.01-0.65)

Une étude récente de Garcia et al. (UTOPIA study) a mis en évidence qu'un index de pulsatilité moyen (moyenne des deux vaisseaux) supérieur au 90^{ème} percentile (>1,40) permettait la détection de 59% des PE précoces et de 60% des RCIU précoces avec un taux de faux positifs de 11,1% (tableau 5) (49).

Tableau 5 : Performance de l'IP moyen >1,40 entre 19 et 24SA (49)

Outcome	Sensitivity (95% CI) (%)	Specificity (95% CI) (%)	LR+ (95% CI)	LR- (95% CI)
PE < 34 weeks	58.6 (38.9–76.5)	88.7 (87.8–89.5)	5.18 (3.7–7.1)	0.47 (0.3–0.7)
PE ≥ 34 weeks	38.4 (30.4–46.7)	89.1 (88.3–89.9)	2.33 (1.7–3.2)	0.84 (0.7–0.9)
Gestational hypertension	31.0 (19.5–44.5)	88.6 (87.8–89.4)	2.73 (1.8–4.0)	0.78 (0.6–0.9)
IUGR < 34 weeks	59.6 (44.2–73.6)	88.8 (88.0–89.6)	5.34 (4.2–6.8)	0.45 (0.03–0.6)
IUGR ≥ 34 weeks	24.0 (19.4–28.9)	89.2 (88.3–90.0)	2.22 (1.8–2.7)	0.85 (0.8–0.9)
PE and IUGR < 34 weeks	36.2 (28.0–45.7)	89.0 (88.2–89.8)	5.68 (3.9–8.1)	0.40 (0.2–0.8)
PE and IUGR ≥ 34 weeks	28.3 (24.3–32.6)	89.9 (89.1–90.7)	2.91 (1.6–5.3)	0.75 (0.6–1.0)
Small-for-gestational age	17.7 (14.0–22.0)	94.1 (93.4–94.7)	1.57 (1.2–2.0)	0.93 (0.9–1.0)

IUGR, intrauterine growth restriction; LR+, positive likelihood ratio; LR-, negative likelihood ratio; PE, pre-eclampsia.

Population à haut risque

Dans une population à haut risque, la présence d'un notch unilatéral (LR +20,2) ou d'un index de résistance supérieur à 0,58 sont les plus performants. La sensibilité passe à 83% (tableau 6)

(9). La valeur prédictive positive varie entre 30 et 50 % selon l'anomalie du Doppler utérin. Seulement 5% des patientes avec un index de résistance inférieur à 0,58 de façon bilatérale développeront une pré-éclampsie (48).

Cette population est la seule concernée par cette analyse actuellement. Les index de pulsatilité des artères utérines supérieure au 95^{ème} percentile sont retrouvés chez 73% des patientes ayant présenté une PE avant 34SA, 36% des PE entre 34 et 37SA et seulement 15% des PE $\geq$ à 38SA. La performance du Doppler des artères utérines est à moduler en fonction des formes de pré-éclampsie (tableau 6) (50).

Tableau 6 : Valeur prédictive des anomalies du Doppler utérin au deuxième trimestre dans une population à haut risque (9)

Doppler index*	No. of studies	No. of women	Sensitivity (95% CI), %	Specificity (95% CI), %	Positive likelihood ratio (95% CI)	Negative likelihood ratio (95% CI)
Second trimester						
<i>Overall pre-eclampsia</i>						
Resistance index (> 0.58 or 90th centile)	15	2137	83 (68-98)	72 (61-83)	3.0 (1.8-1.1)	0.24 (0.04-0.44)
Resistance index (> 0.70 or 95th centile)	6	939	51 (22-80)	87 (80-95)	4.0 (1.5-6.4)	0.57 (0.25-0.88)
Pulsatility index	4	547	39 (20-59)	78 (56-100)	1.8 (0.2-3.4)	0.78 (0.52-1.04)
Bilateral notching	8	1081	37 (14-60)	89 (83-95)	3.4 (1.1-5.7)	0.71 (0.46-0.95)
Unilateral notching	1	103	83 (36-100)	96 (90-99)	20.2 (7.5-29.5)	0.17 (0.03-0.56)
Any notching	8	916	63 (41-86)	76 (67-84)	2.6 (1.8-3.4)	0.48 (0.22-0.75)
Resistance index or notching	1	16	86 (42-100)	78 (40-97)	3.9 (1.3-7.3)	0.18 (0.03-0.74)
Resistance index and notching	7	1228	57 (21-93)	86 (79-93)	4.1 (1.5-6.7)	0.50 (0.10-0.90)
Pulsatility index or notching	1	88	54 (37-70)	76 (61-87)	2.2 (1.3-3.8)	0.61 (0.44-0.87)
Pulsatility index and notching	1	351	19 (5-42)	99 (97-100)	21.0 (5.5-80.5)	0.82 (0.72-0.93)
A/C ratio	1	51	50 (7-93)	79 (64-89)	2.4 (0.6-4.6)	0.64 (0.19-1.1)
Notch index	1	94	14 (0-58)	80 (71-88)	0.7 (0.1-2.9)	1.07 (0.61-1.21)
D/S or notching	1	48	100 (55-100)	51 (35-67)	1.9 (1.0-2.1)	0.16 (0.02-0.99)
<i>Severe pre-eclampsia</i>						
Resistance index (> 0.58 or 90th centile)	1	28	80 (28-99)	78 (56-93)	3.7 (1.4-5.3)	0.26 (0.05-0.84)

3.2.3. Doppler utérin au premier trimestre

Dans la méta-analyse de Cnossen et al., le Doppler des artères utérines lors de l'échographie du 1^{er} trimestre, réalisé dans une population à bas risque présente une sensibilité d'environ 25 % pour 5% de faux-positif pour la pré-éclampsie et de 40% pour 10% de faux-positif pour la pré-éclampsie sévère (tableau 7) (9).

Tableau 7 : Valeur prédictive des anomalies du Doppler utérin au premier trimestre dans une population à bas risque (9)

Doppler index*	No. of studies	No. of women	Sensitivity (95% CI), %	Specificity (95% CI), %	Positive likelihood ratio (95% CI)	Negative likelihood ratio (95% CI)
First trimester						
<i>Overall pre-eclampsia</i>						
Pulsatility index	3	4 966	25 (20-31)	95 (95-96)	5.4 (4.1-6.7)	0.78 (0.72-0.84)
Bilateral notching	1	626	90 (73-98)	70 (66-74)	3.0 (2.4-3.3)	0.14 (0.05-0.36)
Any notching	2	869	93 (87-98)	46 (43-48)	1.7 (1.6-1.8)	0.16 (0.04-0.28)
<i>Severe pre-eclampsia</i>						
Pulsatility index	1	433	40 (12-74)	90 (87-93)	4.0 (1.6-7.3)	0.67 (0.35-0.93)

Note: CI = confidence interval, S/D ratio = ratio of peak systolic to late diastolic velocity (also known as A/B ratio), A/C ratio = ratio of peak systolic to early diastolic velocity, S/D or notching = S/D ratio with or without unilateral or bilateral early diastolic notching.

*See Box 1 for explanations of Doppler indices. The list of Doppler indices for each category varies depending on whether predictive studies were available.

Une méta-analyse plus récente de Velauthar et al. retrouve une sensibilité de 50% pour un taux de faux positifs de 10% pour les pré-éclampsies précoces <34SA (tableau 8) (51).

Tableau 8 : Efficacité estimée de la mesure du Doppler des artères utérines au premier trimestre pour prédire la survenue de complications maternelles ou fœtales dans une population à bas risque (51)

Outcome	Doppler test	Studies (n)	Women (n)	Sensitivity (% (95% CI))	Specificity (% (95% CI))	Positive LR (95% CI)	Negative LR (95% CI)
Early-onset pre-eclampsia	FVW	7	38 611	47.8 (39.0–56.8)	92.1 (88.6–94.6)	6.1 (4.1–8.9)	0.57 (0.48–0.67)
Early-onset FGR	FVW	4	26 276	39.2 (26.3–53.8)	93.1 (90.6–95.0)	5.7 (4.3–7.6)	0.65 (0.52–0.81)
Pre-eclampsia at any gestation	FVW	8	37 971	26.4 (22.5–30.8)	93.4 (90.4–95.5)	4.0 (2.7–6.0)	0.79 (0.74–0.84)
FGR at any gestation	FVW	6	30 454	15.4 (12.4–18.9)	93.3 (90.9–95.1)	2.3 (1.9–2.8)	0.91 (0.88–0.93)
	Notching	4	4 785	58.5 (49.7–66.7)	56.1 (49.6–62.5)	1.3 (1.2–1.5)	0.74 (0.65–0.84)
Late-onset pre-eclampsia	FVW	3	33 879	21.5 (18.0–25.4)	90.3 (89.8–90.8)	2.2 (1.9–2.6)	0.87 (0.83–0.91)
Stillbirth	FVW	1	9 859	14.5 (6.9–25.8)	91.3 (90.8–91.9)	1.7 (0.9–3.1)	0.94 (0.84–1.0)
	Notching	1	76	100.0 (40.0–100.0)	63.9 (51.7–74.9)	2.5 (1.6–3.8)	0.16 (0.01–2.2)
Placental abruption	FVW	1	1 123	44.4 (13.7–78.8)	95.2 (93.8–96.4)	9.3 (4.3–20.3)	0.58 (0.33–1.1)
	Notching	1	243	100 (15.8–100.0)	43.2 (36.8–49.7)	1.5 (0.87–2.5)	0.39 (0.03–4.9)
Composite adverse pregnancy outcome	FVW	3	4 513	25.8 (15.5–39.7)	93.4 (90.8–95.3)	3.9 (2.8–5.5)	0.79 (0.68–0.92)

FGR, fetal growth restriction; FVW, flow velocity waveform; LR, likelihood ratio.

Au premier trimestre, une mesure au niveau de l'orifice interne du col dans sa branche ascendante présente la meilleure corrélation avec la mesure au 2^{ème} trimestre (Figure 7) (52).

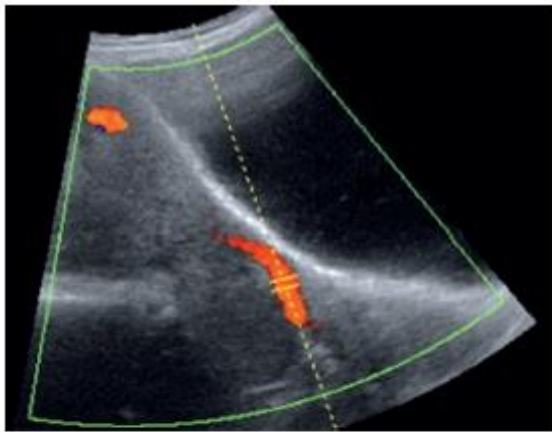


Figure 1 Sagittal view of uterine artery at level of internal cervical os from ascending branch (Site A).

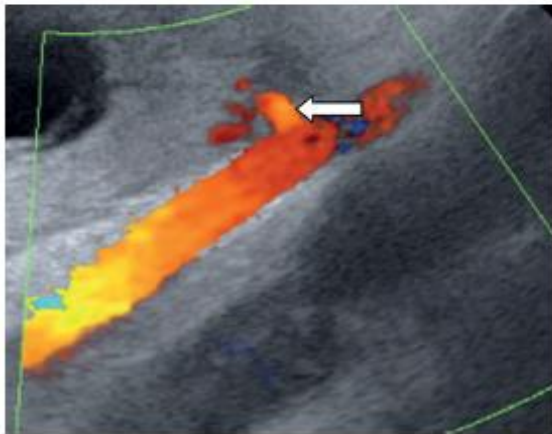


Figure 2 View of apparent crossover (arrow) of distal uterine artery with ipsilateral external iliac artery (Site B).

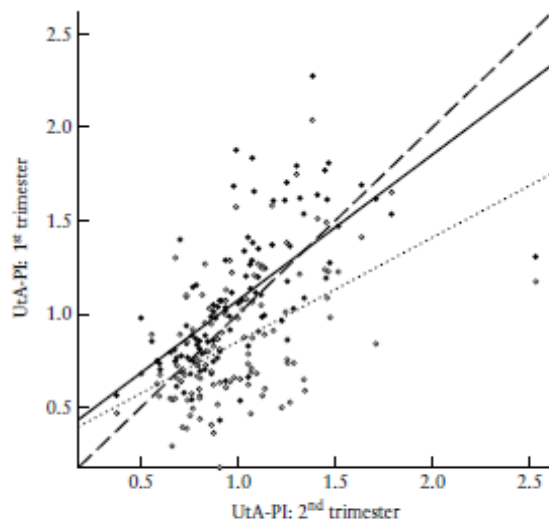


Figure 4 Correlations between first- and second-trimester mean uterine artery pulsatility index (UtA-PI) according to first-trimester examination site: Site A (●, —; R^2 linear = 0.417) and Site B (○,; R^2 linear = 0.243). The dashed diagonal line represents the optimal correlation.

Figure 7 : Corrélation entre les index moyens de pulsatilité dans les artères utérines au premier et au deuxième trimestre en fonction du site de mesure (52).

3.2.4. Efficacité du dépistage par les Dopplers utérins

L'étude UTOPIA, étude randomisée en ouvert, a évalué l'intérêt d'une stratégie de dépistage par l'utilisation de la mesure des Doppler utérins au premier trimestre associée à une surveillance intensive si $IP > 95^{\text{ème}}$ p versus pas de Doppler. Il n'existait pas de différence entre les deux groupes pour les complications périnatales et maternelles. Dans le groupe dépistage, il y a eu plus d'administration de corticoïdes et plus de déclenchement pour RCIU. Il y avait une tendance à une réduction des complications en cas de survenue d'une PE ou d'un RCIU dans le groupe dépistage (figure 8) (49).

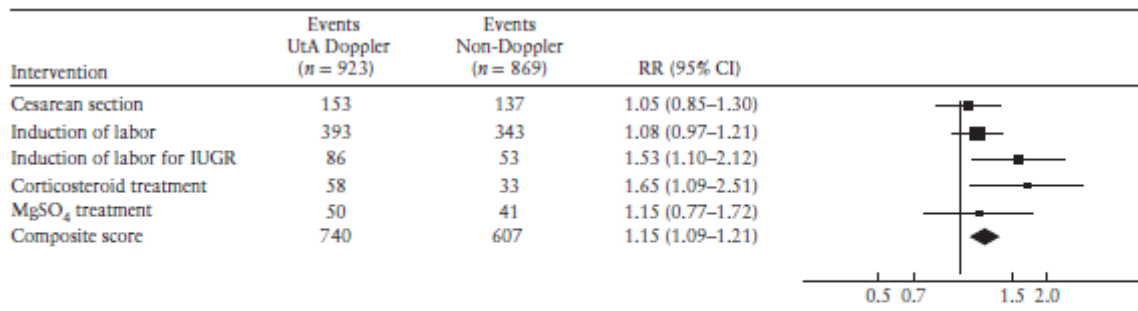


Figure 3 Forest plot showing relative risk (RR) of medical interventions in pregnant women with placenta-related complications, including pre-eclampsia, intrauterine growth restriction (IUGR), placental abruption or stillbirth, according to whether they underwent second-trimester uterine artery (UtA) Doppler assessment. MgSO₄, magnesium sulfate.

Figure 8 : Intervention obstétricale en cas de dépistage ou non par le Doppler des artères utérines au deuxième trimestre dans une population à bas risque (49).

Au total, l'étude du Doppler des artères utérines au premier ou au deuxième trimestre en population générale génère un taux de faux positifs trop important et ne modifie pas les complications périnatales et maternelles. Elle pourrait par contre permettre d'améliorer la prise en charge obstétricale en cas de PVP. La performance au premier trimestre est moins bonne qu'au deuxième. Elle doit faire l'objet d'un contrôle qualité rigoureux et organisé.

3.2.5. Intérêt du volume placentaire

Mesure du volume placentaire

Le volume placentaire (VP) est mesurable dès le premier trimestre. La faisabilité (rapidité, reproductibilité inter et intra observateurs) de la mesure du VP en 3 dimensions grâce au logiciel VOCAL est prouvée (53–55). Les lésions en lien avec l'hypoxie placentaire sont fortement corrélées à la survenue d'une mort fœtale in utero, mais elles sont difficilement visibles en échographie 2 dimensions (56,57). Des équipes ont proposé des mesures du placenta en 2 dimensions : épaisseur et longueur (58–60). Le risque relatif de survenue d'un RCIU est multiplié par deux en cas d'hypotrophie placentaire (<10cm) à l'échographie de 20-22 SA (60). Mais même si cela est réalisable jusqu'à terme, il n'est pas retrouvé de lien entre ces mesures et le poids du placenta après délivrance. De plus, les placentas fundiques sont difficilement appréhendés de cette façon (58). La mesure en 3 dimensions, qui permet de suivre les

irrégularités à la fois de forme et de localisation du placenta, semble intéressante et son intérêt est prouvé (57,61). Le calcul de VP est beaucoup plus précis. La majorité des villosités placentaires tertiaires étant en place dès le premier trimestre (62,63), cette mesure est réalisable lors de l'échographie de 12 SA. Grâce au logiciel VOCAL® (Virtual Organ Computer Aided Analysis), l'acquisition du VP s'effectue en quelques secondes, et la reconstruction volumique en moins de 5 minutes. Ce logiciel est considéré comme étant plus fiable que le mode multiplanaire, et plus rapide que le Xi VOCAL® (61,64). Les données comparatives à ce sujet concordent avec notre propre expérience. Nous utilisons une rotation de 30 degrés entre chaque plan, ce qui nous semblait être le meilleur compromis entre rapidité et reproductibilité (figure 9) (53).

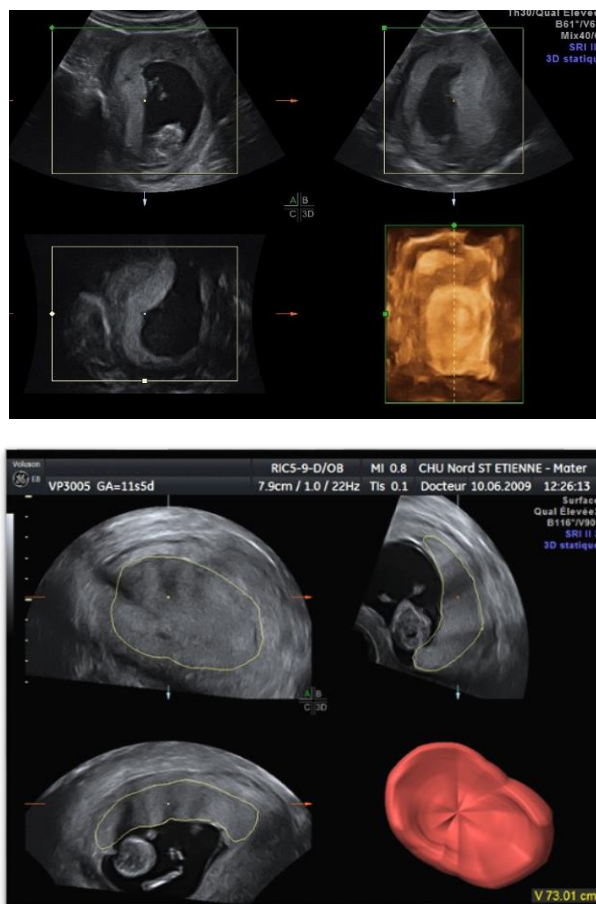


Figure 9 : Technique de mesure du volume placentaire. Acquisition du VP en échographie 3 dimensions sur Voluson E8. Travail de l'image (ajustement permettant de visualiser le placenta entièrement, amélioration du contraste entre placenta et myomètre). Contour manuel du placenta plan par plan autour d'un axe fixe de 30°

Les mesures sont le plus souvent arrêtées vers 21-22 SA, ce qui correspond aux données de la littérature (57,65). La seule difficulté rencontrée concerne donc les placentas dont les limites avec le myomètre sont confuses. Le mode harmonique améliore toutefois le contraste dans les cas difficiles (53). L'immense majorité des placentas allant jusqu'à 22 SA est donc exploitable. Mais nous ne connaissons donc pas la progression du VP de 22 à 40 SA.

Courbe de volume placentaire

Plus le terme avance, plus le VP augmente. L'équipe de Hafner a démontré cette corrélation en 2001 sur une population de 356 femmes (66). Le VP augmentait de 111.1 ml (à 15 SA) à 114 ml (à 17 SA) ($p < 0.031$). Les moyennes de VP sont très variables selon les équipes. Une seule courbe de VP facilement utilisable lors de nos échographies de routine est disponible à l'heure actuelle (67). Elle indique un VP moyen entre les 10^{ème} et 90^{ème} percentiles pour chaque semaine de grossesse jusqu'à 40 SA. Cette courbe a été réalisée à partir de 295 patientes. Chaque patiente a bénéficié d'une mesure de VP. La distribution linéaire du VP en fonction de l'âge gestationnel a permis de calculer mathématiquement (par régression linéaire) le VP attendu à chaque âge gestationnel. La variabilité de la mesure du VP inter et intra-observateur, dans de bonnes conditions d'échogénicité, et jusqu'à 22 SA, est faible. Cette reproductibilité est retrouvée dans de nombreuses séries réalisées jusqu'à 18 SA (54,55,68) avec une corrélation inter observateur allant jusqu'à 0.88 et intra observateur jusqu'à 0.95.

Prédiction du risque de PVP par le volume placentaire

La dysfonction placentaire peut s'accompagner d'un volume placentaire (VP) plus faible dès le premier trimestre et d'un poids de naissance diminué (69). Plusieurs études ont montré une corrélation entre le VP et le poids de naissance (70–72). Ainsi Hafner et al. retrouvent sur une large cohorte de patientes une sensibilité de 51.2% et une spécificité de 63.3% du VP seul, mesuré au 2^{ème} trimestre, pour la prédiction du RCIU (65). Il existe une forte augmentation du risque de RCIU, mort fœtale in utero (MFIU) et accouchement avant 32 SA en cas de VP faible au premier trimestre (associé à une PAPP-A diminuée) (73).

L'équipe de Hafner et al. en 1998 puis en 2003 l'équipe de Thame et al. ont mis en évidence que le VP à 14 et 17 SA a une influence significative sur le poids de l'enfant à la naissance ($p < 0.00005$) (65,70). En cas de PE sévère (associée à un RCIU), le placenta est plus petit à 12, 16, et 22 SA (62,74). Dans une population ayant des antécédents de pathologies vasculo-placentaires, le risque relatif de petit placenta est multiplié par 7 (58). Cependant, la sensibilité

de cette mesure au premier et au deuxième trimestre pour détecter un RCIU sévère est d'environ 50% et sa spécificité de 80 à 90%, avec une VPP de 0.28 et une VPN de 0.93 (65,71). Cela correspond sensiblement aux valeurs des Dopplers utérins au 2nd trimestre (63). Ces valeurs sont trop faibles pour en faire un test de dépistage mais la combinaison VP et Doppler utérin augmente le pouvoir de prédictivité (75). La taille du placenta au premier trimestre a en effet une influence significative sur la persistance d'un notch uni ou bilatéral à 20-22 SA, même si la sensibilité reste modérée (65%) (72). Ils sont tous les deux en lien avec l'efficacité de l'invasion trophoblastique au premier trimestre (63,72). En associant VP et Doppler utérin au premier trimestre (IP >2.35), Rizzo et al. a obtenu une sensibilité de 83.3% et une spécificité de 93.3% pour la prédiction des PE sévères avec un accouchement inférieur à 32 SA dans une population sans antécédent (76).

D'autres paramètres peuvent être utilisés pour augmenter la prédictibilité de ces tests dès le premier trimestre. En cas de diminution du volume placentaire, l'activité sécrétoire du placenta est dérégulée. Il y a un relargage d'hCG et d'alpha foeto protéine (α FP) (69) et la PAPP-A est abaissée (77,78). Rizzo et al. retrouvent ainsi un VP diminué en cas de PAPP-A basse (<0.40 MoM) sur une cohorte de 84 femmes (76). Parmi elles, 32% de RCIU et 6% d'HTA sévère avec RCIU étaient retrouvés. Dans le sous-groupe associant PAPP-A basse, VP diminué, et Doppler ombilical anormal (IP supérieur au 95^{ème} percentile), les patientes ont présenté 100% de poids de naissance inférieur au 10^{ème} percentile, 36% d'HTA, 45% de césarienne pour détresse fœtale, et un âge gestationnel moyen de naissance de 32 SA. L'équipe de Proctor et al., en 2009, retrouve dans une population avec PAPP-A inférieure à 0.3 MoM, alpha foeto protéine augmentée (> 2 MoM) et VP diminué une valeur prédictive positive de 100% pour les RCIU sévères (73).

Nous n'avons pas trouvé d'étude évaluant à la fois des facteurs de l'hémostase et le volume placentaire.

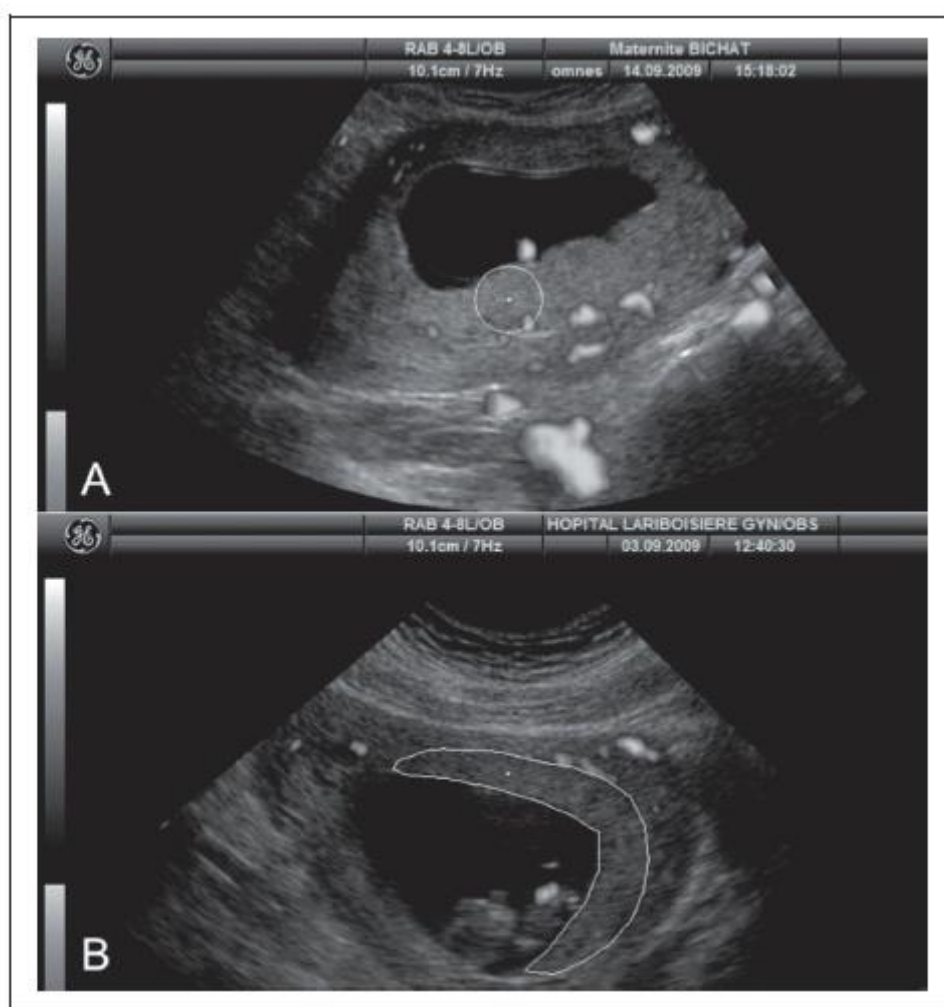
Au total, la courbe normale de volume placentaire entre 12 et 22SA reste à établir sur une large population. La mesure du volume placentaire associée aux marqueurs sériques au premier trimestre sont intéressants dans une population à risque.

3.2.6 Echo-angiographie utéro-placentaire

Cette technique a été beaucoup étudiée par l'équipe de Morel et al. à Nancy. L'angiographie Doppler 3D permet une quantification de la vascularisation utéro-placentaire.

Technique de mesure

L'analyse débute par une acquisition de la zone d'intérêt en mode Doppler énergie. Il faut ensuite définir une zone d'intérêt par traçage manuel ou biopsie virtuelle (Figure 10).



A : biopsie virtuelle par segmentation sphérique ; B : segmentation manuelle. Image placentaire au 1^{er} trimestre en mode Doppler énergie 3D.

Figure 10 : Différentes méthodes de segmentation placentaire à l'aide du logiciel VOCAL® (79)

Après le traçage, un volume est automatiquement reconstruit par le logiciel et 3 paramètres sont directement calculés : VI (*Vascularization Index*) : pourcentage de voxels colorés qui reflète la densité des vaisseaux dans un volume étudié ; FI (*Flow Index*) : l'intensité de ces voxels est cotée de 1 à 100, selon l'intensité des flux sanguins ; VFI (*Vascularization-Flow index*) : produit des deux précédents représentant la perfusion du tissu (figure 11) (79).

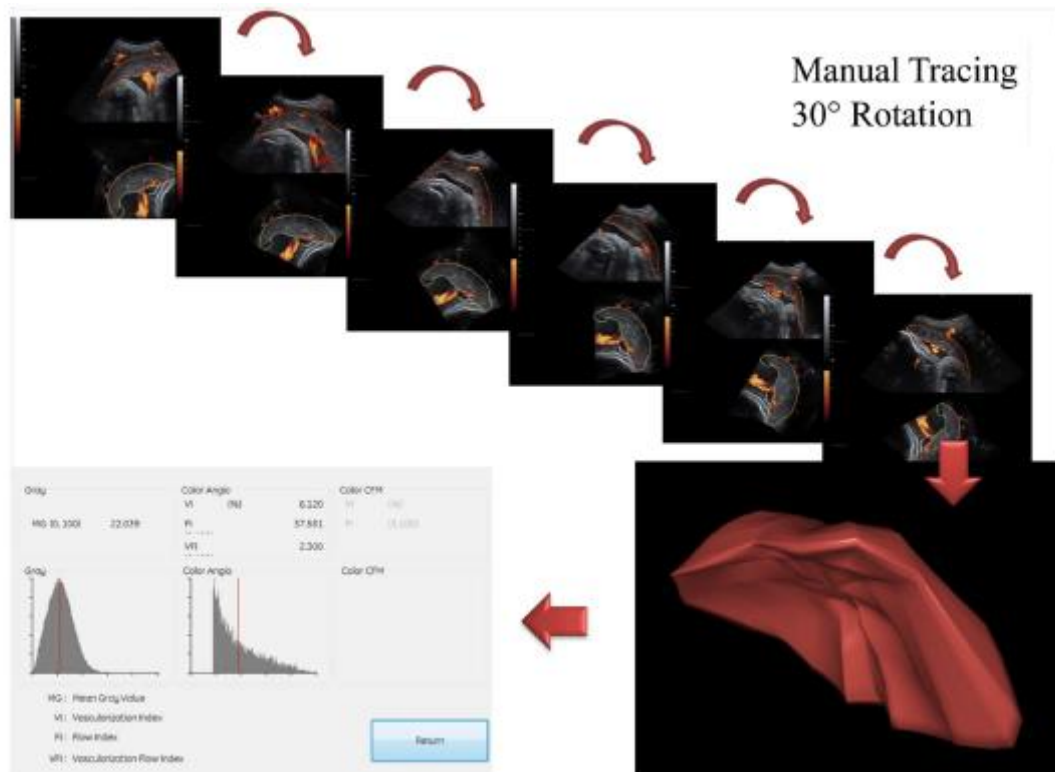


Figure 11 Définition du volume d'intérêt par traçage manuel et résultats de la quantification de la vascularisation par le logiciel VOCAL® (79)

Intérêt en pratique clinique

Chez les patientes qui vont développer une PVP, les indices VI et VFI sont abaissées dès le premier trimestre et les trois paramètres VI, VFI et FI sont diminués au 2^{ème} et au 3^{ème} trimestre (80). Cette modification a été mise en évidence en cas de PE et de RCIU. La diminution des indices apparaît avant les anomalies de l'index de pulsatilité des artères utérines (81,82). La valeur prédictive apparaît équivalente à la mesure des IP des artères utérines en 2D (82).

Compte tenu de la difficulté technique, cette technique reste à évaluer dans le cadre d'études. Une étude est en cours pour analyser la corrélation entre les indices en écho-angiographie et l'analyse morphologique du placenta au troisième trimestre (79).

3.3. Marqueurs biologiques

3.3.1 Facteurs de l'hémostase

De multiples biomarqueurs ont également été évalués pour prédire la survenue ultérieure d'une pré-éclampsie. Ces marqueurs ont initialement été identifiés au sein d'études cas-témoins, leur taux étant significativement accru en cas de prééclampsie par rapport à un groupe témoin. L'hCG, l'alpha-foetoprotéine, l'inhibine A, le thromboxane A2, le rapport PAI1/PAI2, la fibronectine, le facteur Willebrand se sont avérés peu performants au premier trimestre pour prédire la survenue d'une pré-éclampsie. Nous avons trouvé très peu d'étude sur les D-dimères, le temps de génération de thrombine ou l'inhibiteur du facteur tissulaire (TFPI) et le risque de PVP.

3.3.2 Facteurs angiogéniques

La littérature abonde sur les facteurs angiogéniques et la pré-éclampsie mais il convient de différencier : (1) les études ayant évalué ces facteurs lors du diagnostic de PE comme outil diagnostique (2) les études ayant analysé la valeur prédictive de la survenue d'une PE dans une population à bas risque avant le diagnostic, (3) les études ayant recherché la valeur prédictive de la survenue d'une PE dans une population à haut risque avant le diagnostic.

Valeur Diagnostique

Plusieurs études se sont intéressées à la valeur diagnostique et au rôle prédictif des facteurs angiogéniques lors d'une suspicion de PE (tableau 9) (83).

Tableau 9 : Principales études évaluant l'intérêt diagnostique et pronostique en population à risque pour le diagnostic de pré-éclampsie (83).

	Nb patientes	Prévalence PE (en%)	Modèle	sen (%)	spe (%)	VPP (%)	VPN (%)	LHR +	LHR –	AUC
Levine et al. [5]	240	50	PIGF sFlt-1 sFlt-1/PIGF							
Sibiude et al. [23]	96	42	PIGF < 5 ^e p (12 pg/mL) PIGF > 5 ^e p			91		4,47		0,96
Chapell et al. [25]	287	61	PIGF < 12 pg/mL	63	90	70	87	6,4	0,41	0,87
Rana et al. [26]	616	29	Ratio sFlt1/PIGF ≥ 85	73	94	86	87	12	0,29	
Verlohren et al. [3]	1153	20	Ratio sFlt1/PIGF < 33 Ratio sFlt1/PIGF > 85	95 88	94 99,5				0,05	0,94
Zeisler et al. [28]	1050	19	Ratio sFlt1/PIGF < 38 (exclusion de la PE) Ratio sFlt1/PIGF > 38 (prédiction de la PE)	80 66,2	78,3 83,1		99,3 36,7			0,86 0,86
Shaarschmidt et al. [29]	34	100	PIGF sFlt-1 sFlt-1/PIGF							
Baltajian et al. [30]	100	80	Ratio sFlt1/PIGF ≥ 85	60	84	91				

Nb : nombre ; PE : prééclampsie ; FP : faux positif ; sen : sensibilité ; spe : spécificité ; VPP : valeur prédictive positive ; VPN : valeur prédictive négative, LHR : *likelihood ratio* ; AUC : aire sous la courbe.

L'équipe de Rana et al. a tout d'abord mesuré les taux plasmatiques de sFlt1, PIGF et du ratio sFlt1/PIGF chez 616 patientes admises pour suspicion de PE avant 34SA. Le ratio sFlt1/PIGF était plus élevé en cas d'issue défavorable dans les 15 jours (84). La même équipe a ensuite étudié le taux plasmatique de SEng chez 170 patientes admises pour la même raison. Chez les 56 patientes ayant présenté une issue défavorable, les taux de SEng étaient significativement plus élevés et étaient corrélés aux variations des taux de sFlt1 et SEng (85). Les facteurs angiogéniques pourraient permettre de prédire une issue défavorable lors d'une suspicion de PE. Verlohren et al. ont comparé les dosages de sFlt1 et PIGF par méthode automatisée chez 71 patientes présentant une PE versus 595 patientes contrôle. Le ratio sFlt1/PIGF avait une AUC de 0,95 pour la prédiction de la PE (0,97 pour les PE précoces) (86). La même équipe a comparé 388 grossesses normales, 164 grossesses compliquées de PE, 36 patientes porteuses d'HTA gravidique et 42 porteuses d'HTA chronique. Le ratio sFlt1/PIGF était augmenté dans tous les groupes par rapport aux témoins. Un ratio très élevé était associé à une diminution du délai jusqu'à l'accouchement (87).

L'étude la plus récente est l'étude PROGNOSIS, essai prospectif multicentrique observationnel dont l'objectif était d'évaluer la valeur prédictive du ratio sFlt-1/PIGF sur l'absence de survenue ou la survenue d'une pré-éclampsie dans une population de patientes présentant une suspicion de pré-éclampsie. Lors d'une première cohorte de développement, les auteurs ont validé un seuil à 38 comme ayant la meilleure valeur prédictive. Dans la cohorte de validation, un ratio inférieur ou égal à 38 avait une valeur prédictive négative de 99,3 % (95 % CI 97,9—99,9), une

sensibilité de 80 % (95 % CI 51,9—95,7) et une spécificité de 78,3 % (95 % CI 74,6—81,7) pour l'exclusion du diagnostic de prééclampsie dans la semaine. Un ratio sFlt-1/PlGF supérieur à 38 avait une valeur prédictive positive de 36,7 % (95 % CI 28,4—45,7), une sensibilité de 66,2 % (95 % CI 54—77) et une spécificité de 83,1 % (95 % CI 79,4—86,3) pour la prédiction d'une pré-éclampsie dans les 4 semaines suivant le dosage (Tableau 10) (88).

Tableau 10 : Valeur prédictive du ratio sFlt1/PlGF de la PE en utilisant un seuil à 38 (88)

Table 2. Validation of a Cutoff Point of 38 for the sFlt-1:PlGF Ratio in Predicting Preeclampsia.*		
Preeclampsia	Development Cohort	Validation Cohort
	<i>percent (95% CI)</i>	
Within 1 wk		
Negative predictive value: rule out	98.9 (97.3–99.7)	99.3 (97.9–99.9)
Sensitivity	88.2 (72.5–96.7)	80.0 (51.9–95.7)
Specificity	80.0 (76.1–83.6)	78.3 (74.6–81.7)
Within 4 wk		
Positive predictive value: rule in	40.7 (31.9–49.9)	36.7 (28.4–45.7)
Sensitivity	74.6 (62.5–84.5)	66.2 (54.0–77.0)
Specificity	83.1 (79.3–86.5)	83.1 (79.4–86.3)

* Sensitivity was calculated on the basis of the number of participants in whom preeclampsia developed within 1 week or 4 weeks. Specificity was calculated on the basis of the number of participants in whom preeclampsia did not develop within 1 week or 4 weeks. Maternal serum levels of sFlt-1 and PlGF were both measured in picograms per milliliter.

Chez les patientes pré-éclamptiques ou suspectes de pré-éclampsie, le dosage sérique du PlGF et du sFlt-1 maternel apporte des éléments pronostiques potentiellement très intéressants. Mais aucune étude n'a comparé les issues maternelles et néonatales en cas de connaissance ou non du dosage de ces facteurs angiogéniques. Le diagnostic de PE est souvent évident, le traitement symptomatique et l'issue est le plus souvent un accouchement à court terme ce qui laisse peu de place pour un test diagnostic ou pronostic à ce stade.

Valeur prédictive dans une population à bas risque

Les protéines SEng et sFlt1 mesurées dans la circulation maternelle de femmes pré-éclampsiques sont élevées 6 à 8 semaines avant les symptômes (37,89). L'étude de Kusanovic et al. a analysé les taux de sFlt1, SEng et PlGF sur deux périodes 6-15SA et 20-25SA chez 1622 patientes à bas risque. Le ratio sFlt1/PlGF présentait une excellente valeur prédictive pour les PE précoces (90).

Une méta-analyse a inclus 34 études dont 12 études de cohorte et 22 études cas/témoin dont les critères d'éligibilité étaient que le prélèvement ait eu lieu avant le diagnostic clinique de pré-éclampsie et avant 30SA. Cette étude a montré que les concentrations de PlGF et VEGF étaient significativement plus basses avant pré-éclampsie : différence moyenne standardisée SMD respective de -0,56 (95% CI -0,78 à -0,35) et -1,25 (95% CI -2,73 à 0,23). Les concentrations de Sflt1 et S Eng étaient significativement plus élevées avant pré-éclampsie : SMD respective de 0,48 (95% CI 0,21-0,74) et 0,54 (95% CI 0,24-0,84). Pour PlGF et Sflt1, cette différence était d'autant plus importante que les tests étaient faits après 19 SA. Les sensibilités et spécificités étaient identiques et respectivement de 75% pour PlGF (OR 9,0), 72% pour Sflt1 (OR 6,6) et 67% pour SEng (OR 4,2).

Les auteurs concluaient que la sensibilité et la spécificité de ces marqueurs étaient trop faibles pour permettre l'identification des pré-éclampsies en pratique courante et qu'il ne fallait pas par conséquent les utiliser seuls. Les auteurs notaient aussi une grande hétérogénéité dans les études en fonction de la période de réalisation des tests, de la fraction dosée (fraction libre ou totale circulante), des populations testées (à bas ou haut risque) et dans la définition de la pré-éclampsie. (91)

Valeur prédictive dans une population à haut risque

La littérature sur ce sujet est moins abondante et émane en particulier d'une équipe, celle de Maynard, Moore Simas et al.. Une première étude a analysé le taux de sFlt1, PlGF et du ratio sFlt1/PlGF chez 94 patientes à haut risque lors de 3 périodes 22-26SA, 27-30SA et 31-35SA. 12 pré-éclampsies avait été retenues dont 5 avant 34SA et 7 au-delà de 34SA. Les auteurs retrouvaient un taux de sFlt1 augmenté et de PlGF diminué en cas de PVP. Pour les PVP précoces, ces taux étaient modifiés dès 22SA et pour les PVP tardives après 31SA. Le ratio sFlt1/PlGF était plus performant que ces marqueurs seuls pour la prédiction des PVP (92).

Les mêmes auteurs ont ensuite comparé les dosages de sFlt1, PlGF et SEng chez 157 patientes à haut risque et 50 patientes à bas risque dans les mêmes fenêtres gestationnelles. En analyse multivariée, les modèles les plus performants pour la prédiction des PE précoces étaient (1) le dosage de sFlt1 dans la deuxième fenêtre gestationnelle (28-31.6 SA) avec une AUC de 0.85, une sensibilité de 67% et une spécificité de 96% et (2) le dosage de sFlt1 dans la première fenêtre gestationnelle (23-27.6 SA) associé aux variations de SEng entre les deux premières fenêtres d'AG avec une AUC de 0.91, une sensibilité de 86% et une spécificité de 96% (93). Les mêmes résultats étaient retrouvés par Teixeira et al. sur 71 patientes à haut risque. Les dosages de sFlt1, PlGF et de leur ratio étaient performants pour la prédiction des PE (AUC respectivement de 0,90 $p < 0,0001$, 0,78 $p = 0,003$, 0,95 $p < 0,0001$).

La troisième étude émanant de la même équipe a analysé sur les patientes les variations des facteurs angiogéniques selon les facteurs de risque d'inclusion. Les facteurs angiogéniques étaient particulièrement modifiés en cas de grossesse multiple et d'antécédents de PE (94). L'étude la plus importante en terme d'effectif est l'étude de Powers et al. ayant analysé le dosage de sFlt1, PlGF, et SEng chez 993 patientes à risque. Les taux étaient significativement différents au cours du troisième trimestre entre les patientes ayant présenté ou non une PE. En les corrélant au terme de survenue de la PE, seul sFlt1 était significativement plus élevé 2 à 5 semaines avant le diagnostic clinique de PE et uniquement chez les patientes aux antécédents de PE (40). La population des patientes à haut risque apparaît être celle chez qui les marqueurs angiogéniques pourraient apporter le plus de bénéfices.

Au total, les facteurs angiogéniques présentent des performances très variables en fonction des tests utilisés. Il n'existe pas d'indication à leur utilisation en routine pour l'instant car leur sensibilité reste faible.

3.4 Dépistage combiné

Les études proviennent en majorité de l'équipe de K. Nicolaides.

La toute première étude sur le dépistage combiné est parue en 2009. Poon et al. a évalué une stratégie de dépistage combinant au premier trimestre des paramètres maternels (pression artérielle moyenne, index de pulsatilité des artères utérines) et des paramètres biologiques (pregnancy-associated plasma protein-A (PAPP-A) et placental growth factor (PlGF).

L'algorithme permettait de détecter 93,1% des PE précoces, 35,7% des PE tardives et 18,3% des HTA gravidiques pour 5% de faux positifs (figure 12) (95).

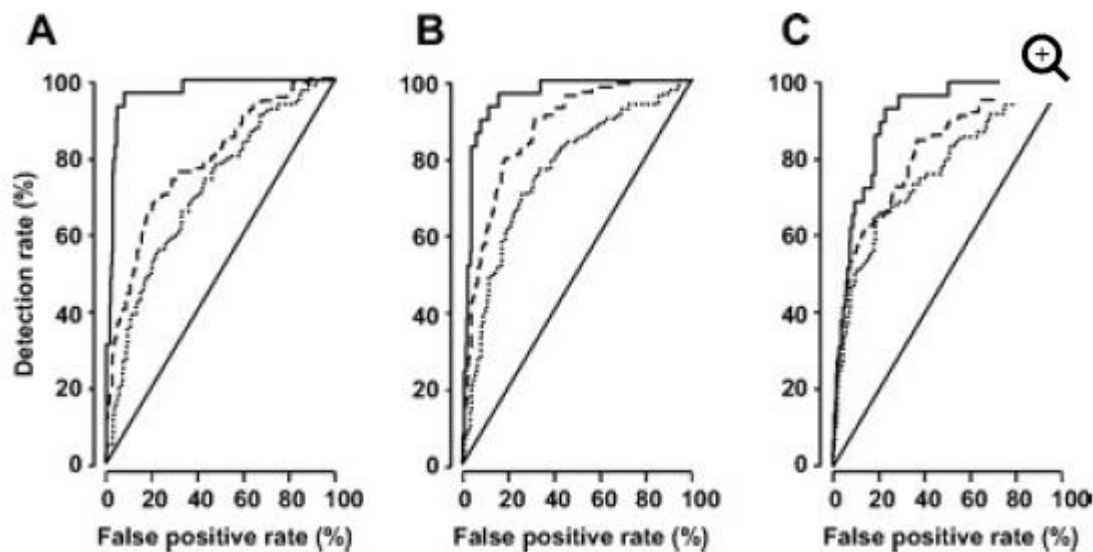


Figure 12 : Détection de la PE précoce (ligne pleine), de la PE tardive (ligne en pointillés longs), et les HTA gravidiques (ligne pointillée) pour un taux fixe de faux positifs en utilisant un algorithme pour la PE précoce (A), pour la PE tardive (B) et pour les HTA gravidique (C), basée sur la combinaison de paramètres maternels (PAM, IP des artères utérines) et biologiques (PAPP-A et PlGF).

En 2016, ont paru 3 études de l'équipe de Nicolaides et al. évaluant l'efficacité d'un dépistage combiné au premier, deuxième et troisième trimestre. Il s'agit à chaque fois de la même stratégie combinée associant caractéristiques maternelles, Dopplers des artères utérines, dosages du PlGF et de la PAPP-A.

Au premier trimestre, O'Gorman a mené une étude sur près de 36000 patientes à bas risque en combinant des paramètres maternels (caractéristiques et histoire médicale, PAM et IP des artères utérines) et le dosage de la PAPP-A et du PlGF. Les auteurs ont mis en évidence que chez les patientes ayant présenté une pré-éclampsie, les IP des artères utérines et la pression artérielle moyenne étaient plus élevées et à l'inverse la PAPP-A et le PlGF étaient diminués. Ces modifications étaient plus importantes en cas de PE avant terme. Le dépistage combiné permettait ainsi de prédire 75% des PE avant terme (95% IC, 70-80%) et 47% (95% IC, 44-51%) des PE à terme, avec un taux de faux-positif de 10%. Pour les PE avant 32SA, le dépistage atteint même un taux de prédiction de 90% pour 10% de faux positifs (tableau 11). Les AUC oscillaient entre 0,8 pour les facteurs maternels seuls et 0,9 pour le dépistage combiné (figure 13) (96).

Tableau 11 : Taux de détection des PE avec accouchement avant et après 37SA pour des taux fixe de 5 ou 10% de faux positifs par une stratégie de dépistage combinant facteurs maternels et biomarqueurs (96)

TABLE 5
Detection rate at false-positive rates of 5% and 10% of preeclampsia with delivery at <32, 32-36.9, 37-39.9, and ≥40 weeks gestation in screening by maternal factors, biomarkers, and their combination

Method of screening	False-positive rate (95% confidence interval)								
	5%					10%			
	<32 Wk	32 ⁺⁰ – 36 ⁺⁶ Wk	37 ⁺⁰ – 39 ⁺⁶ Wk	≥40 Wk		<32 Wk	32 ⁺⁰ – 36 ⁺⁶ Wk	37 ⁺⁰ – 39 ⁺⁶ Wk	≥40 Wk
Maternal factors	42 (30–55)	34 (27–40)	31 (27–35)	21 (16–26)		53 (40–65)	48 (42–55)	41 (37–45)	30 (25–36)
Maternal factors plus									
Mean arterial pressure	48 (36–61)	43 (36–50)	35 (31–39)	21 (17–27)		65 (52–76)	58 (51–64)	48 (44–52)	34 (28–40)
Uterine artery pulsatility index	55 (42–67)	43 (37–50)	33 (29–37)	21 (16–27)		65 (52–76)	58 (52–65)	43 (38–47)	31 (26–37)
Pregnancy-associated plasma protein-A	44 (32–57)	39 (33–46)	32 (28–36)	20 (15–25)		59 (46–71)	52 (45–58)	42 (38–47)	31 (25–37)
Placental growth factor	67 (54–78)	46 (39–52)	33 (29–38)	19 (15–25)		80 (69–89)	61 (54–67)	45 (41–50)	35 (29–42)
Mean arterial pressure, uterine artery pulsatility index	56 (43–68)	52 (45–58)	36 (32–41)	23 (18–29)		80 (69–89)	67 (60–73)	49 (44–53)	36 (30–42)
Mean arterial pressure, pregnancy-associated plasma protein-A	52 (39–64)	47 (40–54)	36 (32–40)	22 (17–28)		65 (52–76)	59 (53–66)	50 (45–54)	36 (30–42)
Mean arterial pressure, placental growth factor	76 (64–85)	54 (47–60)	36 (32–40)	26 (21–32)		83 (72–91)	70 (63–76)	53 (48–57)	37 (31–44)
Uterine artery pulsatility index, pregnancy-associated plasma protein-A	59 (46–71)	44 (38–51)	33 (29–37)	21 (16–27)		68 (56–79)	57 (50–64)	43 (39–48)	33 (27–39)
Uterine artery pulsatility index, placental growth factor	74 (62–84)	53 (46–59)	34 (30–39)	21 (16–26)		83 (72–91)	65 (59–72)	46 (41–50)	35 (29–41)
Placental growth factor, pregnancy-associated plasma protein-A	67 (54–78)	45 (39–52)	33 (29–37)	20 (15–26)		79 (67–88)	62 (55–68)	46 (41–50)	36 (30–42)
Mean arterial pressure, uterine artery pulsatility index, pregnancy-associated plasma protein-A	65 (52–76)	52 (45–59)	36 (31–40)	25 (19–30)		83 (72–91)	66 (60–73)	50 (45–54)	35 (29–41)
Mean arterial pressure, pregnancy-associated plasma protein-A, placental growth factor	76 (64–85)	54 (47–61)	36 (32–40)	26 (21–32)		85 (74–92)	69 (63–75)	53 (48–57)	39 (33–45)
Mean arterial pressure, uterine artery pulsatility index, placental growth factor	82 (70–90)	60 (53–67)	37 (33–42)	27 (21–32)		89 (79–96)	71 (64–77)	53 (48–57)	38 (32–44)
Uterine artery pulsatility index, pregnancy-associated plasma protein-A, placental growth factor	76 (64–85)	52 (45–58)	34 (30–38)	21 (16–26)		83 (72–91)	65 (58–71)	46 (42–51)	36 (30–42)
Mean arterial pressure, uterine artery pulsatility index, pregnancy-associated plasma protein-A, placental growth factor	82 (70–90)	59 (52–65)	37 (33–41)	26 (21–32)		89 (79–96)	71 (64–77)	54 (49–58)	38 (32–44)

O’Gorman et al. Comparing risks model in screening for preeclampsia. Am J Obstet Gynecol 2016.

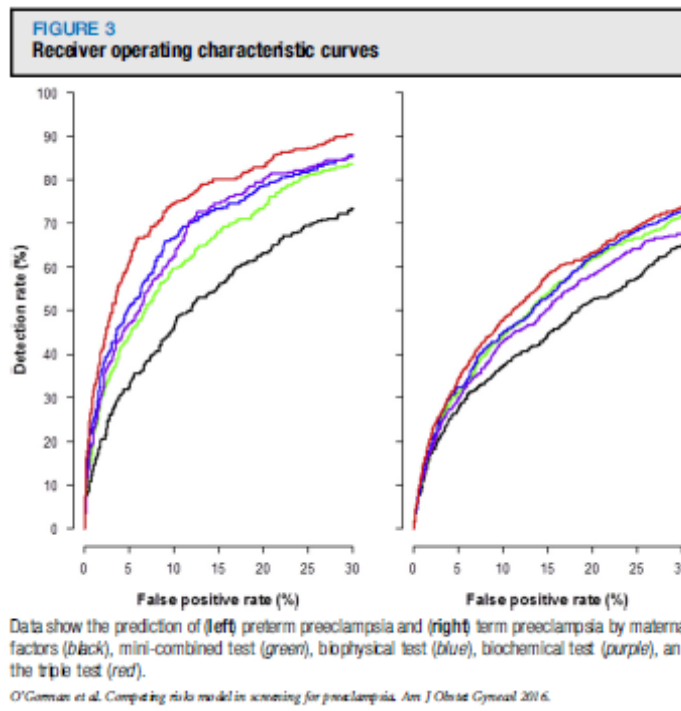


Figure 13 : Coubes ROC des différentes stratégies de dépistage des PE avant terme à gauche et à terme à droite par les facteurs maternels en noir, mini-test combiné en vert, test biophysique en bleu, test biochimique en violet, et triple test en rouge (96)

Au deuxième trimestre, le dépistage combiné incluait les caractéristiques démographiques et médicales maternelles, la mesure de la PAM et des IP des artères utérines, et le dosage du pIGF et de la sFlt1. Le dépistage combiné permettait ainsi de prédire 99% des PE <32SA, 85% des PE <37SA et 46% des PE $\geq$ 37SA, avec un taux de faux-positif de 10%. Les taux de détection étaient identiques que l'on intègre au non le dosage de sFlt1. L'AUC pour la prédiction de la PE<32SA par le dépistage combiné complet était de 0,995 (figure 14) (97).

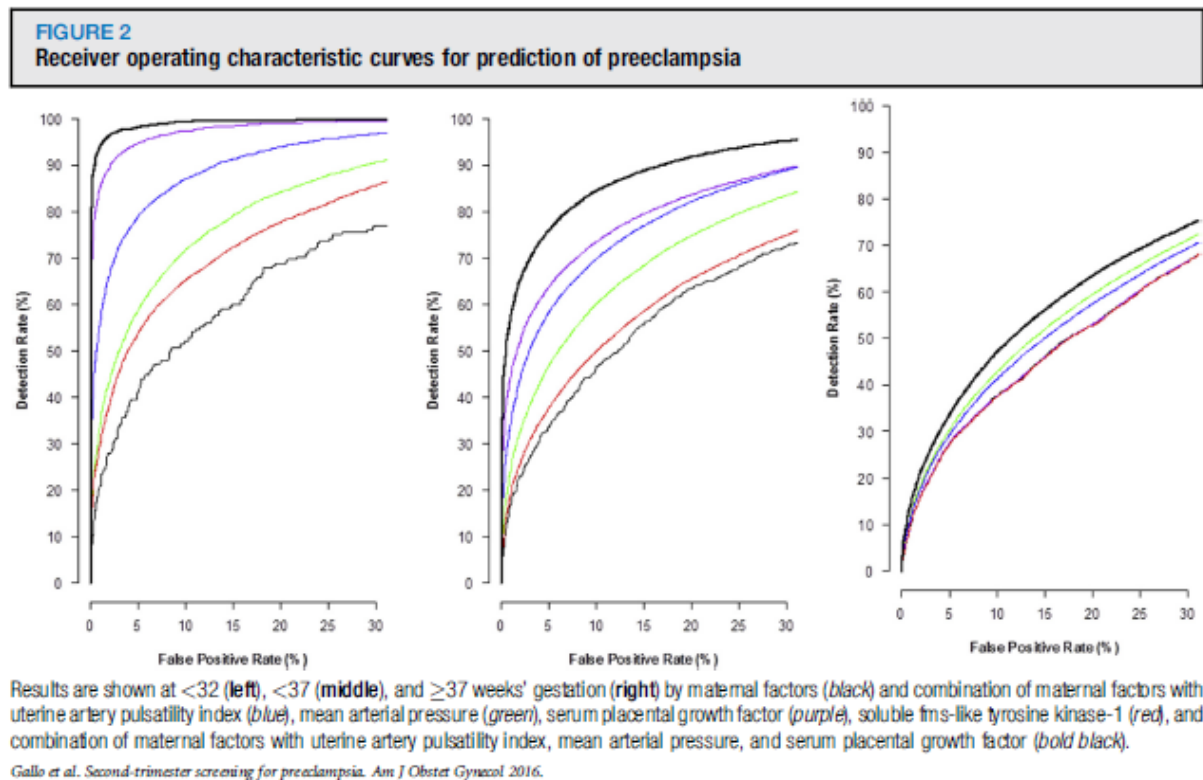


Figure 14 : Coubes ROC des différentes stratégies de dépistage des PE avant 32SA à gauche, >37SA au milieu et à terme à droite par les facteurs maternels + IP des artères utérines en noir, la PAM en vert, pIGF en violet, SFLT1 en rouge, et combinaison en noir épais (97)

La même équipe a également proposé un dépistage combiné entre 30 et 34SA. Ce dépistage permet la détection de quasi tous les cas de PE avant 37SA et 50% des PE $\geq$ 37SA pour taux de faux positifs de 5% (98).

L'utilisation combinée de ces marqueurs a été proposée par la Fetal Medicine Foundation (FMF), mettant à disposition des cliniciens des algorithmes permettant de calculer un risque individuel de prééclampsie pour leurs patientes. Les tests actuellement proposés en France

reposent sur l'algorithme de l'équipe de Kypros Nicolaides qui associe le dosage de plusieurs biomarqueurs (PLGF- PAPP-A), le Doppler utérin au premier trimestre, la pression artérielle moyenne et les antécédents maternels (figure 15).

Maternal factors

Maternal characteristics		Medical history	
Date of birth	dd-mm-yyyy	☐ Chronic hypertension	
Height	cm ft in	☐ Diabetes type I	
Weight	kg lbs	☐ Diabetes type II	
Racial origin		☐ Systemic lupus erythematosus	
Conception method		☐ Anti-phospholipid syndrome	
Smoking during pregnancy	☐ Yes ☐ No	Obstetric history	
Mother of the patient had PE	☐ Yes ☐ No	☐ Nulliparous (no previous pregnancies at ≥24 weeks)	
		☐ Parous (at least one pregnancy at ≥24 weeks)	
Pregnancy dating (select one of the methods below)			
☐ Fetal crown-rump length (45-84 mm)			
☐ Fetal head circumference (158-226 mm)			
☐ Manual (any gestation)			
Gestational age	weeks		
Date of measurement	dd-mm-yyyy		

This application allows calculation of risks for PE based on maternal factors alone and in combination with any of the biomarkers. Biophysical and biochemical markers should be obtained within the same gestational age block (11⁺⁰ to 14⁺¹, 19⁺⁰ to 24⁺⁶, 30⁺⁰ to 34⁺⁶, 35⁺⁰ to 37⁺⁶ weeks).

Biophysical measurements

Useful markers for all three trimesters are MAP and mean UTPi

Date of measurement	Weight ⁱ	MAP (mmHg) ⁱ	Mean UTPi ⁱ
dd-mm-yyyy	kg lbs		

Biochemical measurements

Useful markers in the first trimester are PLGF and PAPP-A and in the second and third trimesters are PLGF and sFLT-1

Date of measurement	Weight ⁱ	PLGF (MoM) ⁱ	PAPP-A (MoM) ⁱ	sFLT-1 (MoM) ⁱ
dd-mm-yyyy	kg lbs			

CALCULATE RISK

Figure 15 : algorithme proposé par la Fetal Medecine Foundation <https://fetalmedicine.org/research/assess/preeclampsia>

Au total, les différents taux de détections des tests sont résumés dans le tableau 12.

Tableau 12 : Taux de détection des différents types de pré-éclampsie en fonction des tests utilisés (99)

Screening test	FPR (%)	Detection rate, % (95% CI)		
		PE <34 weeks	PE <37 weeks	All PE
Maternal characteristics plus	5	42 (33–51)	36 (30–42)	30 (27–33)
	10	58 (49–67)	50 (44–56)	41 (38–44)
Ut-PI	5	57 (47–66)	46 (40–53)	33 (30–36)
	10	70 (61–78)	59 (53–65)	44 (41–47)
MAP	5	49 (40–58)	45 (39–52)	35 (31–37)
	10	65 (56–73)	60 (54–66)	48 (45–51)
PAPP-A	5	48 (38–57)	42 (36–48)	31 (28–34)
	10	60 (51–69)	55 (49–61)	44 (40–47)
PIGF	5	57 (48–66)	50 (44–56)	35 (32–38)
	10	73 (64–81)	66 (60–72)	47 (43–50)
MAP and Ut-PI	5	63 (54–72)	53 (47–59)	38 (35–41)
	10	80 (71–86)	70 (65–76)	52 (49–55)
PAPP-A and PIGF	5	57 (48–66)	49 (43–56)	33 (30–36)
	10	77 (69–84)	67 (61–73)	48 (45–51)
Ut-PI, MAP and PAPP-A	5	67 (58–75)	56 (50–62)	38 (34–40)
	10	80 (71–86)	68 (62–74)	52 (48–55)
Ut-PI, MAP and PIGF	5	80 (72–87)	66 (60–72)	42 (38–45)
	10	89 (81–94)	77 (71–82)	54 (51–57)
Ut-PI, MAP, PAPP-A and PIGF	5	76 (68–83)	63 (57–69)	40 (36–43)
	10	88 (81–93)	75 (69–80)	54 (50–56)

FPR: False-positive rate; MAP: Mean arterial pressure; PE: Preeclampsia; Ut-PI: Uterine artery pulsatility index.

Ces stratégies combinées de dépistage semblent intéressantes mais de généralisation difficile. D'après le Cngof en décembre 2016, il existe actuellement plusieurs arguments contre l'utilisation du dépistage précoce de la prééclampsie au premier trimestre de la grossesse :

- la faible valeur prédictive positive des tests ;
- la mauvaise reproductibilité des performances prédictives quand le test est appliqué sur d'autres populations que la population d'étude initiale (tableau 13) (100).

Tableau 13 : comparaison entre les performances rapportées et observées par les modèles de prédiction de la pré-éclampsie (100)

Table 3 Comparison of reported and observed performance of prediction models for early (< 34 weeks' gestation) and late (≥ 34 weeks' gestation) pre-eclampsia (PE)

Reference	Reported PE rate*	AUC (95% CI)		Sensitivity (%) at fixed 10% FPR		Probability score	
		Reported	Observed	Reported	Observed	Cut-off	Optimal cut-off
Early pre-eclampsia							
Parra-Cordero ⁷	2619/17	—	0.70 (0.58–0.83)	47	29	0.0319465	0.0119318
Scazzocchio ¹⁰	5170/26	0.96 (0.94–0.98)	0.77 (0.67–0.86)†	81	43	0.0347586	0.0090969
Poon ⁸	8366/37	0.95 (0.92–0.99)	0.78 (0.69–0.88)†	89	53	0.0045660	0.0020121
Poon ¹³	8366/37	0.96 (0.96–0.99)	0.80 (0.71–0.89)†	95	52	0.0032741	0.0008496
Odibo ¹²	452/12	0.85 (0.69–1.00)	0.86 (0.73–0.99)	68	80	0.0172392	0.0948812
Caradeux ¹⁵	627/9	0.90 (–)	0.69 (0.59–0.80)	63	30	0.0882681	0.0539006
Late pre-eclampsia							
Parra-Cordero ⁷	2619/53	—	0.61 (0.55–0.68)	29	18	0.4106497	0.0982396
Scazzocchio ¹⁰	5170/100	0.71 (0.66–0.76)	0.69 (0.64–0.75)	40	31	0.1643843	0.0488402

Only the first author is given for each reference. *Number in study/number with PE. † $P < 0.05$ for comparison of reported and observed area under the receiver–operating characteristics curves (AUC). Predictive scores were calculated to predict affected patients *vs* all other women; probability score cut-off was chosen based on the highest sensitivity and specificity. FPR, false-positive rate.

- l'absence de prévention ayant prouvé son efficacité à proposer aux femmes sans antécédents chez qui le test prédit un risque accru de pré-éclampsie.

4. Prévention de la survenue des pathologies vasculaires placentaires

De nombreuses études ont étudié le concept « d'anticoagulation placentaire » avec des antiagrégants plaquettaires et plus récemment avec des anticoagulants en prévention des pathologies vasculaires placentaires.

4.1. Utilisation de l'aspirine

La référence actuelle, d'efficacité limitée, est l'utilisation de l'aspirine à faible dose.

Prévention primaire (avant le premier évènement)

L'étude multicentrique randomisée française ERASME a comparé dans une première partie l'aspirine 100 mg utilisée pour la prévention des pré-éclampsies (PE) chez les patientes nullipares. L'aspirine était débutée versus placebo entre 14⁺⁰ et 20⁺⁶ SA chez des patientes sans facteur de risque. Les auteurs concluaient qu'il n'existait pas de différence significative dans la réduction du risque de pré-éclampsie (28 of 1632 [1.7%] vs 26 of 1637 [1.6%]; RR, 1.08, 95% CI 0.64-1.83) (101). L'aspirine d'après cette étude ne présente donc pas d'intérêt systématique chez les primipares.

Tableau 14 prévention primaire du risque de pré-éclampsie par l'aspirine (101)

Table 2. Frequency of pre-eclampsia and related complications. Percentages are in parentheses.

	Aspirin	Placebo	RR (95% CI)
Mothers	(n = 1634)	(n = 1640)	
Hypertension	151/1632 (9.3)	131/1637 (8.0)	1.16 (0.92–1.45)
Pre-eclampsia	28/1632 (1.7)	26/1637 (1.6)	1.08 (0.64–1.83)
With birth ≤32 weeks	3/1632 (0.2)	5/1637 (0.3)	0.60 (0.14–2.51)
With birth <37 weeks	8/1632 (0.5)	14/1637 (0.9)	0.57 (0.24–1.36)
Severe	9/1632 (0.6)	10/1637 (0.6)	0.90 (0.37–2.22)
HELLP syndrome	11/1625 (0.7)	5/1632 (0.3)	2.21 (0.77–6.35)
Placental abruption	13/1623 (0.8)	9/1628 (0.6)	1.45 (0.62–3.38)
Children^a	(n = 1645)	(n = 1660)	
Induced preterm delivery	47/1642 (2.9)	42/1655 (2.5)	1.13 (0.75–1.70)
Birthweight ≤ 3rd centile	47/1643 (2.9)	28/1660 (1.7)	1.70 (1.07–2.69)
Birthweight ≤ 10th centile	199/1643 (12.1)	189/1657 (11.4)	1.06 (0.88–1.28)
Perinatal death	12/1645 (0.7)	11/1660 (0.7)	1.11 (0.49–2.50)
<i>In utero</i>	9 (0.5)	8 (0.5)	
Neonatal	3 (0.2)	3 (0.2)	
Vascular cause	6 (0.4)	6 (0.4)	
Non-vascular cause	4 (0.2)	5 (0.3)	
Unknown cause	2 (0.1)	0 (0.0)	

^a Births ≥22 weeks, medically indicated termination of pregnancy excluded.

Prévention secondaire (en prévention de la récurrence)

Une première méta analyse de la *cochrane review* en 2000 a porté sur 39 études (et 30 000 patientes) ayant étudié l'efficacité et l'innocuité des antiagrégants plaquettaires chez des patientes à risque de récurrence de pré-éclampsie ou ayant une pré-éclampsie en cours. Les auteurs concluaient à une efficacité modérée mais significative de l'aspirine pour réduire le risque de récurrence de la pré-éclampsie de 15%, de naissance prématurée avant 37SA de 8%, et de mortalité périnatale de 14%. Il n'existait pas de différence significative sur la prévention des petits poids de naissance pour l'âge gestationnel (102). Ces chiffres ont ensuite été confirmés lors d'une nouvelle méta analyse en 2007. Mais les auteurs trouvaient une réduction significative des petits poids de naissance pour l'âge gestationnel de 10% (103). La méta analyse la plus récente, ayant inclus 31 études randomisées et 32 000 patientes concluaient à une réduction significative de développer une pré-éclampsie de 10 % (RR=0,90 (95% CI 0,84–0,97)) (104). Le bénéfice était surtout constaté lorsque l'aspirine était débutée précocement (au cours du premier trimestre) et à dose suffisante (100-160 mg/jour) (figure 16).

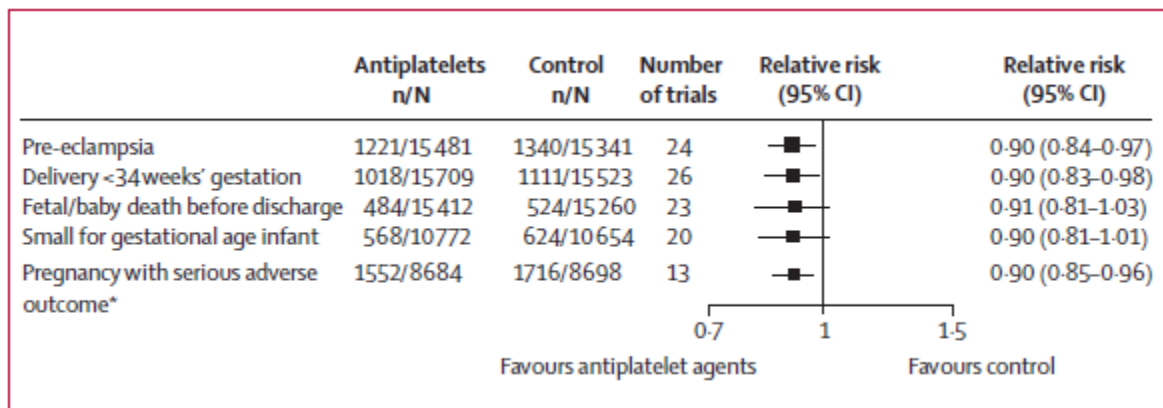


Figure 16 : Méta-analyse sur la prévention de la pré-éclampsie par les anti-agrégants plaquettaires (104)

Une patiente aux antécédents de PVP passera d'un risque de récurrence de 25% à 22% grâce à la mise sous aspirine. Les recommandations de l'ACOG de Mai 2013, concluent qu'il n'existe pas de preuves suffisantes pour recommander l'utilisation de l'aspirine en routine pour la prévention du RCIU (7). Le Cngof recommande de prescrire de l'aspirine chez les femmes ayant des antécédents de prééclampsies <34SA et/ou de RCIU <5^{ème} percentile dont l'origine vasculaire est probable.

4.2. Utilisation d'HBPM (Héparines de bas poids moléculaire)

Des travaux préliminaires, très limités, semblent suggérer que les héparines de bas poids moléculaire pourraient être efficaces. Les héparines de bas poids moléculaire (HBPM) ont surtout été étudiées en prévention secondaire des pathologies vasculaires placentaires chez des patientes à haut risque, dans le cadre particulier des fausses couches à répétition, chez les patientes présentant une thrombophilie, et chez les patientes ayant un antécédent de pathologie vasculaire placentaire. Des essais non-contrôlés, réalisés en ouvert, ont exploré, lors de la grossesse, l'effet d'une héparine de bas poids moléculaire (HBPM) utilisée à posologie prophylactique de la thrombose veineuse, dans la prévention secondaire de la fausse couche, chez des femmes porteuses d'une prédisposition biologique à la maladie thrombo-embolique veineuse (thrombophilie). La référence de jugement était alors l'incidence historique des diverses complications de la grossesse, lors des grossesses précédentes. Ces essais ont montré, lors des grossesses traitées, une incidence plus faible de la survenue et d'une PE et d'un RCIU (105–107). Les changements décrits furent surtout enregistrés chez les femmes dont la grossesse eut ensuite une issue favorable, sans PE ni RCIU. Dans une revue de la cochrane en 2010, Dodd et al. concluaient que les HBPM ne présentaient pas de bénéfice clair dans cette indication, même si leur utilisation permettaient de réduire significativement le risque de pré-éclampsie, d'éclampsie, et des enfants ayant un poids de naissance inférieur au 10^{ème} percentile pour l'âge gestationnel. 14 reports et 10 études portant sur 484 patientes seulement avait été retenues (108). La mise à jour en 2013, visant à comparer le bénéfice d'un traitement antithrombotique pour améliorer l'issue materno-foetale chez des patientes considérées à haut risque de pathologies vasculaires placentaires a inclus 18 reports et 14 études. Cette revue a mis en évidence avec l'utilisation de l'héparine une réduction significative du risque de mortalité périnatale (6 études ; 653 patientes ; RR 0.40; 95% (CI) 0.20 to 0.78), d'accouchement prématuré avant 34SA (3 études; 494 patientes; RR 0.46; 95% CI 0.29 to 0.73) et avant 37SA (5 études; 621 patientes; RR 0.72; 95% CI 0.58 to 0.90), d'enfant ayant un poids de naissance inférieur au 10^{ème} p pour l'âge gestationnel (7 études; 710 enfants; RR 0.41; 95% CI 0.27 to 0.61). Malgré cela, il existe selon les auteurs un manque de données fiables disponibles sur les complications graves périnatales et sur les résultats à long terme (109).

Les recommandations françaises sur le RCIU n'évoquent pas le rôle préventif des HBPM. Les recommandations de la SOGC de 2012 sur le dépistage, le diagnostic, et la prise en charge du

RCIU reprennent en citation la revue de Dodd et al. de 2010 et arrivent à la même conclusion (110).

L'étude HEPEPE est venue clore le débat sur l'utilité de l'adjonction d'HBPM à l'aspirine pour la prévention de la récurrence de la pré-éclampsie. Cette étude randomisée a comparé l'administration d'aspirine 100mg et placebo (n=122) versus l'association aspirine et enoxaparine à dose préventive (n=122) en prévention de la récurrence de la pré-éclampsie. Les patientes possédaient un antécédent de pré-éclampsie diagnostiquée avant 34SA et ont été incluses avant 14SA. Le critère d'évaluation principal était un score composite comprenant le décès maternel, le décès périnatal, la PE, les petits poids pour l'âge gestationnel et les HRP. Il n'existait pas de différence significative sur l'objectif principal. Une pré-éclampsie est survenue chez 18% des patientes du groupe enoxaparine et 22% du groupe placebo. Les auteurs concluaient que l'adjonction d'enoxyaparine à l'aspirine ne réduise pas plus le risque de récurrence d'une PVP par rapport à l'aspirine seule (tableau 15) (111).

Tableau 15 : résultats de l'étude HEPEPE (111)

Table 3. Results—Primary and Secondary Outcomes

	Enoxaparin– Aspirin (n= 122)	Aspirin Alone (n= 122)	RR (95% CI)	ARR (%) (95% CI)	P
Primary outcome					
Composite morbidity	42 (34.4)	50 (41.0)	0.84 (0.61–1.16)	6.5 (– 6.6 to 18.7)	.29
Secondary outcomes					
Elements of composite morbidity					
Preeclampsia	22 (18.0)	27 (22.1)	0.81 (0.49–1.35)	4.1 (– 5.9 to 14.1)	.42
SGA*	26 (21.3)	33 (27.3)	0.78 (0.50–1.22)	6 (– 4.8 to 16.7)	.28
Placental abruption	3 (2.5)	3 (2.5)	1 (0.21–4.86)	0 (– 3.9 to 3.9)	1
Perinatal death	1 (0.8)	4 (3.3)	0.25 (0.03–2.20)	2.5 (– 1.1 to 6)	.37
Maternal death	0	0			
Other secondary outcomes					
Severe preeclampsia	16 (13.1)	17 (13.9)	0.94 (0.50–1.78)	0.8 (– 0.08 to 0.09)	.85
Severe preeclampsia at less than 34 wk of gestation†	11 (9.0)	11 (9.0)	1.00 (0.45–2.22)	0 (– 7.2 to 7.2)	1
Preeclampsia					.44
Antepartum	21 (17.2)	23 (18.9)	0.89 (0.52–2.15)	2.1 (– 7.7 to 12)	
Postpartum	1 (0.8)	4 (3.3)	0.25 (0.03–2.15)	3.1 (– 1.3 to 7.4)	
Eclampsia	0	0			
HELLP syndrome	2 (1.6)	2 (1.6)	1.00 (0.14–7.00)	0 (– 3.2 to 3.2)	1
Birth weight percentile*					.35
10th or greater	96 (78.7)	88 (72.7)			
Mild SGA (5th–10th)	11 (9)	10 (8.3)	1.01 (0.45–2.27)	–0.1 (– 8.4 to 8.2)	
Severe SGA (less than 5th)	15 (12.3)	23 (19.0)	0.65 (0.36–1.18)	7.2 (– 2.7 to 17.1)	
Delivery gestational age					.15
37 wk or greater	84 (68.9)	91 (74.6)			
34–36 wk	20 (16.4)	10 (8.2)	1.94 (0.96–3.94)	–9.3 (– 18.9 to 0.2)	
22–33 wk	16 (13.1)	19 (15.6)	0.93 (0.50–1.70)	1.3 (– 8.8 to 11.3)	
Less than 22 wk	2 (1.6)	2 (1.6)	1.08 (0.16–7.51)	–0.2 (– 4.5 to 4.2)	
Fetal death (22 wk of gestation or greater)	1 (0.8)	3 (2.5)	0.33 (0.04–3.16)	1.6 (– 1.5 to 4.8)	.62
Neonatal death	0	1 (0.8)	NA	0.8 (– 0.8 to 2.4)	1
Fetal loss (15–21 wk of gestation)†	2 (1.6)	1 (0.8)	2 (0.18–21.8)	–0.8 (– 3.6 to 1.9)	1
Early loss (less than 15 wk of gestation)	0	1 (0.8)	NA	0.8 (– 0.8 to 2.4)	1

Le seul traitement efficace, une fois la maladie installée, est l'arrêt de la grossesse et la délivrance du placenta. Peu d'études ont porté sur le traitement curatif des pathologies vasculaires placentaires. La prise en charge d'un RCIU vasculaire repose principalement sur la mise en place d'une surveillance active de la croissance, des Dopplers et des enregistrements du rythme cardiaque fœtal (>26SA) mais aucun traitement à visée curatif n'est utilisé.

5.1. Aspirine en cas de Dopplers pathologiques au deuxième trimestre

La deuxième partie de l'étude ERASME a comparé l'administration d'aspirine versus placebo en cas d'anomalie de l'analyse des Dopplers utérins au deuxième trimestre chez des patientes nullipares. La fréquence des pré-éclampsie n'était pas significativement différente entre les deux groupe (28 of 1237 [2.3%] vs 9 of 616 [1.5%]; RR = 1.55, 95% CI 0.7-3.3) (112).

Tableau 16 : prévention du risque de pré-éclampsie par l'aspirine en cas de Dopplers pathologiques au deuxième trimestre (112)

	Doppler	Placebo	RR (95% CI)
Maternal outcomes^a	(n = 1244)	(n = 616)	
Aspirin (100 mg)	n = 237	n = 0	
Number of prenatal visits	4.8 [2.7]	4.6 [3.0]	
Hospitalisation during pregnancy	339/1237 (27.4)	163/615 (26.5)	1.03 (0.88–1.21)
Pre-eclampsia	28/1237 (2.3)	9/616 (1.5)	1.55 (0.7–3.3)
Pregnancy-related hypertension	101/1238 (8.2)	48/616 (7.8)	1.05 (0.8–1.5)
HELLP syndrome	4/1233 (0.3)	1/615 (0.2)	2.00 (0.2–17.8)
Placental abruption	4/1229 (0.3)	3/614 (0.5)	0.67 (0.2–3.0)
Induced delivery before 37 weeks	44/1237 (3.6)	18/612 (2.9)	1.22 (0.7–2.1)
Caesarean for fetal indications ^b	71/1243 (5.7)	35/616 (5.7)	1.01 (0.7–1.5)
Neonatal outcomes^a	(n = 1249)	(n = 627)	
Birthweight ≤3rd centile	25/1246 (2.0)	12/627 (1.9)	1.05 (0.5–2.1)
Birthweight ≤10th centile	133/1246 (10.7)	86/627 (13.7)	0.78 (0.6–1.0)
Gestational age <37 weeks	110/1249 (8.8)	49/627 (7.8)	1.13 (0.8–1.6)
Neonatal transfer	63/1242 (5.1)	32/626 (5.1)	0.99 (0.7–1.5)
Perinatal death	8/1249 (0.6)	1/627 (0.2)	4.02 (0.5–32.0)
Antenatal	7 (0.6)	1 (0.1)	
Neonatal	1 (0.1)	0 (0)	
Vascular	2 (0.2)	0 (0)	
Non-vascular	2 (0.2)	1 (0.1)	
Not determined	4 (0.3)	0 (0)	

^a Births ≥22 weeks, medically indicated termination of pregnancy excluded.

^b Caesarean for uncompensated maternal hypertension, suspected IUGR, meconium-stained amniotic fluid or placental abruption.

5.2. Prévention orientée sur une stratégie de dépistage au premier trimestre

L'équipe de Nicolaides a conduit une étude similaire à l'étude ERASME mais sur une population sélectionnée par un dépistage combinant caractéristiques maternelles (données démographiques, histoire médicale, PAM, IP des artères utérines) et mesure de la PAPP-A et du PIGF. 26 941 patientes ont bénéficié de ce dépistage combiné ce qui a permis d'identifier 2971 patientes à haut risque. 1776 patientes ont été randomisées et 878 ont reçu de l'aspirine 150 mg/jour et 898 un placebo. Le traitement a été instauré entre 11 et 24SA (figure 17) (113).

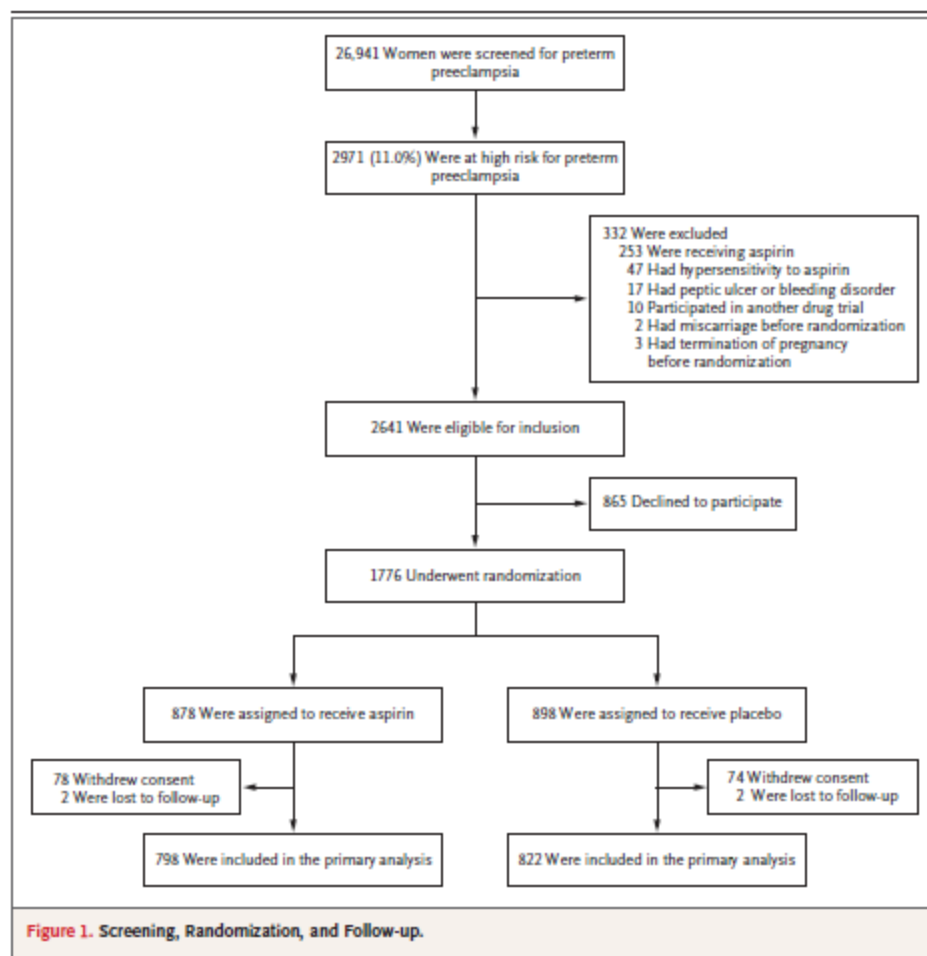


Figure 17 : Flowchart de l'étude ASPREE (113)

Treize patientes soit 1,6% des patientes du groupe aspirine ont présenté une pré-éclampsie avant 37SA et 35 dans le groupe placebo soit 4,3% des patientes. Il n'existait pas de différence sur les complications néonatales (tableau 17).

Tableau 17 : résultats de l'étude ASPREE (113)

Outcome	Aspirin Group (N = 798)	Placebo Group (N = 822)	Odds Ratio (95% or 99% CI)*
Primary outcome: preterm preeclampsia at <37 wk of gestation — no. (%)	13 (1.6)	35 (4.3)	0.38 (0.20–0.74)
Secondary outcomes according to gestational age			
Adverse outcomes at <34 wk of gestation			
Any — no. (%)	32 (4.0)	53 (6.4)	0.62 (0.34–1.14)
Preeclampsia — no. (%)	3 (0.4)	15 (1.8)	0.18 (0.03–1.03)
Gestational hypertension — no. (%)	2 (0.3)	2 (0.2)	1.02 (0.08–13.49)
Small-for-gestational-age status without preeclampsia — no./total no. (%)†	7/785 (0.9)	14/807 (1.7)	0.53 (0.16–1.77)
Miscarriage or stillbirth without preeclampsia — no. (%)	14 (1.8)	19 (2.3)	0.78 (0.31–1.95)
Abruption without preeclampsia — no. (%)	1 (0.1)	3 (0.4)	0.36 (0.02–7.14)
Spontaneous delivery without preeclampsia — no. (%)	12 (1.5)	12 (1.5)	1.07 (0.37–3.10)
Adverse outcomes at <37 wk of gestation			
Any — no. (%)	79 (9.9)	116 (14.1)	0.69 (0.46–1.03)
Gestational hypertension — no. (%)	8 (1.0)	7 (0.9)	1.19 (0.31–4.56)
Small-for-gestational-age status without preeclampsia — no./total no. (%)†	17/785 (2.2)	18/807 (2.2)	1.01 (0.42–2.46)
Miscarriage or stillbirth without preeclampsia — no. (%)	14 (1.8)	19 (2.3)	0.78 (0.31–1.95)
Abruption without preeclampsia — no. (%)	2 (0.3)	4 (0.5)	0.52 (0.06–4.91)
Spontaneous delivery without preeclampsia — no. (%)	40 (5.0)	49 (6.0)	0.83 (0.47–1.47)
Adverse outcomes at ≥37 wk of gestation			
Any — no. (%)	178 (22.3)	171 (20.8)	1.12 (0.82–1.54)
Preeclampsia — no. (%)	53 (6.6)	59 (7.2)	0.95 (0.57–1.57)
Gestational hypertension — no. (%)	72 (9.0)	62 (7.5)	1.24 (0.78–1.98)
Small-for-gestational-age status without preeclampsia — no./total no. (%)†	54/785 (6.9)	56/807 (6.9)	1.00 (0.60–1.66)
Stillbirth without preeclampsia — no. (%)	2 (0.3)	2 (0.2)	1.01 (0.08–13.40)
Abruption without preeclampsia — no. (%)	2 (0.3)	2 (0.2)	1.05 (0.08–13.92)

* The confidence interval was 95% for the primary outcome and 99% for the secondary outcomes.
† The status of being small for gestational age was defined as a birth weight below the 5th percentile. The birth weight for neonates delivered before 24 weeks of gestation was not recorded.

Malheureusement, les patientes avec un SAPL (2 patientes dans chaque groupe) et aux antécédents de pré-éclampsie ont été incluses (environ 80 dans chaque groupe). Au total, pour éviter 22 pré-éclampsie, il est nécessaire de dépister 26 000 patientes et de traiter 800 patientes par aspirine. Sachant qu'une partie des patientes sur leurs antécédents auraient bénéficié d'une prescription d'aspirine il s'agit donc probablement moins de 22 pré-éclampsies évitées. Les résultats néonataux sont décevants.

5.3. HBPM

Un essai italien ouvert et contrôlé a analysé l'effet d'un traitement court, durant la grossesse, par HBPM (énoxaparine, 4000 UI/jour, 15 jours), sur l'index de résistance hémodynamique des artères utérines évalué par échographie doppler, chez des femmes ayant une hypertension de la grossesse et chez des témoins, entre la 24^{ème} et 26^{ème} SA. Le traitement par HBPM s'est accompagné d'une baisse de l'index de résistance des artères utérines chez les femmes atteintes d'hypertension gravidique traitées par HBPM, mais pas chez les hypertendues non-traitées, ni chez les témoins. Un traitement court par HBPM, à posologie préventive, est donc capable d'influer favorablement sur l'hémodynamique utéro-placentaire de femmes ayant une altération de celle-ci (114). Deux études randomisées de Yu et al. menées en république populaire de Chine ont étudié l'administration d'HBPM et d'héparine non fractionnée versus placebo (n=107) et d'HBPM versus administration de dextrose de bas poids moléculaire en cas de RCIU (n=73). Seule l'étude sur 73 patientes est accessible en anglais. La durée de traitement était limitée à 14 jours. Les patientes étaient suivies échographiquement et biologiquement. Les auteurs concluaient à une amélioration significative de la cinétique de croissance et de l'issue néonatale dans le groupe sous HBPM. L'âge gestationnel moyen à la naissance dans le groupe héparine était de 37,1 SA versus 36,2SA ($p=0.0003$) dans le groupe placebo et le poids de naissance de 2877g versus 2492g ($p=0.0000$). Un examen anatomopathologique des placentas a mis en évidence un indice d'apoptose placentaire moindre chez les patientes traitées par HBPM (115,116). Aucune autre étude bien conduite n'a évalué l'effet d'une HBPM en traitement d'un RCIU vasculaire constitué.

5.4 Alternatives

Lefkou et al. a évalué l'efficacité de la pravastatine en cas de SAPL réfractaire à l'association HBPM + aspirine. 21 patientes présentant une PVP sous HBPM + aspirine ont été incluses. 11 patientes ont reçu en plus de la pravastatine 20 mg/jour et 10 patientes HBPM + aspirine seulement. Dans le groupe contrôle, les accouchements ont tous eu lieu avant terme et seulement 6 nouveau-nés ont survécu. Sous statines, il a été constaté une amélioration des flux placentaires et une évolution de la pré-éclampsie plus lente. Ces effets étaient observés après 10 jours de traitement. Les patientes ont toutes accouchées proche du terme (117).

La pré-éclampsie possède une prévalence de 1,5% à 18% en fonction des ethnies. L'aspirine est le seul traitement recommandé en prévention secondaire chez des patientes aux antécédents de pré-éclampsie avec un effet modeste de 10-15% de réduction relative de risque (104). La vitamine D possède des fonctions extra-osseuses en agissant au niveau des cellules du muscle, colon, prostate, sein, système immunitaire, pancréas... et du placenta. A 18SA, 88% des patientes présentent une concentration sérique en 25OHD <30 ng/ml. La prévalence de la pré-éclampsie et du déficit en vitamine D est plus élevée chez les patientes à peau noire. Il existe une variation saisonnière de la PE et du déficit en vitamine D. L'origine de la PE est multifactorielle. Des études anciennes suggèrent une association entre taux bas de vitamine D et PE (118) ou entre altération du métabolisme du calcium et de la vitamine D et PE (119). Bodnar et al. dans une étude cas/témoin en 2007, rétrospective sur 1198 patientes primipares, ont réalisé un dosage de 25OHD avant 22SA. La prévalence de la PE était de 5%. Les concentrations sériques de 25OHD étaient 25% plus basses dans la population de PE. Une concentration < à 15 ng/ml avant 22SA multiplie le risque de PE par 5 (120). Quatre méta-analyses s'accordent sur le fait qu'une concentration basse en vitamine D augmente le risque de PE mais concluent que la qualité des données rend nécessaire des essais avec une puissance adéquate.

L'étude FEPED, étude française multicentrique non publiée, a comparé en population générale à bas risque le statut vitaminique D en début de grossesse dans un groupe de patiente avec PE et un groupe sans PE. 3 dosages étaient réalisés à l'inclusion entre 10 et 14 SA, à 32SA et à l'accouchement (sang de cordon). 84 patientes ont présenté une PE sur 3093 patientes incluses dont 75 après 32SA et 9 avant. Les résultats non encore publiés mettent en évidence une prévalence du déficit <30 ng/ml de 75% à T1 et de 46% à T3. La prévalence du déficit <20 ng/ml était de 45% à T1 et de 15% à T3. Il existait une association entre survenue de la PE et déficit en vitamine D au premier et au 3^{ème} trimestre.

D'autres traitements non liés au facteur thrombose ont été étudiés : l'administration d'oxygène, la supplémentation en nutriments, le repos, les inhibiteurs calciques, les bêta mimétiques, ... sans preuve formelle de leur efficacité.

PARTIE EXPERIMENTALE

PARTIE EXPERIMENTALE

1. Prédiction du risque de pathologies vasculaires placentaires

1.1. Utilisation de facteurs biologiques : étude ANGIOPRED

1.1.1. Valeur prédictive de l'inhibiteur du facteur tissulaire (TFPI) sur la survenue de pathologies vasculaires placentaires chez des patientes à haut risque: étude ANGIOPRED

Nous avons étudié différents facteurs de l'hémostase et notamment le TFPI. Ce facteur produit par les cellules endothéliales intervient dans la cascade de la coagulation. Nous avons cherché à étudier son évolution en cours de grossesse et lors du post-partum et ses variations en fonction de la survenue d'une PVP.

RESEARCH ARTICLE

Tissue factor pathway inhibitor for prediction of placenta-mediated adverse pregnancy outcomes in high-risk women: AngioPred study

Aurélien Di Bartolomeo¹, Céline Chaleur^{1,2}, Jean-Christophe Gris^{3,4}, Céline Chapelle^{2,5}, Edouard Noblot¹, Silvy Laporte^{2,5}, Tiphaine Raia-Barjat^{1,2*}

1 Department of Gynaecology and Obstetrics, University Hospital, Saint Etienne, France, **2** INSERM UMR 1059, Saint Etienne University Jean Monnet, Saint Etienne, France, **3** Laboratory of Haematology, University Hospital, Nîmes, France, **4** Research Unit EA2992, Montpellier University, Montpellier, France, **5** Clinical Pharmacology Unit, University Hospital, Saint Etienne, France

* tiphaine.barjat@chu-st-etienne.fr



Abstract

Objective

The study aimed to evaluate if the rate of tissue factor pathway inhibitor during pregnancy and following delivery could be a predictive factor for placenta-mediated adverse pregnancy outcomes in high-risk women.

Methods

This was a prospective multicentre cohort study of 200 patients at a high risk of occurrence or recurrence of placenta-mediated adverse pregnancy outcomes conducted between June 2008 and October 2010. Measurements of tissue factor pathway inhibitor resistance (normalized ratio) and tissue factor pathway inhibitor activity were performed for the last 72 patients at 20, 24, 28, 32, and 36 weeks of gestation and during the postpartum period.

Results

Overall, 15 patients presented a placenta-mediated adverse pregnancy outcome. There was no difference in normalized tissue factor pathway inhibitor ratios between patients with and without placenta-mediated adverse pregnancy outcomes during pregnancy and in the post-partum period. Patients with placenta-mediated adverse pregnancy outcomes had tissue factor pathway inhibitor activity rates that were significantly higher than those in patients without at as early as 24 weeks of gestation. The same results were observed following delivery.

Conclusion

Among high-risk women, the tissue factor pathway inhibitor activity of patients with gestational vascular complications is higher than that in other patients. Hence, these markers

OPEN ACCESS

Citation: Di Bartolomeo A, Chaleur C, Gris J-C, Chapelle C, Noblot E, Laporte S, et al. (2017) Tissue factor pathway inhibitor for prediction of placenta-mediated adverse pregnancy outcomes in high-risk women: AngioPred study. PLoS ONE 12(3): e0173596. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0173596>

Editor: Stefan Gebhardt, Stellenbosch University, SOUTH AFRICA

Received: June 12, 2016

Accepted: February 23, 2017

Published: March 22, 2017

Copyright: © 2017 Di Bartolomeo et al. This is an open access article distributed under the terms of the [Creative Commons Attribution License](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author and source are credited.

Data Availability Statement: All relevant data are within the paper and its Supporting Information files.

Funding: The authors received no specific funding for this work.

Competing interests: The authors have declared that no competing interests exist.

could augment a screening strategy that includes an analysis of angiogenic factors as well as clinical and ultrasound imaging with Doppler measurement of the uterine arteries.

Introduction

Placenta-mediated adverse pregnancy outcomes (or placental vascular pathology (PVP)) represents a heterogeneous group of multisystem disorders that can be maternal [pre-eclampsia (PE); eclampsia; retroplacental hematoma; hemolysis; elevated liver enzymes; low platelets (HELLP) syndrome] or foetoplacental through placental hypoperfusion, leading to intrauterine growth retardation (IUGR) or oligohydramnios. PE complicates between 2% and 8% of pregnancies[1], making placenta-mediated adverse pregnancy outcomes fairly common. It is also responsible for many cases of foetomaternal morbidity and mortality, and a major contributor to premature births.[2] PE is associated with preterm delivery in 15–67% of cases, with IUGR in 10–25% of cases, and with neonatal mortality in 1%–2% of cases.[3] Strategies for predicting and preventing the occurrence of these potentially serious complications in patients and foetuses remain a major challenge. The introduction of closer monitoring, transfer to adapted level maternity, and antenatal steroids can significantly reduce maternal and foetal morbidity, which underscores the importance of early identification.[4] Once PE occurs, the only curative treatment is delivery, and although placenta-mediated adverse pregnancy outcomes risk factors are now well-known, there is still no validated screening strategy for predicting the occurrence of this pathology in high-risk patients.[5,6]

Pregnancy represents an acquired hypercoagulable state due to a higher concentration of coagulation factors, low levels of anticoagulant, and reduced fibrinolysis. For example, during pregnancy there is a physiological decrease in protein S and an increased expression of tissue factor (TF) [7]. TF plays a role in the extrinsic pathway of coagulation, because TF binds to FVII and increases its activity. The resulting TF/VIIa complex then activates factor X. This mechanism is regulated by TFPI (tissue factor pathway inhibitor) [8], a Kunitz-like protein produced mainly by endothelial cells. Factor Xa and the TF/VIIa complex are both inhibited by TFPI, 80% of which is found in the vascular endothelium, with the remaining 20% found in plasma (80% linked to lipoproteins and 20% free). Protein S enhances TFPI action [9,10], and studies have shown that, outside of pregnancy, modulation of TFPI rates is responsible for the increased risk of venous thromboembolism [11,12], particularly in women taking oral contraceptives [13,14]. However, only a few studies have been published that examine TFPI in the context of pregnancy, with contradictory results [15,16].

The main objective of our study was to evaluate the TFPI rate (TFPI resistance and TFPI activity) as a potential predictor of placenta-mediated adverse pregnancy outcomes in high-risk patients. The secondary objective was to evaluate TFPI evolution (TFPI resistance assay and TFPI activity assay) during 20–36 weeks of pregnancy and postpartum.

Materials and methods

Study population

The Angiopred study is a prospective multicentre cohort study of consecutive patients at a high risk of occurrence or recurrence of placenta-mediated adverse pregnancy outcomes, conducted between June 2008 and October 2010 at the Obstetrics and Gynaecology Department of Saint Etienne and Nîmes University Hospital and the Laboratory of Haematology at Nîmes

University Hospital. Two hundred patients were included in this study. We performed analyses of TFPI only on 72 patients who were included in Saint Etienne.

Inclusion criteria comprised a history of one or more of the following: (1) diabetes (dietary or insulin-dependent); (2) hypertension (previously treated before pregnancy or blood pressure $> 140/90$ at two readings prior to 20 weeks' gestation); (3) obesity (BMI ≥ 30) (4) maternal age ≤ 18 years or ≥ 38 years; (5) chronic kidney disease (proteinuria ≥ 300 mg for 24 hours or creatinine ≥ 1.5 mg/dl prior to 20 weeks' gestation); (6) lupus; (7) antiphospholipid syndrome; (8) family history of cardiovascular disease or VTE; (9) biological thrombophilia without personal history of VTE or personal placenta-mediated adverse pregnancy outcomes; (10) a history of one or more episodes of PVP; and (11) a personal history of VTE. The exclusion criteria were as follows: (1) multiple pregnancies; (2) patients with a history of foetal death due to congenital malformations, Rh incompatibility, or infectious cause; (3) IUGR with a chromosomal, genetic, or infectious abnormality etiology; and (4) patients with placenta-mediated adverse pregnancy outcome at inclusion.

The protocol was approved by the Ethics Committee and Institutional Review Board of the University Hospital of Saint Etienne in March 2008 and all subjects provided written informed consent. This clinical investigation was performed according to the Helsinki declaration of 1975, as revised in 1996.

Study design and evaluation criteria

At inclusion, patient demographic data were collected by interview, physical examination, and consultation of obstetrical medical records. Blood samples required by this study were taken alongside the conventional laboratory tests for monitoring pregnancy.

The outcome was the occurrence or recurrence of placenta-mediated adverse pregnancy outcomes in specific accordance with the following criteria: (1) foetal death at ≥ 20 weeks of gestation unrelated to foetal malformations, abnormal karyotype, or infectious disease; (2) PE defined according to the ISSHP (International Society for the Study of Hypertension in Pregnancy criteria); [17] (3) eclampsia defined as the presence of convulsions in a pre-eclamptic patient; (4) *abruptio placentae* defined by the presence of externalized haemorrhage and/or found on pathologic analysis of the placenta conducted in a context of preeclampsia, uterine contractions with no relaxation, or foetal distress; (5) HELLP syndrome; and (6) Small for Gestational Age defined by a birth weight $\leq$ the 10th customised centile.

Blood collection and laboratory methods

Blood samples were collected in tubes containing 0.129 mol/L trisodium citrate, at the collection centre of the University Hospital of Saint Etienne and Nîmes, at 20, 24, 28, 32, and 36 weeks, and during the postpartum period, for a total of six samples per patient. Postpartum blood samples were performed 6 weeks after childbirth. After a single centrifugation (20 min; 2500 x g), 400 μ L aliquots of plasma were collected and stored at -70°C until analysis. Each analysis was then performed blind to the other analyses. All samples from each patient were grouped in the same series of analyses. For the postpartum sample, two tubes were tested; one after the first centrifugation and one after the second, so there were ultimately seven samples per patient. Pooled normal (V) plasma from 34 healthy volunteers, excluding any women who were using oral contraceptives or who were pregnant, was used as the reference plasma. To optimize the plasma management, the two assays (TFPI resistance and TFPI activity) were simultaneously realized on the same aliquots after defrosting at 37°C for ten minutes.

TFPI resistance

We used the assay described by Tardy-Poncet *et al.* [11]. TFPI resistance is defined as a poor anticoagulant response to TFPI. To evaluate the anticoagulant activity of exogenous TFPI, two modified diluted thromboplastin times (dTT) were determined, one with and one without exogenous TFPI. For this purpose, two reagents were prepared: R1 and R2. R1 comprised a Tris bovine serum antigen buffer (50 mmol L⁻¹ Tris/HCl, 100 mmol L⁻¹ NaCl, and 1 g L⁻¹ of bovine serum albumin, pH 7.5) containing 50 mmol L⁻¹ CaCl₂ and tissue factor (Thromborel S, Behring, Paris, France), diluted to a final concentration of 1/150th. R1 is a reference dTT. R2 had the same composition as R1, except for the addition of purified human TFPI (American Diagnostica, Andresy, France), at a final concentration of 250 ng mL⁻¹. R2 is a dTT with TFPI (final TFPI concentration in the reagent medium: 83 ng/mL). After a 15-s incubation of 50 mL of undiluted patient and control plasma samples at 37°C, clotting was initiated by adding 50 mL of the R1 solution, and the 'dTT without TFPI' was recorded. Identical plasma samples were then incubated with solution R2 to determine the 'dTT with TFPI'. Clot formation was recorded for 240 s on a coagulometer (BCT Behring). All measurements were performed in duplicate and the final result was considered the mean of the two measurements. Detection of thrombus formation was made by optic detection at 405 nm.

The variation coefficient authorized for this measurement is 5%. TFPI sensitivity ratios were obtained by dividing the 'dTT with TFPI' by the 'dTT without TFPI'. For each series, we also measured the TFPI sensitivity ratios of the reference plasma. The TFPI sensitivity ratio of the reference plasma was 2.01 (mean value of 30 measurements). The normalized ratio was then calculated by dividing the TFPI sensitivity ratio obtained for each of the patient and control plasma samples by the TFPI sensitivity ratio obtained for the reference plasma.

TFPI activity assay

We used the assay described by Sandset *et al.* [18]: the TFPI activity assay is based on the ability of TFPI in the sample, with presence of FXa, to inhibit TF/FVIIa catalytic activity. The plasma is incubated in the presence of tissue factor, FXa, and FVIIa, which permit formation of TF/FVIIa/TFPI/FXa. The residual TF/FVIIa catalytic activity is measured by adding FX and specific Xa chromogenic substrate.

The recombinant Tissue Factor (Dade-Innovin) was purchased from Dade Behring Siemens (Saint Denis, France). The recombinant FVIIa (Novoseven 60KU) was provided by Novo Nordisk (Denmark). The bovine factor Xa (70 nkat), the bovine factor X (100 µg), and the chromogenic substrate CS-11 (kit biophen heparin 6) were purchased from Hyphen Biomed (Neuville sur Oise, France). The polymerization fibrinogen inhibitor, Pefabloc FG 50 mg (Pentapharm) was distributed by Cryopec (Montpellier, France). The combined reagent is prepared in the ice, by dilution Tris bovine serum antigen buffer (50 mmol L⁻¹ Tris/HCl, 100 mmol L⁻¹ NaCl and 1 g L⁻¹ of bovine serum albumin, pH 7.5), with TF (last dilution 1/100), CaCl₂ 10 mmol L⁻¹, Pefabloc (100 µg/mL), FXa (1.3 nmol L⁻¹), FVIIa (10 nmol L⁻¹) (last concentrations in the measurement). The plasma samples were defrosted at 37°C for 10 minutes and had to be used within two hours. We took 25 µL from a 1/80 dilution in buffer TBS/BSA of each sample. A calibration range was made by six measurement points (0 to 150%) established by the reference plasma and the control plasma. After adding 100 µL from combined reagent, the incubation at 37°C for 30 minutes was realized, at which point 50 µL of a substrate reagent composed of bovine FX (0.2 U/mL) and chromogenic substrate (2.5 mg/mL) were added for a second incubation at 37°C for 30 minutes. The absorbance at 405 nm was measured by a spectrophotometer (Multiskan Ascent, Thermolab System), and a calibration curve was automatically drawn. TFPI activity was expressed as a percentage compared to the control group values.

Statistical analysis

Statistical analysis was performed using SAS 9.4 and R statistical software, version 3.2.1. Qualitative data were described by absolute and relative frequencies (expressed in %) and were compared with Fisher exact test. Quantitative variables were described by mean and standard deviation and interquartile range and were compared by Student's *t* test. In the event of a non-normally distributed variable (assessed by Shapiro-Wilk test), a Wilcoxon Mann-Whitney test was performed. TFPI resistance and activity at each of the six visits (at 20, 24, 28, 32, and 36 weeks' gestation, and post-partum) in patients with placenta-mediated adverse pregnancy outcomes and patients without were compared. TFPI plasma levels were summarised in boxplots for each of the five visits (20, 24, 28, 32 and 36 weeks) and were compared to postpartum levels using the Wilcoxon rank test. Tests were performed at the adjusted two-sided alpha level of 1%.

Results

Description of the study population

Between June 2008 and October 2010, two hundred pregnant women were included in the study, which enabled the analysis of 934 plasma samples. All samples were collected prior to the placenta-mediated adverse pregnancy outcome. TFPI assays were realized on 72 patients included in the study at Saint Etienne, at different stages of pregnancy, as well as in the post-partum period. Demographics and inclusion criteria are summarized in [Table 1](#). During the study, 15 of the 72 patients had placenta-mediated adverse pregnancy outcomes with four PE, eight IUGR, and three associations between PE and IUGR. There was significantly more diabetes and history of placenta-mediated adverse pregnancy outcomes among patients with placenta-mediated adverse pregnancy outcomes compared to patients without. However, other demographic characteristics and inclusion criteria were not statistically different between patients with or without placenta-mediated adverse pregnancy outcomes.

TFPI resistance

The threshold value of the normalized ratio (NR) TFPI has been defined by a reference pool of 34 controls, and has been determined at 0.70 (minimum value). The control group consisted of healthy volunteer's women who were not using oral contraceptives and who were not pregnant. A value below 0.70 was associated with a TFPI resistance.

There was no difference regarding the normalized ratios TFPI between patients with and without placenta-mediated adverse pregnancy outcomes during pregnancy or during the post-partum period ([Fig 1](#)).

For all patients, the normalised ratio of TFPI was constant and below 0.70 during pregnancy in every stage. It became normal in postpartum with a median normalized ratio of 0.81 globally ([Fig 2](#)). The differences between any stage of pregnancy and postpartum were constant regardless of pregnancy stage ([Table 2](#)).

TFPI activity

TFPI activity values were higher in patients with placenta-mediated adverse pregnancy outcomes than in patients without during pregnancy. This difference was statistically significant at 24 weeks and close to statistical significance at 28, 32, and 36 weeks. During the postpartum period, patients with placenta-mediated adverse pregnancy outcomes showed higher TFPI activity values than patients without and this difference was statistically significant ($p = 0.04$). ([Table 3](#), [Fig 3](#)).

Table 1. Patient characteristics at inclusion^a.

	Total No = 72		Placenta-mediated adverse pregnancy outcomes No = 15		No placenta-mediated adverse pregnancy outcome No = 57		P value
Demographic data: mean $\pm$ standard deviation median (Q1-Q3)	mean $\pm$ SD	median (Q1-Q3)	mean $\pm$ SD	median (Q1-Q3)	mean $\pm$ SD	median (Q1-Q3)	
Age (years)	31.1 $\pm$ 4.6	30.8(27.6–33.9)	32.5 $\pm$ 4.2	32.5(28.2–34.5)	30.7 $\pm$ 4.7	30.3(27.1–33.7)	0.19*
Gravidity	2.6 $\pm$ 1.9	2.0(1.0–4.0)	3.5 $\pm$ 2.4	3.0(1.0–5.0)	2.4 $\pm$ 1.7	2.0(1.0–3.0)	0.12**
Parity	1.1 $\pm$ 0.9	1.0(1.0–2.0)	1.1 $\pm$ 0.7	1.0(1.0–2.0)	1.1 $\pm$ 0.9	1.0(0.5–2.0)	0.92**
BMI (Kg/m ²)	25.5 $\pm$ 6.1	23.5(20.9–28.9)	25.2 $\pm$ 6.2	24.2(20.4–27.7)	25.5 $\pm$ 6.2	23.4(21.1–29.1)	0.85**
Inclusion criteria	n	%	n	%	n	%	
BMI > 30 kg/m ²	15	21.1	2	13.3	13	23.2	0.40***
Smoking	2	2.8	1	6.7	1	1.8	0.31***
Diabetes	5	7.0	3	20.0	2	3.6	0.03***
Kidney disease	0	0.0	0	0.0	0	0.0	0***
Hypertension	4	5.6	1	6.7	3	5.4	0.84***
Lupus	3	4.2	0	0.0	3	5.4	0.36***
Antiphospholipid Syndrome	3 ^b	4.3	0	0.0	3	5.5	0.35***
Personal history of venous thromboembolism	15	21.1	1	6.7	14	25.0	0.12***
Personal history of PVP	47	66.2	15	100.0	32	57.1	0.002***
Familial history	18	25.4	3	20.0	15	26.8	0.59***

^adata are available for 71 patients^bdata available for 70 patients

* Student's t test

** Wilcoxon Mann-Whitney test

*** Fisher exact test

No.: number of; BMI: Body Mass Index; VTE: venous thromboembolism; SD: standard deviation; Q1: 1st quartile; Q3: 3rd quartile<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0173596.t001>

For high-risk population studied, TFPI activity was significantly decreased at 20 and 24 weeks of pregnancy compared with that in the postpartum period ($p < 0.0001$ and $p = 0.0005$ at 20 and 24 weeks, respectively). Significant difference was not found in the rate of TFPI activity at 28 weeks compared with that in the postpartum period (Table 2).

Discussion

Our results showed that pregnancy induces TFPI exogenous resistance without any difference between patients with and without placenta-mediated adverse pregnancy outcomes. Furthermore, there was an increase in TFPI activity during pregnancy at 24, 28 and 32 weeks, as well as in the postpartum period in patients who experienced placenta-mediated adverse pregnancy outcomes compared to patients who did not, and this difference was present prior to the occurrence of placenta-mediated adverse pregnancy outcomes.

Revealing TFPI resistance

TFPI exogenous resistance is involved in physiological hypercoagulability, inherent in gravid state, caused by acquired protein S deficiency and resistance to activated protein C (not associated with a factor V Leyden mutation) [19]. Some studies suggest a concomitant action of TFPI and protein S. Hackeng *et al.* [10] showed inhibition of thrombin generation by the TFPI / protein S system. Castoldi *et al.* [9] noted that protein S deficiency was more frequently

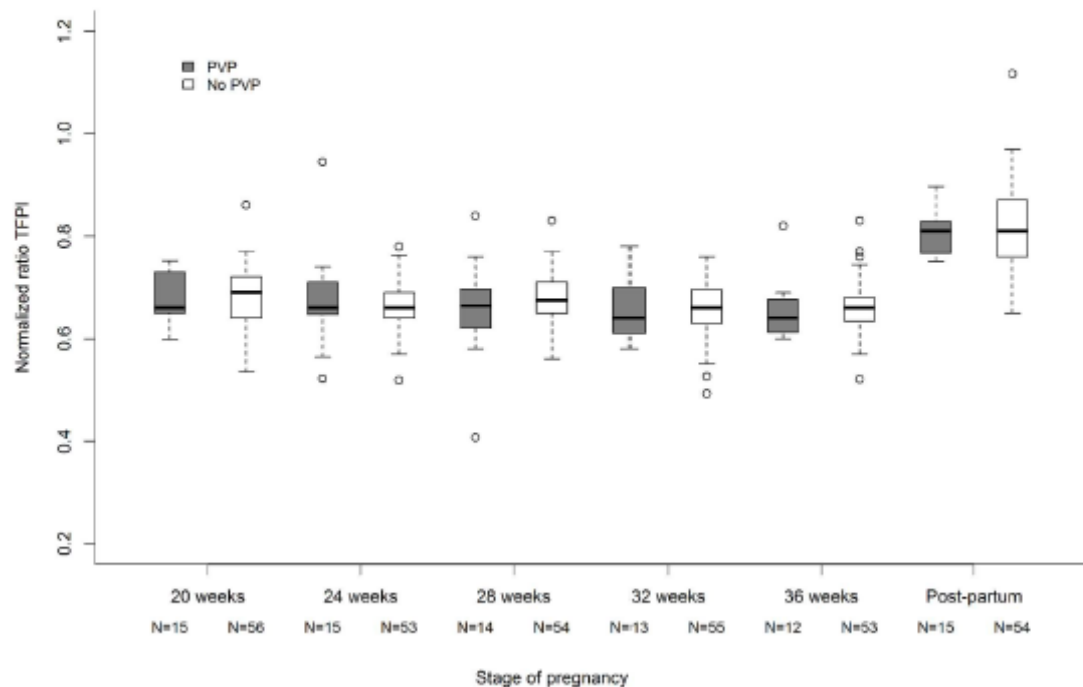


Fig 1. No difference between TFPI resistance (median normalized ratio) during pregnancy and postpartum for patients with placenta-mediated adverse pregnancy outcomes (PVP) and patients without (No PVP). The lower and upper limits of the box represent the first and third quartiles respectively and the heavy line inside the box the median. The horizontal line at the bottom and at the top of each plot represent the value of the lower and upper quartiles respectively. The circles represent the points that fall outside the nominal range of the data inferred from the upper and lower quartiles.

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0173596.g001>

associated with a reduced rate of TFPI. Tardy-Poncet *et al.* reports TFPI NR (and PS activity) measured in plasma of 7 women during pregnancy and 3 months after delivery. Median TFPI NR values were statistically significantly lower during pregnancy than 3 months after delivery [20]. Our study also highlights the possibility of increased resistance to exogenous TFPI during pregnancy on a larger population.

TFPI activity assay

Our results demonstrated that the rate of TFPI activity was significantly higher overall in patients with placenta-mediated adverse pregnancy outcomes. We believe that these higher TFPI values match an overexpression of tissue factor, which is known to increase during pregnancy, and may correlate in particular to placenta-mediated adverse pregnancy outcomes.

Several studies support this hypothesis. Godoi *et al.* [21] showed significantly higher TFPI levels in pre-eclamptic women compared to those in normotensive pregnant patients and non-pregnant patients, for which the results were significant before 34 weeks. No significant differences in tissue factor rate were found between the three groups, and the tendency for TFPI to increase in late pregnancy was demonstrated. Erez *et al.* [22] reported the same results, distinguishing between placenta-mediated adverse pregnancy outcomes that results in foetal growth restriction and in pre-eclampsia. TF concentrations were increased in both

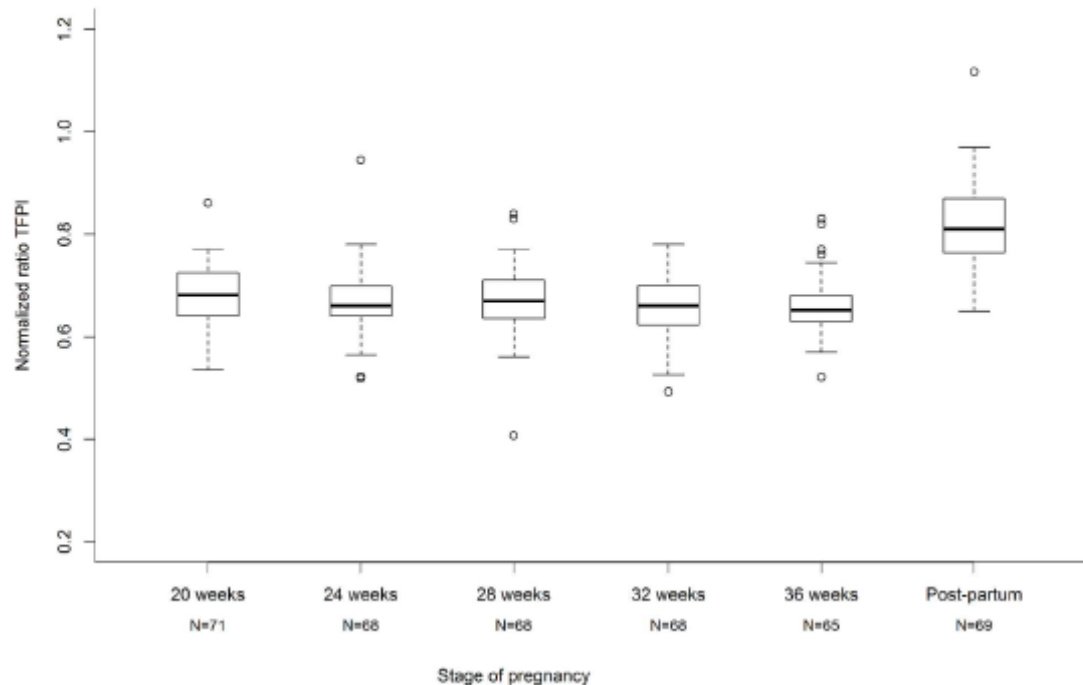


Fig 2. Median normalised ratio was below 0.70 during pregnancy and higher in postpartum. The lower and upper limits of the box represent the first and third quartiles respectively and the heavy line inside the box the median. The horizontal line at the bottom and at the top of each plot represent the value of the lower and upper quartiles respectively. The circles represent the points that fall outside the nominal range of the data inferred from the upper and lower quartiles.

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0173596.g002>

populations significantly, compared to those in pregnant women without placenta-mediated adverse pregnancy outcomes, though TFPI concentrations were increased in pre-eclamptic patients only, with no significant difference in the foetal growth restriction group compared to the healthy pregnant women group. Thus, TFPI / TF ratio was significantly decreased in the

Table 2. Evolution of TFPI resistance and activity during pregnancy and postpartum.

Gestational Age	Normalised ratio of TFPI		Comparison with postpartum period	TFPI activity%		Comparison with postpartum period
	mean $\pm$ SD	median (Q1–Q3)	Absolute difference 95% CI	mean $\pm$ SD	median (Q1–Q3)	Absolute difference 95% CI
20 weeks	0.68 $\pm$ 0.06	0.68 (0.64–0.73)	–0.14 (–0.16; –0.12)	78.0 $\pm$ 19.9	76.5 (66.2–91.1)	–8.2 (–15.2; –1.1)
24 weeks	0.67 $\pm$ 0.06	0.66 (0.64–0.70)	–0.15 (–0.18; –0.13)	79.9 $\pm$ 20.2	76.1 (68.5–90.3)	–6.2 (–13.5; 1.0)
28 weeks	0.67 $\pm$ 0.07	0.67 (0.64–0.71)	–0.15 (–0.17; –0.12)	83.2 $\pm$ 22.4	80.2 (69.7–94.1)	–2.9 (–10.5; 4.8)
32 weeks	0.66 $\pm$ 0.05	0.66 (0.62–0.70)	–0.16 (–0.18; –0.13)	85.9 $\pm$ 23.3	84.7 (70.6–100.9)	–0.4 (–8.2; 7.4)
36 weeks	0.66 $\pm$ 0.05	0.65 (0.63–0.68)	–0.16 (–0.19; –0.14)	88.8 $\pm$ 22.9	84.9 (77.8–100.6)	2.9 (–5.1; 10.9)
Postpartum period	0.82 $\pm$ 0.08	0.81 (0.76–0.87)	—	85.9 $\pm$ 22.3	82.9 (72.2–97.7)	—

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0173596.t002>

Table 3. Comparison of TFPI activity during pregnancy in patients with placenta-mediated adverse pregnancy outcomes and without.

Gestational Age	Placenta-mediated adverse pregnancy outcomes		No placenta-mediated adverse pregnancy outcome		Absolute difference 95% CI	P value
	mean $\pm$ SD	median (Q1–Q3)	mean $\pm$ SD	median (Q1–Q3)		
20 weeks	84.6 $\pm$ 15.5	80.2 (74.9–91.7)	76.2 $\pm$ 20.6	76.2 (63.6–88.7)	8.3 (–1.2; 17.9)	0.15*
24 weeks	90.2 $\pm$ 17.0	87.5 (78.6–98.3)	77.0 $\pm$ 20.3	73.4 (66.2–88.9)	13.2 (3.0; 23.3)	0.02*
28 weeks	93.1 $\pm$ 16.7	87.2 (80.2–105.6)	80.6 $\pm$ 23.1	75.5 (66.8–94.1)	12.5 (1.8; 23.1)	0.06*
32 weeks	96.6 $\pm$ 19.1	94.2 (82.8–103.7)	83.4 $\pm$ 23.6	82.3 (68.2–100.8)	13.2 (1.1; 25.3)	0.06*
36 weeks	98.6 $\pm$ 20.3	90.6 (85.1–110.5)	86.6 $\pm$ 23.1	83.0 (76.4–99.0)	12.0 (–1.1; 25.1)	0.10*
Postpartum period	98.6 $\pm$ 27.8	89 (75.8–116.4)	82.5 $\pm$ 19.6	81.2 (69.7–95.9)	16.1 (1.1; 31.1)	0.04*

* Wilcoxon Mann-Whitney test

No.: number of; SD: standard deviation; Q1: 1st quartile; Q3: 3rd quartile<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0173596.t003>

PE group and increased in the foetal growth restriction group. The authors hypothesized placenta-mediated adverse pregnancy outcomes (maternal or foetal) were phenotypically expressed. Abdel Gader *et al.* [23] compared total and free TFPI levels and found that pre-eclamptic patients show increased free TFPI levels compared to normal pregnancy patients and those with gestational hypertension during pregnancy and postpartum (24 hours after birth). The differences were significant. Ittel *et al.* [15] found higher concentrations of free TFPI in non-pregnant patients compared to pregnant patients (with a normal pregnancy) in the 1st, 2nd, and 3rd trimester of pregnancy. Moreover, during the period of at least 12 weeks

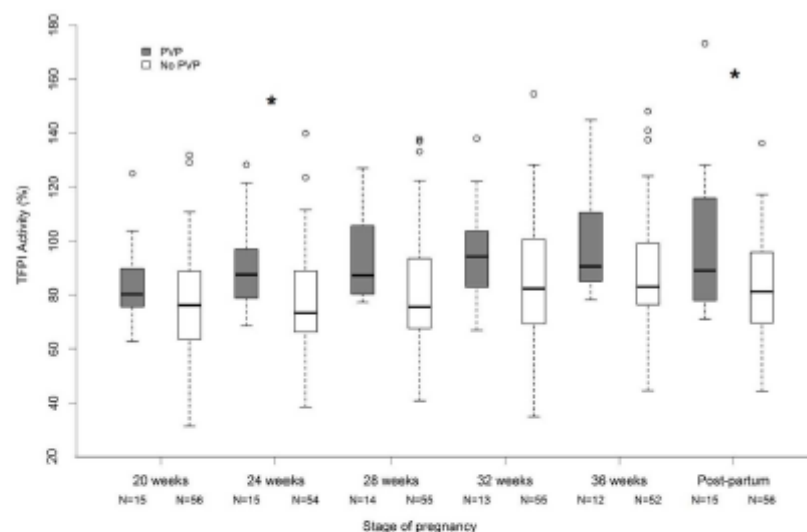


Fig 3. Patients with placenta-mediated adverse pregnancy outcomes (PVP) showed higher median TFPI activity values than patients without (No PVP) both during pregnancy and in the postpartum period. The lower and upper limits of the box represent the first and third quartiles respectively and the heavy line inside the box the median. The horizontal line at the bottom and at the top of each plot represent the value of the lower and upper quartiles respectively. The circles represent the points that fall outside the nominal range of the data inferred from the upper and lower quartiles. * $p < 0.05$, Wilcoxon Mann-Whitney test. PVP for Placental Vascular Pathology.

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0173596.g003>

postpartum, they found that concentrations of TFPI were significantly lower among patients who experienced a gestational vascular complication compared to non-pregnant patients, which could correspond to a potential indicator of placenta-mediated adverse pregnancy outcomes risk.

Other studies found decreased levels of TFPI in patients with placenta-mediated adverse pregnancy outcomes: Aharon *et al.* [24] showed significantly decreased TFPI levels in patients with placenta-mediated adverse pregnancy outcomes during pregnancy. Furthermore, the TF / TFPI ratio was increased in this population, emphasizing the hypercoagulable mechanism in the genesis of PE. They added that the decrease could be palliated by a LMWH treatment, thereby increasing the rate of TFPI. Teng *et al.* [7] demonstrated similar results.

Normalized ratio of TFPI is hypersensitive to analytical test preconditions, with the risk that traces of TF are present in the sample and can alone be responsible for a decrease in the ratio.

Conclusion

Our study shows that the normalized TFPI ratio is not a discriminating factor between patients with placenta-mediated adverse pregnancy outcomes and without, although there were significantly higher rates of TFPI activity in patients with placenta-mediated adverse pregnancy outcomes than in patients without. Similar results are also described in the literature. Thus, the increase in TFPI levels in PVP patients could match the overexpression of tissue factor (TF). A study combining clinical, sonographic, and dosage of angiogenic factors data for the prediction of placenta-mediated adverse pregnancy outcomes in high-risk patients seems necessary to establish an effective screening strategy.

Supporting information

S1 Table. All available data.
(PDF)

Author Contributions

Conceptualization: C. Chauleur SL.

Data curation: SL.

Formal analysis: C. Chapelle SL.

Funding acquisition: C. Chauleur.

Investigation: C. Chauleur ADB TRB EN.

Methodology: C. Chapelle SL.

Project administration: C. Chauleur SL.

Resources: SL C. Chapelle C. Chauleur.

Software: C. Chapelle SL.

Supervision: C. Chauleur J-CG.

Validation: C. Chauleur.

Visualization: TRB EN.

Writing – original draft: ADB TRB.

Writing – review & editing: TRB.

References

- Duley L. The global impact of pre-eclampsia and eclampsia. *Semin Perinatol.* 2009; 33:130–7. <https://doi.org/10.1053/j.semperi.2009.02.010> PMID: 19464502
- Khan KS, Wojdyla D, Say L, Gülmezoglu AM, Van Look PFA. WHO analysis of causes of maternal death: a systematic review. *Lancet* 2006; 367:1066–74. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(06\)68397-9](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(06)68397-9) PMID: 16581405
- Chang J, Elam-Evans LD, Berg CJ, Herndon J, Flowers L, Seed KA, et al. Pregnancy-related mortality surveillance—United States, 1991–1999. *MMWR Surveill Summ.* 2003; 52:1–8.
- Chauhan SP, Cole J, Sanderson M, Magann EF, Scardo JA. Suspicion of intrauterine growth restriction: Use of abdominal circumference alone or estimated fetal weight below 10%. *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2006; 19:557–62. <https://doi.org/10.1080/14767050600798267> PMID: 16966124
- Eskenazi B, Fenster L, Sidney S. A multivariate analysis of risk factors for preeclampsia. *JAMA.* 1991; 266:237–41. PMID: 2056625
- Duckitt K, Harrington D. Risk factors for pre-eclampsia at antenatal booking: systematic review of controlled studies. *BMJ.* 2005; 330:565. <https://doi.org/10.1136/bmj.38380.674340.E0> PMID: 15743856
- Teng Y, Jiang R, Lin Q, Ding C, Ye Z. The relationship between plasma and placental tissue factor, and tissue factor pathway inhibitors in severe pre-eclampsia patients. *Thromb Res.* 2010; 126:e41–45. <https://doi.org/10.1016/j.thromres.2010.02.012> PMID: 20226500
- Lwaleed BA, Bass PS. Tissue factor pathway inhibitor: structure, biology and involvement in disease. *J Pathol.* 2006; 208:327–39. <https://doi.org/10.1002/path.1871> PMID: 16261634
- Castoldi E, Simioni P, Tormene D, Rosing J, Hackeng TM. Hereditary and acquired protein S deficiencies are associated with low TFPI levels in plasma. *J Thromb Haemost.* 2010; 8:294–300. <https://doi.org/10.1111/j.1538-7836.2009.03712.x> PMID: 20002538
- Hackeng TM, Rosing J. Protein S as cofactor for TFPI. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2009; 29:2015–20. <https://doi.org/10.1161/ATVBAHA.108.177436> PMID: 19661488
- Tardy-Poncet B, Tardy B, Laporte S, Mismetti P, Amiral J, Piot M, et al. Poor anticoagulant response to tissue factor pathway inhibitor in patients with venous thrombosis. *J Thromb Haemost.* 2003; 1:507–10. PMID: 12871458
- Dahm A, Van Hylckama Vlieg A, Bendz B, Rosendaal F, Bertina RM, Sandset PM. Low levels of tissue factor pathway inhibitor (TFPI) increase the risk of venous thrombosis. *Blood.* 2003; 101:4387–92. <https://doi.org/10.1182/blood-2002-10-3188> PMID: 12560220
- Dahm A, Rosendaal FR, Andersen TO, Sandset PM. Tissue factor pathway inhibitor anticoagulant activity: risk for venous thrombosis and effect of hormonal state. *Br J Haematol.* 2006; 132:333–8. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2141.2005.05876.x> PMID: 16409298
- Harris GM, Stendtl CL, Vollenhoven BJ, Gan TE, Tipping PG. Decreased plasma tissue factor pathway inhibitor in women taking combined oral contraceptives. *Am J Hematol.* 1999; 60:175–80. PMID: 10072106
- Ittel A, Breuille F, Gris J-C, Chau C, Sébahoun G, Boubli L, et al. Increased risk of gestational vascular complications in women with low free tissue factor pathway inhibitor plasma levels out of pregnancy. *Thromb Haemost.* 2011; 105:66–71. <https://doi.org/10.1160/TH10-06-0399> PMID: 20978710
- Erez O, Romero R, Hoppensteadt D, Than NG, Fareed J, Mazaki-Tovi S, et al. Tissue factor and its natural inhibitor in pre-eclampsia and SGA. *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2008; 21:855–69. <https://doi.org/10.1080/14767050802361872> PMID: 19065458
- Brown MA, Lindheimer MD, de Swiet M, Van Assche A, Moutquin JM. The classification and diagnosis of the hypertensive disorders of pregnancy: statement from the International Society for the Study of Hypertension in Pregnancy (ISSHP). *Hypertens Pregnancy.* 2001; 20:IX–XIV. PMID: 12044323
- Sandset PM, Bendz B, Hansen JB. Physiological function of tissue factor pathway inhibitor and interaction with heparins. *Haemostasis.* 2000; 30 Suppl 2:48–56.
- Bergrem A, Dahm AEA, Jacobsen AF, Mowinkel M-C, Sandvik L, Sandset PM. Resistance to activated protein C is a risk factor for pregnancy-related venous thrombosis in the absence of the F5 rs6025 (factor V Leiden) polymorphism. *Br J Haematol.* 2011; 154:241–7. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2141.2011.08712.x> PMID: 21564075

20. Tardy-Poncet B, Plot M, Brunet D, Chapelle C, Bonardel M, Mismetti P, et al. TFPI resistance related to inherited or acquired protein S deficiency. *Thromb Res.* 2012; 130:925–8. <https://doi.org/10.1016/j.thromres.2012.07.025> PMID: 23079294
21. Godoi LC, Gomes KB, Alpoim PN, Carvalho M das G, Lwaleed BA, Sant'Ana Duse LM. Preeclampsia: the role of tissue factor and tissue factor pathway inhibitor. *J Thromb Thrombolysis.* 2012; 34:1–6. <https://doi.org/10.1007/s11239-012-0708-8> PMID: 22461171
22. Erez O, Romero R, Vaisbuch E, Kusanovic JP, Mazaki-Tovi S, Chaiworapongsa T, et al. High tissue factor activity and low tissue factor pathway inhibitor concentrations in patients with preterm labor. *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2010; 23:23–33. <https://doi.org/10.3109/14767050902994770> PMID: 19883261
23. Abdel Gader AM, Al-Mishari AA, Awadalla SA, Buyuoni NM, Khashoggi T, Al-Hakeem M. Total and free tissue factor pathway inhibitor in pregnancy hypertension. *Int J Gynaecol Obstet.* 2006; 95:248–53. <https://doi.org/10.1016/j.ijgo.2006.07.014> PMID: 17070527
24. Aharon A, Katzenell S, Tamari T, Brenner B. Microparticles bearing tissue factor and tissue factor pathway inhibitor in gestational vascular complications. *J Thromb Haemost.* 2009; 7:1047–50. <https://doi.org/10.1111/j.1538-7836.2009.03342.x> PMID: 19320826

1.1.2. Valeur prédictive des facteurs angiogéniques sur la survenue de pathologies vasculaires placentaires chez des patientes à haut risque: étude ANGIOPRED

Les facteurs intervenant dans la coagulation comme le TFPI sont modifiés en cas de PVP. Nous nous sommes intéressés aux facteurs angiogéniques sur la même population à haut risque. L'article a été soumis le 11 juin 2017 et a été accepté avec révisions le 25 juillet 2017.

The Journal of Maternal-Fetal & Neonatal Medicine



ANGIOGENIC FACTORS FOR PREDICTION OF PREECLAMPSIA AND INTRAUTERINE GROWTH RESTRICTION ONSET IN HIGH-RISK WOMEN: ANGIOPRED STUDY

Journal:	<i>The Journal of Maternal-Fetal & Neonatal Medicine</i>
Manuscript ID:	Draft
Manuscript Type:	Original Paper
Date Submitted by the Author:	n/a
Complete List of Authors:	Raia-Barjat, Tiphaine; Hôpital Nord, University Hospital, , Department of Gynaecology and Obstetrics Prieux, Carole; Univeristy hospital of Saint Etienne GRIS, Jean- Christophe; University Hospital of Nîmes Chapelle, Céline; University Hospital of Saint Etienne Laporte, Silvy; University Hospital of Saint Etienne Chauleur, Céline; Hôpital Nord, University Hospital,, Department of genetics
Keywords:	angioqenic factors, preeclampsia, intrauterine growth restriction, soluble endoglin, soluble fms-like tyrosine kinase-1

SCHOLARONE™
Manuscripts

**ANGIOGENIC FACTORS FOR PREDICTION OF PREECLAMPSIA AND
INTRAUTERINE GROWTH RESTRICTION ONSET IN HIGH-RISK WOMEN:
ANGIOPRED STUDY**

Angiogenic factors for placental pathology prediction

Tiphaine RAIA-BARJAT, MD^{1,2} ; Carole PRIEUX, MD¹ ; Jean-Christophe GRIS MD,
PhD^{3,4} ; Céline CHAPELLE, MD^{2,5} ; Silvy LAPORTE MD, PhD^{2,5} ; Céline CHAULEUR
MD, PhD^{1,2}

¹Department of Gynaecology and Obstetrics, University Hospital, Saint Etienne, France

²INSERM UMR1059, University Jean Monnet, F 42023 Saint Etienne France.

³Laboratory of Haematology, University Hospital, Nîmes, France.

⁴Research Unit EA2992, Montpellier University, Montpellier, France.

⁵Clinical Pharmacology Unit, University Hospital, Saint Etienne, France

Correspondence:

Tiphaine Raia-Barjat

Department of Gynaecology and Obstetrics

Hôpital Nord, University Hospital,

Avenue Albert Raimond

42270 Saint Priest en Jarez France

Phone: +33 - 4 - 77 82 86 09

Fax: +33 - 4 - 77 82 89 54

Email: tiphaine.barjat@chu-st-etienne.fr

Word count: 4478

Word count of abstract: 205

Total number of figures: 2

Abstract

Objective: The study aimed to compare the level of two angiogenic factors, soluble fms-like tyrosine kinase-1 (sFlt1) and soluble Endoglin (sEng), for the prediction of preeclampsia and intrauterine growth restriction in high-risk pregnant women.

Study design: A prospective multicenter cohort study of two hundred pregnant patients was conducted between June 2008 and October 2010. sFlt1 and sEng, were measured by enzyme-linked immunosorbent assay.

Result: Forty-five patients developed a placenta-mediated adverse pregnancy outcomes. Plasma levels of sFlt1 and sEng were higher in patients who will experience a preeclampsia at 28, 32 and 36 weeks compared to patients with no complication. The same results were observed for intrauterine growth restriction. Plasma levels of sFlt1 and sEng were not significantly different for patients with preeclampsia compare to patients with intrauterine growth restriction.

Conclusion: In high-risk women, angiogenic factors are disturbed before the onset of preeclampsia and this is true for intrauterine growth restriction.

Keywords: angiogenic factors; high-risk women; placenta-mediated adverse pregnancy outcomes; preeclampsia; intrauterine growth restriction; soluble endoglin; soluble fms-like tyrosine kinase-1

INTRODUCTION

Placenta-mediated adverse pregnancy outcomes (or placental vascular pathology (PVP)) represents a heterogeneous group of multisystem disorders that can be maternal [pre-eclampsia (PE); eclampsia; retroplacental hematoma; hemolysis, elevated liver enzymes, low platelets (HELLP) syndrome] or foetoplacental through placental hypoperfusion responsible for intrauterine growth retardation (IUGR) or oligohydramnios. Placenta-mediated adverse pregnancy outcomes are common, as PE complicates between 2% and 8% of pregnancies.¹ Severe placenta-mediated adverse pregnancy outcomes are responsible for much of the foetomaternal morbidity and mortality and are major contributors to premature births.² PE is associated with preterm delivery in 15 to 67% of cases, IUGR in 10% to 25% of cases and a neonatal mortality in 1 to 2%.³ The prediction and prevention of these potentially serious complications is a major challenge for patients and foetuses. The introduction of closer monitoring, transfer in adapted level maternity and antenatal steroids can significantly reduce maternal and foetal morbidity, explaining the importance of early identification.⁴ Once PE installs, the only curative treatment is delivery. Placenta-mediated adverse pregnancy outcomes risk factors are now well known, but there is no validated screening strategy for predicting the occurrence of placenta-mediated adverse pregnancy outcomes in these high-risk patients.^{5,6}

Recently, new pathophysiological approaches to placenta-mediated adverse pregnancy outcomes were proposed. The pathophysiology goes through endothelial dysfunction. It results from an imbalance of angiogenic factors and is responsible for maternal signs of *de novo* hypertension and proteinuria after 20 weeks of gestation.^{7,8} Vascular endothelial growth factor (VEGF) is a specific mitogen for endothelial cells and plays a role in promoting angiogenesis. Soluble fms-like tyrosine kinase (sFlt1) is a receptor able to bind VEGF and

placental growth factor (PlGF) and thus antagonising their actions. Studies confirm that sFlt1 excess induces an anti-angiogenic state in the serum of women with PE, which can be raised by exogenous introduction of VEGF and PlGF.⁷ Increased sFlt1 and decreased PlGF are associated with the risk of PE and the magnitude of these biological abnormalities is correlated with the severity of PE and IUGR.^{9,10} But the absolute value of these proteins vary between studies. These biological abnormalities are also present in cases of *in utero* foetal death¹¹ and recurrent idiopathic pregnancy loss (≥ 2).¹² From these initial results, other placental proteins have been studied, including soluble endoglin (sEng), whose presence in excess leads to endothelial dysfunction responsible for PE^{7,8,13} and IUGR.¹⁴ These laboratory abnormalities seem to precede onset of PE and therefore could predict the risk of occurrence of these pathologies. sEng and sFlt1 measured in preeclamptic women are raised 6 to 8 weeks before symptoms.^{12,13} A recent meta-analysis included studies whose eligibility criteria were that the sampling occurred before the clinical diagnosis of PE and before 30 weeks. The meta-analysis showed that PlGF and VEGF levels were significantly lower and sFlt1 and sEng levels were significantly higher before PE. For sFlt1 and PlGF, this difference was even more important when the tests were performed after 19 weeks' gestation. The authors concluded that the sensitivity and specificity of these markers were too low to allow the routine identification of PE; therefore, they should not be used alone.¹⁵ The predictive role of sFlt1, sEng and PlGF levels in women at high risk has also been described^{16,17}, but literature on this high-risk population is much less abundant than on the low-risk population. We find no other study comparing angiogenic factors for prediction of PE and IUGR.

The main objective of our study was to compare these angiogenic factors for prediction of PE and IUGR without PE. The secondary objectives were: (1) to evaluate the level of two angiogenic factors, sFlt1 and sEng, as predictors of placenta-mediated adverse pregnancy outcomes (both PE and IUGR) onset in patients at risk of developing placenta-mediated

adverse pregnancy outcomes (2) to describe the evolution of angiogenic factors during pregnancy between 20 and 36 weeks to determine optimal period for dosing.

MATERIALS AND METHODS

Study population

The AngioPred study is a prospective multicenter cohort study of consecutive pregnant patients at high risk of occurrence or recurrence of placenta-mediated adverse pregnancy outcomes conducted between June 2008 and October 2010 in the Obstetrics and Gynaecology department of Saint Etienne and Nimes University Hospital and Laboratory of Haematology Nimes University Hospital.

Inclusion criteria were: (1) diabetes (in diet or insulin), (2) hypertension (previously treated before pregnancy or hypertension $> 140/90$ twice before 20 weeks), (3) obesity (Body Mass Index ≥ 30) (4) maternal age younger than 18 years or older than 38 years, (5) chronic kidney disease (proteinuria $\geq 300\text{mg}$ for 24 hours or creatinine $\geq 1.5\text{ mg/dl}$ before 20 weeks), (6) lupus, (7) antiphospholipid syndrome, (8) family history of cardiovascular disease or venous thromboembolism (VTE,) (9) biological thrombophilia without personal history of VTE or personal placenta-mediated adverse pregnancy outcomes, (10) a history of one or more episodes of placenta-mediated adverse pregnancy outcomes or (11) personal history of VTE. The exclusion criteria were: (1) twin pregnancies; (2) patients with a history of foetal death due to congenital malformations, Rh incompatibility or infectious cause; (3) IUGR whose etiology was a chromosomal, gene or infectious abnormality or (4) the presence of a placenta-mediated adverse pregnancy outcomes or VTE at inclusion.

The protocol was approved by the Ethics Committee and Institutional Review Board of the University Hospital of Saint Etienne in March 2008, and all subjects provided informed consent.

Study design and evaluation criteria

All patients were included before 20 weeks of gestation and gave their written consent. At inclusion, demographic data were collected by interview, physical examination and consultation of obstetrical medical record. Blood samples provided in the protocol were taken in complement to the conventional laboratory tests for monitoring pregnancy.

The primary outcome was the occurrence or recurrence of placenta-mediated adverse pregnancy outcomes diagnosed according to the following criteria: (1) PE defined according to the ISSHP (International Society for the Study of Hypertension in Pregnancy criteria) with or without IUGR;¹⁸ (2) IUGR without PE defined by a birthweight $\leq$ to the 10th customised centile with umbilical Doppler abnormalities. Preeclampsia was diagnosed if a previously normotensive woman had 2 consecutive (4 hours apart) DBP measurements of >90 mm Hg after the 20th week of gestation and proteinuria >300 mg in a 24-hour urine specimen.

The secondary outcome was the evolution of angiogenic factors during pregnancy between 20 and 36 weeks was also assessed.

Blood collection and laboratory methods

Blood samples were collected in tubes containing 0.129 mol L^{-1} trisodium citrate at the collection centre of University Hospital of Saint Etienne and Nîmes at 20, 24, 28, 32 and 36 weeks, totalling five samples per patient. The samples were sent to laboratories immediately for analysis, and then centrifuged, aliquoted and stored at -80°C . Each analysis was then performed blind to other analyses. All samples from the same patient were grouped in the same series of assays. Analyses were carried out after defrosting for 10 min in a water bath at 37°C and centrifugation at $2500g$. An enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) was performed for the determination of sFlt1 and sEng at 20, 24, 28, 32 and 36 weeks using Quantikine® Elisa Human sVEGF R1/Flt1 and Human Endoglin/CD 105 commercial kits (R & D Systems, Abingdom, United Kingdom).

Statistical analysis

Statistical analysis was performed using SAS 9.4 and R software for figures. Qualitative data were described by absolute and relative frequencies (expressed in %). Quantitative variables were described by mean and standard deviation, and median and interquartile range and were compared by Student's *t*-test. In case of a non-normally distributed variable (assessed by Shapiro–Wilk test), a Wilcoxon–Mann–Whitney test was performed. Tests were performed at the adjusted two-sided alpha level of 1% (five times of comparison). Results were summarised by boxplots.

For comparison of sFlt1 and sEng plasma levels between patients with PE, with IUGR and patients with no placenta-mediated adverse pregnancy outcomes, group differences were assessed using Kruskal–Wallis test. As distribution was skewed, a Dunn post-hoc test was assessed for differences between two groups. Plasma levels of sFlt1 and sEng were compared between patients who experienced a placenta-mediated adverse pregnancy outcomes and patients who did not have for each visit (20, 24, 28, 32 and 36 weeks). The threshold value of sFlt1 and sEng plasma levels for the prediction of PVP was determined at each gestational age through the receiver operator characteristics (ROC) curve, calculating the area under the curve with 95% confidence intervals (95% CI).⁽¹⁹⁾

RESULTS

Description of the study population

Between June 2008 and October 2010, 200 consecutive pregnant women were included in the study that enabled the analysis of 934 plasma samples. The missing samples correspond to 2 patients having delivered before 24 weeks, 8 before 28 weeks, 12 before 32 weeks and 25 before 36 weeks. Only 4 patients have occasionally missed a sample. All samples were collected prior to the event. Demographics and inclusion criteria are summarised in Table 1.

History of placenta-mediated adverse pregnancy outcomes concerned 68.9% of the study population.

During the study, 45 patients had a placenta-mediated adverse pregnancy outcomes, with 24 PE, including 9 associated with IUGR and 21 IUGRs without PE. The patients with placenta-mediated adverse pregnancy outcomes had significantly more chronic hypertension and more placenta-mediated adverse pregnancy outcomes history than patients without. Other demographic characteristics and inclusion criteria were not placenta-mediated adverse pregnancy outcomes statistically different between patients with and without.

Prediction of PE with or without IUGR and IUGR without PE

All assay results of sFlt1 and sEng are presented in Table 2. Kruskal-Wallis test of sFlt1 plasma levels in the three groups showed significant difference at 28, 32 and 36 weeks (respectively $p = 0.007, 0.0003, 0.001$). With a Dunn post-hoc test, plasma levels of sFlt1 were significantly higher in patient with PE compared to patients with no complication at 28, 32 and 36 week (respectively $p = 0.03, 0.001, 0.002$). Plasma levels of sFlt1 were significantly higher in patient with IUGR compared to patients with no complication at 28, 32 and 36 weeks (respectively $p = 0.01, 0.01, 0.002$). The difference did not reach significance at 20 and 24 weeks despite a trend to higher levels in patients with PE and with IUGR. Patients with PE compared to thus with IUGR have no significantly different plasma level of sFlt1 at each stage of pregnancy.

Kruskal-Wallis test of sEng plasma levels in the three groups showed significant difference at 28, 32 and 36 weeks (respectively $p = 0.008, 0.0004, 0.002$). With a Dunn post-hoc test, plasma levels of sEng were significantly higher in patient with PE compared to patients with no complication at 28, 32 and 36 weeks (respectively $p = 0.03, 0.005, 0.003$). Plasma levels of sEng were significantly higher in patient with IUGR compared to patients with no

complication only at 28, 32 and 36 weeks (respectively $p = 0.02, 0.002, 0.14$). The difference did not reach significance at 20 and 24 weeks despite a trend to higher levels in patients with PE and IUGR. Patients with PE compared to thus with IUGR have no significantly higher plasma level of sEng at each stage of pregnancy.

Prediction of placenta-mediated adverse pregnancy outcomes

Plasma levels of sFlt1 were significantly higher in patients with placenta-mediated adverse pregnancy outcomes compared to other patients at 28 ($p = 0.002$), 32 ($p < 0.0001$) and 36 weeks ($p = 0.0007$). The difference did not reach significance at 20 weeks despite a trend to higher levels in patients with placenta-mediated adverse pregnancy outcomes (mean difference (MD) 429.9 pg/mL, 95% CI -229.1 to 1088.9). sEng plasma levels were significantly higher in patients with placenta-mediated adverse pregnancy outcomes than other patients at 28 ($p = 0.002$), 32 ($p < 0.0001$) and 36 weeks ($p = 0.0003$). The difference did not reach significance at 20 and 24 weeks despite a trend to higher levels in patients with placenta-mediated adverse pregnancy outcomes (20 weeks MD 2.14 ng/mL, 95% CI 0.04 to 4.25; 24 weeks MD 3.93 ng/mL, 95% CI -0.76 to 8.62). These results are summarized in Figure 1 for sFlt1 and Figure 2 for sEng.

ROC curves were used to calculate threshold values coating the better sensitivity and specificity for predicting placenta-mediated adverse pregnancy outcomes, PE and IUGR. The area under the curve (AUC) were almost all equal 0.5 to 0.7 with low sensitivity and high specificity (please see Table on <http://hyper.ahajournals.org>, S1 which includes ROC curves analysis). There was also very high negative predictive value between 80 and 96 % with the same result for PE and IUGR. These tests were more effective in late pregnancy.

DISCUSSION

Among these high-risk patients, 22.5% presented a placenta-mediated adverse pregnancy outcomes, with 12% being preeclampsia and 15.5% being intrauterine growth restriction. This preeclampsia rate is similar to that reported in high-risk women in other studies.^{20,21} We find no other report comparing maternal serum angiogenic factors, sFlt1 and sEng, for the prediction of both preeclampsia and intrauterine growth restriction in a high-risk pregnant population. We have shown in this high-risk population a significant increase in plasma levels of sFlt1 and sEng at each stage of pregnancy in patients who will experience a PE and only later at 32 and 36 weeks for IUGR compared to patients who will not have placenta-mediated adverse pregnancy outcomes. We also have shown higher plasma levels of sFlt1 and sEng for patients with PE compare to patients with IUGR at each stage of pregnancy.

Diagnostic value

Several studies have investigated the diagnostic value and the predictive role of angiogenic factors in a suspected PE. Rana *et al.* has first measured plasma levels of sFlt1, PlGF and sFlt1/PlGF in patients admitted for suspected PE before 34 weeks. The sFlt1 / PlGF ratio was higher in case of an unfavorable outcome within 15 days.²² The same team then studied sEng plasma levels which were significantly higher.²³ Verlorhen *et al.* compared sFlt1 and PlGF plasma levels measured by automated method in 71 patients with PE versus 595 control patients. The sFlt1 / PlGF ratio had an AUC of 0.95 for the prediction of PE.²⁴ The same team compared normal pregnancies, pregnancies complicated by PE, patients with pregnancy hypertension and patients with chronic hypertension. The sFlt1/PlGF ratio was increased in all groups compared to controls. A very high ratio was associated with a decrease in the period until delivery.²⁵ The diagnosis of PE is often obvious, the treatment is symptomatic and the outcome is usually a short-term delivery which allow little place for a diagnostic or prognosis test.

Predictive value in low-risk population

sEng and sFlt1 measured in preeclamptic women are raised 6 to 8 weeks before symptoms.^{13,26} Kusanovic *et al.* study analyzed the rate of sFlt1, sEng and PlGF at two periods 6-15 weeks and 20-25 weeks in 1622 patients at low risk. The sFlt1 / PlGF ratio had an excellent predictive value for early PE. A recent meta-analysis included study whose eligibility criteria were that the sampling occurred before the clinical diagnosis of PE and before 30 weeks showed that PlGF and VEGF levels were significantly lower and sFlt1 and sEng levels were significantly higher before PE. For sFlt1 and PlGF, this difference was even more important that the tests were made after 19 weeks. Sensitivity and specificity were identical and 75% respectively for PlGF, 72% for sFlt1 and 67% for sEng. The authors concluded that the sensitivity and specificity of these markers were too low to allow the identification of PE in routine and that they should not therefore be used alone.¹⁵

Predictive value in high-risk population

The literature on this topic comes from the team of Maynard and Moore Simas. A first study analysed the rate of sFlt1, PlGF and sFlt1/PlGF ratio in 94 high-risk patients during 3 periods: 22–26 weeks, 27–30 weeks and 31–35 weeks. Twelve PE (12.7%) had been retained, including five before 34 weeks and seven after 34 weeks. The authors found an increased rate of sFlt1 and decreased rate of PlGF in cases of PE. For early PE, the rates were modified from 22 weeks and for late PE after 31 weeks. The sFlt1/PlGF ratio was better than the only marker for the prediction of PE.²¹ We found the same results in a larger study population and with more events.

The same authors then compared the dosages of sFlt1, PlGF and sEng in high-risk and low-risk patients in the same gestational windows. In multivariate analysis, the best performing

models for the prediction of early PE were: (1) determination of sFlt1 in the second gestational window with an AUC of 0.85, a sensitivity of 67% and a specificity of 96%, and (2) sFlt1 dosing in the first gestational window associated with changes of sEng between the two gestational windows with an AUC of 0.91, a sensitivity of 86% and a specificity of 96%.²⁰ The same results were found by Teixeira *et al.*²⁷

The third study from the same team analysed variations of angiogenic factors according to inclusion risk factors. Angiogenic factors were particularly changed in the event of multiple pregnancy and PE history.²⁸

Powers *et al.* analysed the dosage of sFlt1, PIGF and sEng among 993 at-risk patients. The rates were significantly different in the third trimester among patients who experienced PE compared to those who did not. By correlating to the occurrence term of PE, only sFlt1 was significantly higher 2–5 weeks before the clinical diagnosis of PE and only in patients with PE history.¹⁷ The population of high-risk patients appears to be that in which the angiogenic markers could provide the most benefit.

The sample size in this study is small, with only 45 patients developing placenta-mediated adverse pregnancy outcomes. Even if we have no preventive treatment and no curative treatment for placenta-mediated adverse pregnancy outcomes, reliable prediction of preeclampsia would allow for closer prenatal monitoring, earlier diagnosis and expeditious intervention, with steroids for foetal lung, magnesium for seizure prophylaxis, antihypertensive medications and bed rest.²¹ All consecutive patients meeting the eligibility criteria and agreeing to participate in the study were included. Each of the clinical, biological and ultrasound results were evaluated centrally, blinded to the development of placenta-mediated adverse pregnancy outcomes.

In high-risk population, angiogenic factors are disturbed before the onset of preeclampsia and this is true for intrauterine growth restriction. However, sensitivity remains low but the

negative predictive value is good means that it is very unlikely that placenta-mediated adverse pregnancy outcomes will occur in the case of a negative test. This could have clinical utility in avoiding unnecessary intensive monitoring in patients at high risk. A study combining clinical, sonographic and dosage data of angiogenic factors for the prediction of placenta-mediated adverse pregnancy outcomes on high-risk patients seems necessary to establish an effective screening strategy.

Supplementary information is available at JPER's website

CONFLICT OF INTEREST

The authors declare no conflict of interest.

REFERENCES

1. Duley L. The global impact of pre-eclampsia and eclampsia. *Semin Perinatol.* 2009;33:130-7.
2. Khan KS, Wojdyla D, Say L, Gülmezoglu AM, Van Look PFA. WHO analysis of causes of maternal death: a systematic review. *Lancet.* 2006;367:1066-74.
3. Chang J, Elam-Evans LD, Berg CJ, Herndon J, Flowers L, Seed KA *et al.* Pregnancy-related mortality surveillance--United States, 1991--1999. *Morb Mortal Wkly Rep Surveill Summ Wash DC* 2002. 2003;52:1-8.
4. Chauhan SP, Cole J, Sanderson M, Magann EF, Scardo JA. Suspicion of intrauterine growth restriction: Use of abdominal circumference alone or estimated fetal weight below 10%. *J Matern-Fetal Neonatal Med Off J Eur Assoc Perinat Med Fed Asia Ocean Perinat Soc Int Soc Perinat Obstet.* 2006;19:557-62.
5. Eskenazi B, Fenster L, Sidney S. A multivariate analysis of risk factors for preeclampsia. *JAMA J Am Med Assoc.* 1991;266:237-41.
6. Duckitt K, Harrington D. Risk factors for pre-eclampsia at antenatal booking: systematic review of controlled studies. *BMJ.* 2005;330:565.
7. Maynard SE, Min J-Y, Merchan J, Lim K-H, Li J, Mondal S *et al.* Excess placental soluble fms-like tyrosine kinase 1 (sFlt1) may contribute to endothelial dysfunction, hypertension, and proteinuria in preeclampsia. *J Clin Invest.* 2003;111:649-58.
8. Venkatesha S, Toporsian M, Lam C, Hanai J-I, Mammoto T, Kim YM *et al.* Soluble endoglin contributes to the pathogenesis of preeclampsia. *Nat Med.* 2006;12:642-9.

9. Schlembach D, Wallner W, Sengenberger R, Stiegler E, Mörtl M, Beckmann MW *et al*. Angiogenic growth factor levels in maternal and fetal blood: correlation with Doppler ultrasound parameters in pregnancies complicated by pre-eclampsia and intrauterine growth restriction. *Ultrasound Obstet Gynecol Off J Int Soc Ultrasound Obstet Gynecol*. 2007;29:407-13.
10. Widmer M, Villar J, Benigni A, Conde-Agudelo A, Karumanchi SA, Lindheimer M. Mapping the theories of preeclampsia and the role of angiogenic factors: a systematic review. *Obstet Gynecol*. 2007;109:168-80.
11. Espinoza J, Chaiworapongsa T, Romero R, Kim YM, Kim GJ, Nien JK *et al*. Unexplained fetal death: another anti-angiogenic state. *J Matern-Fetal Neonatal Med Off J Eur Assoc Perinat Med Fed Asia Ocean Perinat Soc Int Soc Perinat Obstet*. 2007;20:495-507.
12. Germain AM, Romanik MC, Guerra I, Solari S, Reyes MS, Johnson RJ *et al*. Endothelial dysfunction: a link among preeclampsia, recurrent pregnancy loss, and future cardiovascular events? *Hypertension*. 2007;49:90-5.
13. 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;355:992-1005.
14. Stepan H, Krämer T, Faber R. Maternal plasma concentrations of soluble endoglin in pregnancies with intrauterine growth restriction. *J Clin Endocrinol Metab*. 2007;92:2831-4.
15. Kleinrouweler CE, Wiegerinck MMJ, Ris-Stalpers C, Bossuyt PMM, van der Post JAM, von Dadelszen P *et al*. Accuracy of circulating placental growth factor, vascular

- endothelial growth factor, soluble fms-like tyrosine kinase 1 and soluble endoglin in the prediction of pre-eclampsia: a systematic review and meta-analysis. *BJOG Int J Obstet Gynaecol.* 2012;119:778-87.
16. Moore AG, Young H, Keller JM, Ojo LR, Yan J, Simas TAM *et al.* Angiogenic biomarkers for prediction of maternal and neonatal complications in suspected preeclampsia. *J Matern-Fetal Neonatal Med Off J Eur Assoc Perinat Med Fed Asia Ocean Perinat Soc Int Soc Perinat Obstet.* 2012;25:2651-7.
 17. Powers RW, Jeyabalan A, Clifton RG, Van Dorsten P, Hauth JC, Klebanoff MA *et al.* Soluble fms-Like tyrosine kinase 1 (sFlt1), endoglin and placental growth factor (PlGF) in preeclampsia among high risk pregnancies. *PLoS One.* 2010;5:e13263.
 18. Brown MA, Lindheimer MD, de Swiet M, Van Assche A, Moutquin JM. The classification and diagnosis of the hypertensive disorders of pregnancy: statement from the International Society for the Study of Hypertension in Pregnancy (ISSHP). *Hypertens Pregnancy Off J Int Soc Study Hypertens Pregnancy.* 2001;20:IX-XIV.
 19. Margolis DJ, Bilker W, Boston R, Localio R, Berlin JA. Statistical characteristics of area under the receiver operating characteristic curve for a simple prognostic model using traditional and bootstrapped approaches. *J Clin Epidemiol.* 2002;55:518-24.
 20. Moore Simas TA, Crawford SL, Bathgate S, Yan J, Robidoux L, Moore M *et al.* Angiogenic biomarkers for prediction of early preeclampsia onset in high-risk women. *J Matern-Fetal Neonatal Med Off J Eur Assoc Perinat Med Fed Asia Ocean Perinat Soc Int Soc Perinat Obstet.* 2013;

21. Moore Simas TA, Crawford SL, Solitro MJ, Frost SC, Meyer BA, Maynard SE. Angiogenic factors for the prediction of preeclampsia in high-risk women. *Am J Obstet Gynecol.* 2007;197:244.e1-8.
22. 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;125:911-9.
23. Rana S, Cerdeira AS, Wenger J, Salahuddin S, Lim K-H, Ralston SJ *et al.* Plasma Concentrations of Soluble Endoglin versus Standard Evaluation in Patients with Suspected Preeclampsia. *PLoS ONE [Internet].* 2012
24. Verlohren S, Herraiz I, Lapaire O, Schlembach D, Zeisler H, Calda P *et al.* New Gestational Phase-Specific Cutoff Values for the Use of the Soluble fms-Like Tyrosine Kinase-1/Placental Growth Factor Ratio as a Diagnostic Test for Preeclampsia. *Hypertension.* 2013;
25. Verlohren S, Herraiz I, Lapaire O, Schlembach D, Moertl M, Zeisler H *et al.* The sFlt-1/PlGF ratio in different types of hypertensive pregnancy disorders and its prognostic potential in preeclamptic patients. *Am J Obstet Gynecol.* 2012;206:58.e1-8.
26. Salahuddin S, Lee Y, Vadnais M, Sachs BP, Karumanchi SA, Lim K-H. Diagnostic utility of soluble fms-like tyrosine kinase 1 and soluble endoglin in hypertensive diseases of pregnancy. *Am J Obstet Gynecol.* 2007;197:28.e1-6.
27. Teixeira PG, Reis ZSN, Andrade SP, Rezende CA, Lage EM, Velloso EP *et al.* Presymptomatic prediction of preeclampsia with angiogenic factors, in high risk pregnant women. *Hypertens Pregnancy Off J Int Soc Study Hypertens Pregnancy.* 2013;32:312-20.

28. Maynard SE, Crawford SL, Bathgate S, Yan J, Robidoux L, Moore M *et al.* Gestational angiogenic biomarker patterns in high risk preeclampsia groups. *Am J Obstet Gynecol.* 2013;209:53.e1-9.

Figure 1: Maternal serum levels of sFlt1 by gestational age and whether or not PVP occurred in high-risk pregnant women. The lower and upper limits of the box represent the first and third quartiles respectively and the heavy line inside the box the median. The horizontal line at the bottom and at the top of each plot represent the value of the lower and upper quartiles respectively. The circles represent the points that fall outside the nominal range of the data inferred from the upper and lower quartiles. One value over 25000 picog/ml was observed in the PVP group at 24, 28 and 36 weeks but is out of the figure. P values are for comparisons between women with PVP and those with no PVP.

Figure 2: Maternal serum levels of sEng by gestational age and whether or not PVP occurred in high-risk pregnant women. The lower and upper limits of the box represent the first and third quartiles respectively and the heavy line inside the box the median. The horizontal line at the bottom and at the top of each plot represent the value of the lower and upper quartiles respectively. The circles represent the points that fall outside the nominal range of the data inferred from the upper and lower quartiles.. One value over 100 ng/ml was observed in the PVP group at 24, 28 and 36 weeks but is out of the figure. P values are for comparisons between women with PVP and those with no PVP.

Supplementary table S1. Table that illustrates ROC curves analysis of plasma levels of sFlt1 and Seng for predicting PVP, PE and IUGR at each gestational age.

Table 1: Patient characteristics at inclusion

	Total 200 patients	PVP 45 patients	No PVP 155 patients	P value
Age (years)				
mean $\pm$ SD	31.8 $\pm$ 5.0	31.4 $\pm$ 5.1	31.9 $\pm$ 5.0	0.62
median (Q1–Q3)	31.4 (28.1–35.7)	31.5 (27.8–34.7)	31.4 (28.1–36.1)	
Gestity				
mean $\pm$ SD	2.9 $\pm$ 1.9	2.9 $\pm$ 2.0	2.9 $\pm$ 1.9	0.80
median (Q1–Q3)	2 (1–4)	2 (1–4)	2 (1–4)	
Parity				
mean $\pm$ SD	1.2 $\pm$ 0.9	1.3 $\pm$ 0.8	1.2 $\pm$ 1.0	0.59
median (Q1–Q3)	1 (1–2)	1 (1–2)	1 (1–2)	
BMI (Kg/m ²)				
mean $\pm$ SD	25.4 $\pm$ 6.3	26.1 $\pm$ 6.3	25.2 $\pm$ 6.3	0.26
median (Q1–Q3)	23.5 (20.9–28.2)	25.7 (21.3–28.9)	23.3 (20.9–27.5)	
Smoking, n (%)	26 (13.4)	7 (15.6)	19 (12.8)	0.63
BMI > 30 (Kg/m ²)	37 (19.4)	9 (21.4)	28 (18.8)	0.70
Diabetes, n (%)	8 (4.1)	3 (6.7)	5 (3.3)	0.32
Kidney disease, n (%)	5 (2.6)	2 (4.4)	3 (2.0)	0.36
Hypertension, n (%)	18 (9.2)	10 (22.2)	8 (5.3)	0.001
Lupus, n (%)	15 (7.7)	2 (4.4)	13 (8.6)	0.36

Antiphospholipid Syndrome, n (%)	6 (3.1)	1 (2.2)	5 (3.3)	0.70
Personal history of VTE, n (%)	38 (19.3)	7 (15.6)	31 (20.4)	0.47
Personal history of PVP, n (%)	135 (68.9)	38 (84.4)	97 (64.2)	0.01
Familial history of cardiovascular disease or VTE, n (%)	39 (19.9)	6 (13.3)	33 (21.9)	0.21

SD: standard deviation; Q1: 1st quartile; Q3: 3rd quartile; PVP: Placental Vascular Pathology or placenta-mediated adverse pregnancy outcomes

Table 2: Descriptive analysis of plasma levels of sFlt1 and sEng for each gestational age. Mean $\pm$ Standard Deviation

	No PVP N= 155		PVP	Kruskal- Wallis test P value	Post-hoc analysis
		Intrauterine growth restriction without PE N= 21	Preeclampsia N=24		no PVP vs PE [*] no PVP vs IUGR [*] IUGR vs PE [*]
sFlt1 (pg/ml)					
20 weeks					
mean $\pm$ SD	1064 $\pm$ 518	1217 $\pm$ 489	1737 $\pm$ 3040	0.25	0.91 [*] ; 0.1 [*] ; 0.17 [*]
median (Q1–Q3)	947 (667–1310)	1125 (912–1621)	860 (601–1433)		
24 weeks					
mean $\pm$ SD	1165 $\pm$ 566	1256 $\pm$ 449	2802 $\pm$ 6005	0.45	0.76 [*] ; 0.21 [*] ; 0.45 [*]
median (Q1–Q3)	1060 (739–1369)	1148 (1000–1372)	944(579–2191)		

28 weeks

mean $\pm$ SD	1299 $\pm$ 600	1673 $\pm$ 661	3694 $\pm$ 5664	0.007	0.03 [*] ; 0.01 [*] ; 0.72 [*]
median (Q1–Q3)	1195 (885–1603)	1544 (1309–2101)	1470 (881–2746)		

32 weeks

mean $\pm$ SD	2049 $\pm$ 1217	3611 $\pm$ 2527	5460 $\pm$ 4221	0.0003	0.001 [*] ; 0.01 [*] ; 0.41 [*]
median (Q1–Q3)	1776 (1308–2452)	2881 (1659–5027)	4840 (2145–7741)		

36 weeks

mean $\pm$ SD	4817 $\pm$ 3589	8004 $\pm$ 5485	10420 $\pm$ 8589	0.001	0.002 [*] ; 0.002 [*] ; 0.60 [*]
median (Q1–Q3)	3958 (2588–5686)	5834 (4188–11781)	5838 (4244–14991)		

sEng (ng/ml)

20 weeks

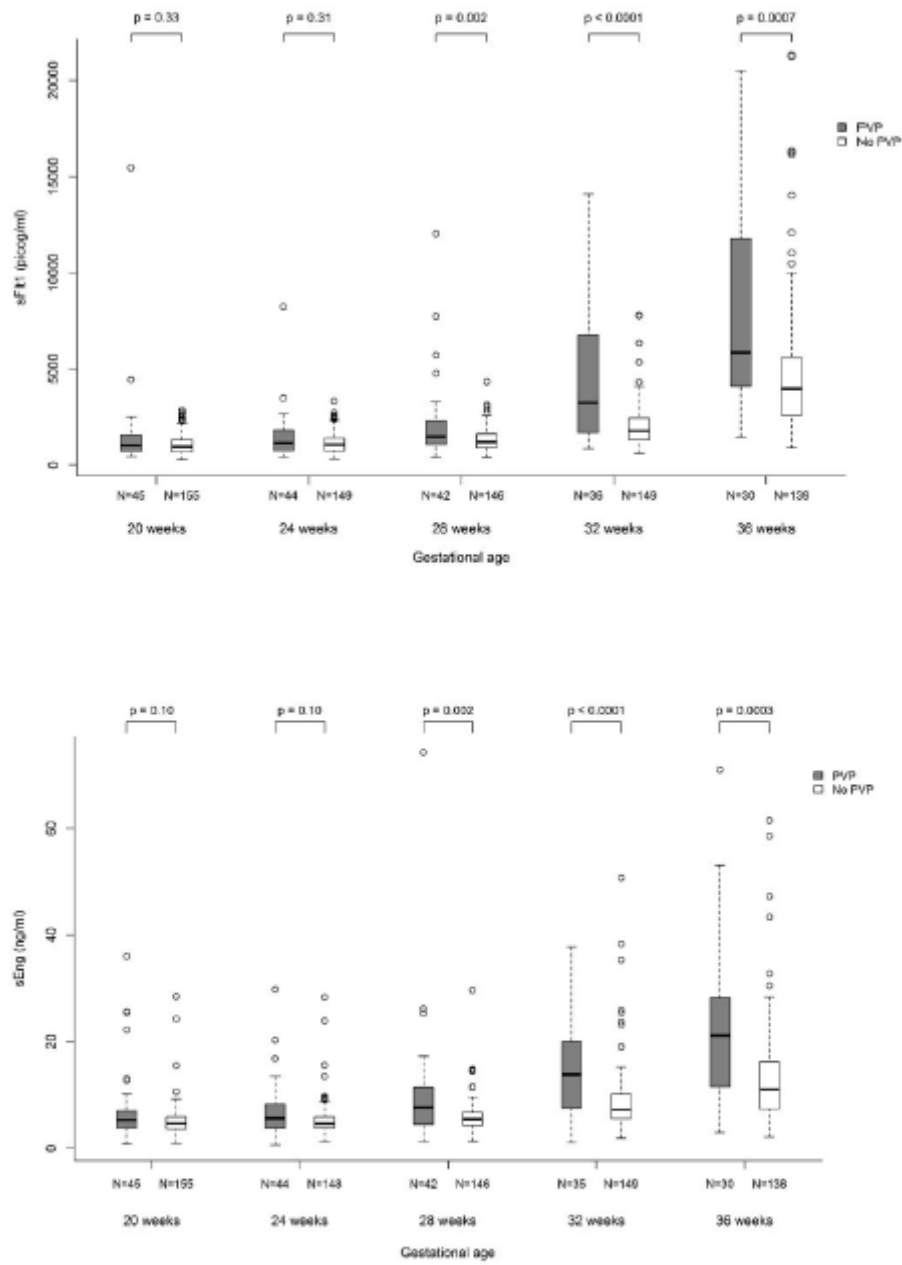
mean $\pm$ SD	5.10 $\pm$ 3.03	7.14 $\pm$ 6.1	7.32 $\pm$ 7.86	0.21	0.4 [*] ; 0.1 [*] ; 0.51 [*]
median (Q1–Q3)	4.63 (3.62–5.87)	5.56 (4.15–7.03)	4.87 (3.64–6.89)		

24 weeks

PARTIE EXPERIMENTALE

mean $\pm$ SD	5.22 $\pm$ 3.12	6.07 $\pm$ 4.42	11.96 $\pm$ 21.26	0.14	0.05 [*] ; 0.68 [*] ; 0.25 [*]
median (Q1–Q3)	4.59 (3.76–5.87)	5.58 (3.67–6.85)	6.0 (3.97–9.65)		
28 weeks					
mean $\pm$ SD	6.01 $\pm$ 3.07	8.59 $\pm$ 5.49	16.45 $\pm$ 25.55	0.008	0.03 [*] ; 0.02 [*] ; 0.88 [*]
median (Q1–Q3)	5.45 (4.24–6.77)	7.71 (5.01–10.16)	8.88 (4.43–12.74)		
32 weeks					
mean $\pm$ SD	8.94 $\pm$ 6.33	13.60 $\pm$ 7.36	17.0 $\pm$ 11.33	0.0004	0.005 [*] ; 0.002 [*] ; 0.94 [*]
median (Q1–Q3)	7.26 (5.53–10.20)	13.95 (8.67–18.16)	12.94 (7.23–26.72)		
36 weeks					
mean $\pm$ SD	13.43 $\pm$ 9.21	19.27 $\pm$ 9.75	35.44 $\pm$ 32.38	0.002	0.003 [*] ; 0.014 [*] ; 0.40 [*]
median (Q1–Q3)	11.03 (7.43–16.21)	21.11 (10.43–27.28)	21.30 (11.92–47.68)		

Data are presented as means $\pm$ SD (standard deviation) and median with 1st (Q1) and 3rd (Q3) quartile. Group differences were assessed using Kruskal-Wallis test. As distribution was skewed, a Dunn post-hoc test was assessed for differences between two groups. PVP: Placental Vascular Pathology or placenta-mediated adverse pregnancy outcomes. ^{*} Post-hoc analysis between groups no PVP vs PE. ^{*} Post-hoc analysis between groups no PVP vs IUGR. ^{*} Post-hoc analysis between groups IUGR vs PE.



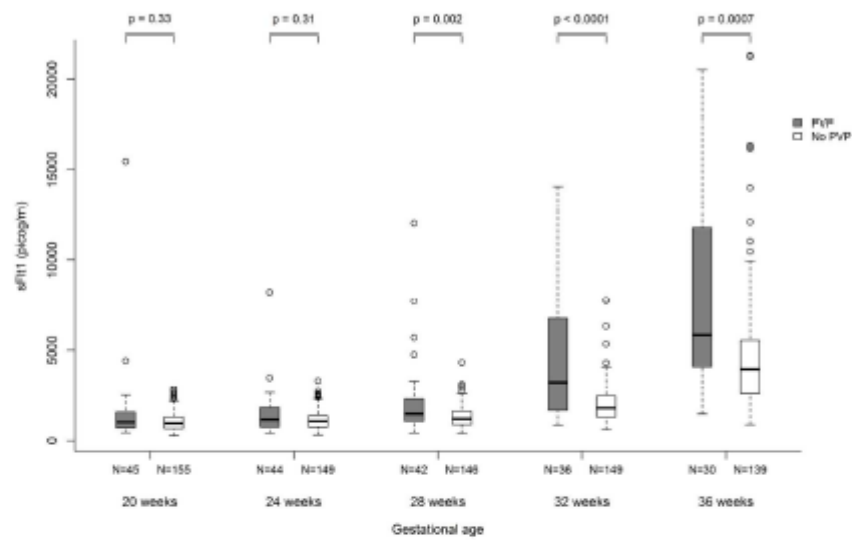


Figure 1: Maternal serum levels of sFlt1 by gestational age and whether or not PVP occurred in high-risk pregnant women. The lower and upper limits of the box represent the first and third quartiles respectively and the heavy line inside the box the median. The horizontal line at the bottom and at the top of each plot represent the value of the lower and upper quartiles respectively. The circles represent the points that fall outside the nominal range of the data inferred from the upper and lower quartiles. One value over 25000 picog/ml was observed in the PVP group at 24, 28 and 36 weeks but is out of the figure. P values are for comparisons between women with PVP and those with no PVP.

66x45mm (600 x 600 DPI)

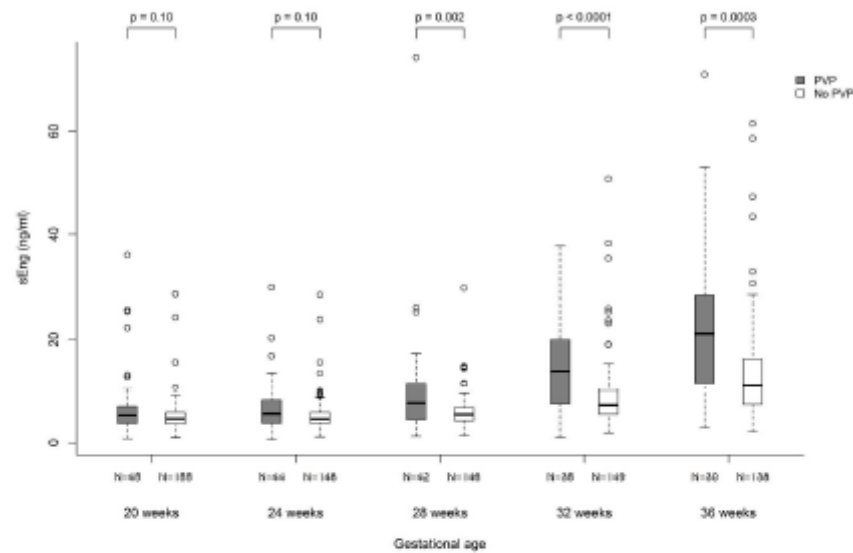


Figure 2: Maternal serum levels of sEng by gestational age and whether or not PVP occurred in high-risk pregnant women. The lower and upper limits of the box represent the first and third quartiles respectively and the heavy line inside the box the median. The horizontal line at the bottom and at the top of each plot represent the value of the lower and upper quartiles respectively. The circles represent the points that fall outside the nominal range of the data inferred from the upper and lower quartiles.. One value over 100 ng/ml was observed in the PVP group at 24, 28 and 36 weeks but is out of the figure. P values are for comparisons between women with PVP and those with no PVP.

199x137mm (300 x 300 DPI)

ONLINE SUPPLEMENT

Supplementary table S1. Table that illustrates ROC curves analysis of plasma levels of sFlt1 and Seng for predicting PVP, PE and IUGR at each gestational age.

			Threshold value	Se (%)	Sp (%)	PPV (%)	NPV (%)	AUC (95% CI)	P value
20 weeks	PVP	sFlt1	1603	24.4	88.4	37.9	80.1	0.55 (0.48; 0.62)	0.35
		sEng	5.95	44.4	77.4	36.4	82.8	0.58 (0.51; 0.65)	0.14
	PE	sFlt1	1673	20.8	89.7	23.8	88.0	0.49 (0.35; 0.63)	0.89
		sEng	6.57	37.5	85.2	28.1	89.8	0.55 (0.40; 0.70)	0.51
	IUGR	sFlt1	909	76.2	45.8	16.0	93.4	0.61 (0.49; 0.74)	0.08
		sEng	5.48	52.4	69.7	19.0	91.5	0.61 (0.47; 0.76)	0.12
24 weeks	PVP	sFlt1	1790	29.5	85.9	38.2	80.5	0.55 (0.48; 0.62)	0.34
		sEng	5.45	56.8	68.2	34.7	84.2	0.58 (0.51; 0.65)	0.16
	PE	sFlt1	2007	34.8	89.9	34.8	89.9	0.52 (0.35; 0.68)	0.84
		sEng	6.37	47.8	83.8	31.4	91.2	0.63 (0.47; 0.78)	0.11
	IUGR	sFlt1	944	85.7	42.3	17.3	95.5	0.59 (0.48; 0.70)	0.12
		sEng	5.52	52.4	68.2	18.6	90.9	0.53 (0.37; 0.69)	0.74
28 weeks	PVP	sFlt1	1266	71.4	56.8	32.3	87.4	0.66 (0.59; 0.73)	0.002
		sEng	8.59	50.0	87.7	53.8	85.9	0.66 (0.58; 0.72)	0.008
	PE	sFlt1	2377	38.1	95.2	53.3	91.4	0.63 (0.48; 0.79)	0.09
		sEng	9.63	47.6	94.5	55.6	92.6	0.64 (0.47; 0.81)	0.11
	IUGR	sFlt1	1307	76.2	58.2	20.8	94.4	0.68 (0.56; 0.81)	0.003
		sEng	6.20	71.4	66.4	23.4	94.2	0.67 (0.52; 0.82)	0.03
32 weeks	PVP	sFlt1	3355	50.0	91.9	60.0	88.4	0.71 (0.64; 0.78)	0.0002
		sEng	12.7	54.3	88.6	52.8	89.2	0.71 (0.64; 0.78)	<0.0001

	PE	sFlt1	4306	56.3	96.0	60.0	95.3	0.75 (0.59; 0.91)	0.002
		sEng	12.8	53.3	87.9	30.8	94.9	0.71 (0.56; 0.86)	0.006
	IUGR	sFlt1	2736	55.0	83.2	30.6	93.2	0.68 (0.53; 0.83)	0.02
		sEng	13.7	55.0	90.6	44.0	93.8	0.72 (0.57; 0.86)	0.003
36 weeks	PVP	sFlt1	3761	86.7	48.2	26.5	94.4	0.70 (0.62; 0.77)	0.001
		sEng	21.0	53.3	87.7	48.5	89.6	0.71 (0.64; 0.78)	0.0004
	PE	sFlt1	11028	45.5	94.2	38.5	95.6	0.73 (0.55; 0.90)	0.01
		sEng	21.2	54.5	87.7	26.1	96.0	0.75 (0.59; 0.91)	0.002
	IUGR	sFlt1	3960	84.2	50.3	18.8	95.9	0.68 (0.54; 0.82)	0.01
		sEng	19.8	57.9	82.6	31.4	93.4	0.69 (0.53; 0.84)	0.02

PVP: Placental Vascular Pathology; PE: Preeclampsia; IUGR: Intrauterine Growth Restriction; Se: sensibility; Sp: specificity; PPV: Positive Predictive Value; NPV: negative predictive value; AUC: area under the curve

1.1.3. Valeur prédictive des facteurs angiogéniques combinés à la mesure des Dopplers utérins à 22SA sur la survenue de pathologies vasculaires placentaires chez des patientes à haut risque: étude ANGIOPRED

Les facteurs angiogéniques sont modifiés avant la survenue d'une PVP. Nous avons intégré les données de ces facteurs et des Dopplers utérins à 22SA afin d'évaluer la performance de cette association pour la prédiction du risque de survenue d'une PVP. Nous attendons la publication des données sur les facteurs angiogéniques pour la soumission de l'article.

Association of angiogenic factors and uterine artery doppler at 22 weeks of gestation for predicting the risk of placenta-mediated adverse pregnancy outcomes: AngioPred prospective multicenter cohort study.

Tiphaine Semay, MD¹, Céline CHAULEUR MD, PhD^{1,2}, Jean-Christophe GRIS MD, PhD^{3,4}, Céline CHAPELLE, MD^{2,5}, Silvy LAPORTE MD, PhD^{2,5}, Tiphaine RAIA-BARJAT MD^{1,2}

¹Department of Gynaecology and Obstetrics, University Hospital, Saint Etienne, France

²INSERM UMR1059, University Jean Monnet, F 42023 Saint Etienne France.

³Laboratory of Haematology, University Hospital, Nîmes, France.

⁴Research Unit EA2992, Montpellier University, Montpellier, France.

⁵Clinical Pharmacology Unit, University Hospital, Saint Etienne, France

The authors report no conflict of interest.

Correspondence:

Tiphaine Raia-Barjat

Department of Gynecology and Obstetrics

Hôpital Nord, University Hospital, Avenue Albert Raimond

42270 Saint Priest en Jarez France

Phone: +33 - 4 - 77 82 86 09

Fax: +33 - 4 - 77 82 89 54

Email: Tiphaine.barjat@chu-st-etienne.fr

Abstract

Objective: The study aimed to evaluate the association of the rate of two angiogenic factors, soluble fms-like tyrosine kinase-1 (sFlt1) and soluble Endoglin (sEng)sFlt1 associated with the analysis of uterine artery Doppler, for the prediction of placenta-mediated adverse pregnancy outcomes onset in high-risk women.

Material and Methods: Prospective multicenter cohort study of two hundred patients at high-risk of occurrence or recurrence of placental vascular pathology conducted between June 2008 and October 2010. Events of interest were foetal death after 20 weeks, preeclampsia, eclampsia, *abruptio placentae*, HELLP syndrome, small for gestational age. Both angiogenic factors, sFlt1 and sEng, and uterine artery Doppler were measured between 22 and 24 weeks.

Results: 200 patients were enrolled, including 45 patients presented a PVP. The presence of bilateral doppler uterine abnormalities (resistance index > 0.60 or notches) was more frequent in the case of PVP ($p < 0.05$). The average rate of sFlt-1 was higher in case of PVP (2064.1 pg/mL versus 1164.8 pg/mL, $p = 0.306$) and also the rate of Seng (9.15 ng/mL versus 5.22 ng/mL, $p = 0.105$). The combination of the increase of both angiogenic factors, and the presence of doppler uterine artery abnormalities predictive the occurrence of a PVP with a sensitivity, specificity, positive predictive value and negative predictive value of 17.8 %, 99.4%, 88.9% and 80.6% respectively.

Conclusion:

Keywords: Angiogenic factors, soluble fms-like tyrosine kinase-1, soluble endoglin, uterine artery Doppler, placental vascular pathology, high-risk

INTRODUCTION

Placental vascular pathologies (PVP) represent a heterogeneous group of multisystemic disorders that can be maternal (preeclampsia (PE), eclampsia, retroplacental hematoma (RPH), hemolysis elevated liver enzymes low platelets (HELLP) syndrome) or fetoplacental (intrauterine growth restriction (IUGR), intrauterine fetal death (IUFD), miscarriage). They are frequent : preeclampsia complicated between 2 and 8% of all pregnancies (1). They are also serious since they are responsible for much of the maternal-fetal morbidity and mortality and major contributors to premature births (2). The PE is accompanied by a premature birth in 15 to 67% of cases, by intrauterine growth restriction in 10 to 25% of cases and by neonatal mortality 1 to 2% (3). Maternal symptoms of PVP combining headache, epigastric pain, visual disturbances, edema, weight gain ... is often brutal, as well as its evolution to more severe forms : renal failure, cerebral edema, hemorrhage, acute pulmonary edema, HELLP syndrome or eclampsia. Besides maternal complications, induced placental hypoperfusion may be responsible for intrauterine growth restriction, oligoamnios, RHP... Two forms of preeclampsia can be distinguished: the early form, or Early Onset, which could be secondary to abnormal placentation with impaired angiogenic balance and later form, or Late Onset, with normal placentation but with a cardiovascular risk (4).

Any strategy to predict and prevent, the occurrence of these potentially serious complications is a major issue for patients and their fetus. The implementation of intensive monitoring, transfer maternity suitable level, antenatal steroids can significantly reduce maternal and fetal morbidity explaining the importance of early identification (5). Once pre-eclampsia installed, the only curative treatment is delivery. PVP risk factors such as PE history, antiphospholipid syndrome (APS), preexisting diabetes, multiple pregnancies, nulliparity, family history, pre-

existing hypertension, obesity, age > 40 years are now well known, but there is no validated screening strategy for predicting the occurrence of PVP in these high risk patients (6,7).

Recently new pathophysiological approaches to pre-eclampsia, intrauterine growth restriction and fetal death have been proposed. The pathophysiology of preeclampsia goes through a responsible endothelial dysfunction of maternal signs of de novo hypertension and proteinuria after 20 weeks of gestation (WG). Current concepts suggest that the pathophysiology of pre-eclampsia and intrauterine growth restriction results from an imbalance of angiogenic factors (8,9).

VEGF (Vascular Endothelial Growth Factor) is a specific mitogen of endothelial cells and plays a role in promoting angiogenesis. The sFlt1 (Fms-like tyrosine soluble kinase) is a receptor capable of binding to VEGF and PlGF (placental growth factor) and thus antagonizing their actions. The studies confirm that an excess of sFlt1 induced an anti-angiogenic state in the serum of women with pre-eclampsia, which can be lifted by the exogenous VEGF and PlGF (8). sFlt1 increased and PlGF decreased are found in case of pre-eclampsia and the importance of these laboratory abnormalities is correlated to the severity of pre-eclampsia and intrauterine growth restriction (10,11). But the absolute value of its proteins varies between studies. These laboratory abnormalities would also be present in case of in utero fetal death (12) and idiopathic miscarriage (≥ 2). (13) Based on these initial results, other placental proteins have been studied as soluble endoglin (sEng) whose presence in excess lead to endothelial dysfunction, responsible of preeclampsia (8,14,15) and intrauterine growth restriction (16). These laboratory abnormalities seem to precede the onset of PVP and therefore could help predict the risk of occurrence of these diseases. The predictive role of dosing sFlt1, sEng and PlGF in women at high risk has also been described (17,18). But the literature on this population is much poorer.

During placentation, terminal uterine vessels, that supply the placenta, see their size increase significantly, while their wall lining of trophoblastic elements and loses its musculo-elastic envelope. It is the elasticity of the arterial walls which is responsible for the early diastolic flow (notch) characteristic of a medium or high resistance arterial flow. The study of the uterine arteries is done by calculating the Pourcelot Resistance Index (RI) with $RI = (S-D) / S$; (S = maximum systolic velocity and D = maximum diastolic velocity). The pulsatility index ($PI = (S-D) / m$, where m = mean velocity) is used less in France but it is the reference index in English countries (19).

During normal pregnancy, a passage of a flow medium resistance to a low resistance flow is systematic, with high diastolic velocity (20). This evolution is often acquired from the 4th month. After this period, the resistance should be low and the RI should always be less than or equal to 0.60 (21). Meanwhile, the early diastolic notch disappears between two months and a half and five months and a half. The persistence of a notch beyond 26 weeks is a sign of poor adaptation of the arterial system with pregnancy. Vascular pregnancy problems are caused by faulty development of this process, so an early pathology. The drop resistance is insufficient and placenta, poorly perfused, sees its own traffic degrading and cause of gestational hypertension and / or fetal growth restriction, which will unfold in the second half of pregnancy (uteroplacental vascular insufficiency). The realization of uterine Doppler is indicated in cases of risk factors for placental vascular pathologies, pathology discovered during the pregnancy like high blood pressure or intrauterine growth restriction (22). In practice screening in low-risk populations, the achievement of Doppler remains controversial, in the absence of established effective preventive treatment.

In a previous study (in press) performed on the same cohort, angiogenic factors and sFlt1 Seng are increased in high-risk patients who experience PVP compared to patients who did not have

PVP and at an early stage in the second trimester. These assays are not currently carried out to identify patients in whom strengthen surveillance and provide corticotherapy. The diagnosis is often late and brutal making complex management. The previous study showed that these markers have too low sensitivity and specificity to be used alone but may be complementary to a screening strategy including clinical and ultrasound with Doppler measurement of the uterine arteries. A study combining clinical, sonographic and dosage of angiogenic factors for the prediction of PVP among its high-risk patients seems necessary to establish an effective screening strategy. Several studies also suggest the importance of the correlation between angiogenic factors and Doppler studies in pre-eclampsia prediction in high risk patients (23,24).

The main objective of our study is to evaluate the rate of two angiogenic factors, sFlt1 and Seng, correlated to the study of uterine Doppler as a predictor of the risk of placental vascular disease in patients at risk of developing a PVP.

MATERIALS AND METHODS

Study population

The AngioPred study is a prospective multicenter cohort study of consecutive patients at high risk of occurrence or recurrence of PVP conducted between June 2008 and October 2010 in the Obstetrics and Gynaecology department of Saint Etienne and Nîmes University Hospital and Laboratory of Haematology Nîmes University Hospital.

Inclusion criteria were: (1) diabetes (in diet or insulin), (2) hypertension (previously treated before pregnancy or hypertension $> 140/90$ twice before 20 weeks), (3) obesity ($BMI \geq 30$) (4) maternal age ≤ 18 years or ≥ 38 years, (5) chronic kidney disease (proteinuria ≥ 300 mg for 24 hours or creatinine ≥ 1.5 mg/dl before 20 weeks), (6) lupus, (7) antiphospholipid syndrome, (8) family history of cardiovascular disease or VTE, (9) biological thrombophilia without personal history of VTE or personal PVP, (10) a history of one or more episodes of PVP or (11) personal history of VTE. The exclusion criteria were: (1) multiple pregnancies; (2) patients with a history of foetal death due to congenital malformations, Rh incompatibility or infectious cause; (3) IUGR whose etiology was a chromosomal, gene or infectious abnormality or (4) the presence of a PVP or VTE at inclusion.

The protocol was approved by the Ethics Committee and Institutional Review Board of the University Hospital of Saint Etienne in March 2008, and all subjects provided informed consent.

Study design and evaluation criteria

All patients gave their written consent. At inclusion, demographic data were collected by interview, physical examination and consultation of obstetrical medical record. Blood samples provided in the protocol were taken in complement to the conventional laboratory tests for monitoring pregnancy.

The primary outcome was the occurrence or recurrence of PVP diagnosed according to the following criteria: (1) foetal death ≥ 20 weeks of gestation unrelated to foetal malformations, abnormal karyotype or infectious disease; (2) PE defined according to the ISSHP (International Society for the Study of Hypertension in Pregnancy criteria);²² (3) eclampsia defined as the presence of convulsions in a preeclamptic patient; (4) *abruptio placentae* defined by the presence of externalised haemorrhage and/or found on pathologic analysis of placentas conducted in a context of preeclampsia, uterine contractions with no relaxation or foetal distress; (5) HELLP syndrome; (6) small for gestational age defined by a birthweight $\leq$ to the 10th customised centile.

Blood collection and laboratory methods

Blood samples were collected in tubes containing 0.129 mol L⁻¹ trisodium citrate at the collection centre of University Hospital of Saint Etienne and Nîmes at 24 weeks. The samples were sent to laboratories immediately for analysis, and then centrifuged, aliquoted and stored at -80°C. Each analysis was then performed blind to other analyses. All samples from the same patient were grouped in the same series of assays. Analyses were carried out after defrosting for 10 min in a water bath at 37°C and centrifugation at 2500g. An enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) was performed for the determination of sFlt1 and sEng at 20, 24, 28, 32 and 36 weeks using Quantikine® Elisa Human sVEGF R1/Flt1 and Human Endoglin/CD 105 commercial kits (R & D Systems, Abingdom, United Kingdom).

Ultrasound data

Ultrasound data were performed at 22 weeks: (1) gestational age, (2) fetal biometrics: biparietal diameter, head circumference, abdominal transverse diameter, abdominal circumference, femur length, fetal weight estimation and (3) Doppler analysis: resistance index (IR) and the presence

of a notch on the right or left uterine artery doppler. The measurement of fetal biometry to 22 weeks and 32 weeks were considered pathological if growth was below the 10th percentile. The uterine Doppler were performed through the abdomen. The uterine arteries were identified in each of the patients by placing the probe in right iliac fossa and left. The recording was made on the ascending part of the uterine artery, at the intersection with the external iliac artery, with the help of color Doppler to properly locate the place of registration in pulsed mode. At least three Doppler spectra were run on each side. The average RI was calculated and the presence or absence of a notch was specified. RI higher than 0.60 was considered pathological.

Statistical analysis

Statistical analysis was performed using SAS 9.4. Qualitative data were described by absolute and relative frequencies (expressed in %). Quantitative variables were described as mean, sensitivity, specificity, PPV, NPV, Likelihood ratio and positive and negative odds ratio. It were compared by Student's *t*-test. In case of a non-normally distributed variable (assessed by Shapiro–Wilk test), a Wilcoxon–Mann–Whitney test was performed. Plasma levels of sFlt1 and sEng were compared between patients who experienced a PVP and patients who did not have PVP. Tests were performed at the adjusted two-sided alpha level of 1% (five times of comparison).

The threshold value of sFlt1 and sEng plasma levels for the prediction of PVP was determined at 24 weeks through the receiver operator characteristics (ROC) curve, calculating the area under the curve with 95% confidence intervals (95% CI).

RESULTS

Description of the study population

Between June 2008 and October 2010, 200 consecutive pregnant women were included in the study. All samples were collected prior to the event. Demographics and inclusion criteria are summarised in Table 1. Median age was 31 years; median gestity was 2. History of PVP concerned 68.9% of the study population.

During the study, 45 patients had a PVP, with 13 PE, 21 IUGR, 9 association PE and IUGRs, 1 association PE and *abruptio placentae* and 1 association PE with IUGR and foetal death. The patients with PVP had significantly more chronic hypertension and more PVP history than patients with no PVP. Other demographic characteristics and inclusion criteria were not statistically different between PVP and no-PVP patients.

Uterine artery Doppler for patients with and without PVP

The data collected during the study of uterine Doppler ultrasound for the second trimester are summarized in Table 2. When the Doppler abnormalities touched both uterine arteries (bilateral RI > 0.60 or presence of bilateral notches), this was significantly associated ($p < 0.05$) to more of PVP.

When abnormal uterine Doppler were used to predict the occurrence of PVP, the sensitivity, specificity, PPV and NPV were respectively 46.7%, 83.2%, 44.7% and 84.3 % (Table 3).

sFlt1 and sEng results for patients with and without PVP

Regarding the determination of angiogenic factors, the average rate at 24 WG of sFlt-1 was 1164.8 pg / ml for patients who did not have PVP against 2064.1 pg / mL in the presence of PVP ($p = 0.306$). The average rate at 24 WG of sEng was 5.22 ng / mL in the absence of PVP and 9.15 ng / mL ($p = 0.105$) for patients who experience PVP. The sensitivity and specificity

of sFlt1 and sEng rates were studied using ROC curve. We chose for our study results corresponding to the assay performed at 24 weeks, to study the correlation with data from the uterine Doppler performed at 22 weeks in the second trimester ultrasound in our population at risk. For sFlt1, the threshold of 1790.1 pg / mL was determined by the ROC curve with a sensitivity of 28.9% and a specificity of 86.5%. For SEng, the threshold of 5.454 ng / mL was defined by the ROC curve with a sensitivity of 53.3% and a specificity of 69.7%. These data are summarized in Table 4.

Association of both angiogenic factors and ultrasound measurement

When using the combination of two factors increased sFlt-1 and angiogenic Seng and the presence of at least one abnormal uterine Doppler, the sensitivity, specificity, PPV and NPV in predicting appearance of PVP are respectively 17.6%, 99.4%, 88.9% and 80.6%. The presence of sFlt-1 rate higher than 1790.1 pg / mL and bilateral notches is associated respectively to a sensitivity, specificity, PPV and NPV of 11.1%, 100%, 100% and 79.5% to predict the risk of occurrence of PVP (Table 5).

The presence of Seng rate higher than 5.454 ng / mL and bilateral notches is associated respectively to a sensitivity, specificity, PPV and NPV of 13.3%, 99.4%, 85.7% and 79.8% to predict the occurrence of PVP.

DISCUSSION

This study shows that the combination of uterine artery Doppler abnormalities with measurement of angiogenic factors is not very effective in the early detection of PVP. Indeed, the sensitivity of our test is low (17.8%). However, the negative predictive value was good (80.6%), meaning that it is very unlikely that PVP occurs in case of a negative test. This has clinical utility in avoiding unnecessary intensive monitoring in patients at high risk. We were looking for combining two criteria (Doppler and angiogenic factors) in our testing to improve its predictive value. We note that a contrario test sensitivity is actually reduced (the sensitivity fall of 46.7% to 17.8% compared to only dopplers anomalies and from 22.2% to 17.8% compared to angiogenic factors assays only).

Predictive value of uterine Doppler only

The pathophysiology of vascular placental pathology is still largely unknown. The most likely hypothesis remains abnormal placentation, leading to many placental ischemia (26).

Cnossen et al. (21), performed in 2008 a large meta-analysis on the importance of the uterine Doppler abnormalities in the screening and diagnosis of pre-eclampsia and intrauterine growth restriction. The best time to carry out these Doppler is the second trimester. In patients at high risk, in the presence of a high resistance index or uterine notch, the sensitivity and specificity is about 86% and 78% respectively. In our study, the sensitivity was lower at 46, 7% and specificity similar to 83.2%. This difference is explained by the lack of power of the study, compared to the large meta-analysis of Cnossen et al.

Predictive value of the angiogenic factors assay only

Several studies have shown the involvement of changes in angiogenic factors in the pathophysiology of PVP. Levine et al. (27) showed in his case-control study that increased sFlt-

1 levels occur during each pregnancy, but that this increase was higher in the case of pre-eclampsia, and about five weeks before the onset of pathology. A big question remains the perfect time and the threshold to choose to perform this assay to predict at best PVP. In our study, the thresholds chosen for the sFlt-1 and Seng were calculated in order to have better sensitivity and specificity to 24 WG for our people; sFlt-1 threshold 1790.1 pg / ml we used is very similar to that used in the study of Kulmala (28) to 1724.5 pg / mL, also studying the Doppler correlation analysis uterine and sFlt-1 assay in predicting risk of PVP. Kulmala et al. making these dosage between 16 and 18 WG and in patients at low risk. We find relatively similar values for the predictive value of sFlt-1 assay for the PVP. Indeed, they found a sensitivity of 57.1% against 28.9% in our study and a specificity of 69.7% versus 86.5%. During his study, Diab et al. (29) showed that the positive predictive value (76%) of sFlt-1 assay to predict the risk of PVP is better when this assay is performed in a high-risk population. On their population that grouped 108 patients, including 33 who have preeclampsia, assay sensitivity of sFlt-1 at 23 WG was 96% and specificity was 76%. We find sensitivity and specificity lower probably because we have considered all PVP event and not just pre-eclampsia.

Predictive value of the combination angiogenic factors assay and analysis of uterine artery Doppler

Abnormal uterine dopplers are a way to predict a progression of pregnancy to placental vascular pathology, and as the variation of certain angiogenic factors. These data were analyzed simultaneously in several studies.

Stubert et al. (31) became interested in pre-eclampsia screening in patients at low risk with dopplers anomalies and showed that the extent of angiogenic factors (placental growth factor and sFlt1) increased specificity (86, 8%) to predict a pre-eclampsia. In its prospective study, Kulmala (28) is interested in 314 patients between 16 and 18 WG for

which it sought abnormal uterine Doppler and assaying sFlt-1. 14 patients had preeclampsia. Their study showed that the association of abnormal uterine Doppler and plasma sFlt-1 assay was not useful for predicting the set of pre-eclampsia with a sensitivity, specificity, PPV and NPV of 28.6%, 95.7%, 23.5% and 96.6%. These values are relatively close to the data found in our study with a sensitivity, specificity, PPV and NPV of 17.8%, 99.4%, 88.9% and 80.6%. Thus, associating two angiogenic factors not mainly improves test efficiency in PVP prediction. Thus, this test is promising screening test but it could be also interesting with a goal of diagnosis. This is what shows Tobinaga and al. in a case-control study (30) : pre-eclamptic patients have fms-like kinase-1 tyrosine rate and Seng increased and they are directly correlated with increased resistance of uterine arteries. Gomez-Arriaga et al. (23) examined the patients with the diagnosis of preeclampsia was suspected or confirmed during pregnancy. During their study, they analysed the pulsatility index of the uterine arteries and sFlt-1/PlGF ratio when the suspicion or diagnosis of pre-eclampsia. Their analysis subgroup covers the 32 patients in whom the diagnosis was confirmed. By combining the two factors, they find as predictive value of pre-eclampsia sensitivity, specificity, PPV and NPV, 67%, 35%, 38% and 64%. These values are quite heterogeneous compared to those found in our study. So the question is what angiogenic factor - it most interesting to dose and any abnormal uterine Doppler is to remember.

Several studies suggest that the correlation of uterine Doppler abnormalities associated with increased angiogenic factors would be relevant for predicting pre-eclampsia early occurring before 34 WG (28,30). Indeed, for example, Kulmala and al. show when dissociating early pre-eclampsia occurring before 34 WG of all pre-eclampsia, the predictive value of Doppler abnormalities of association and the elevation of sFlt-1 levels is greatly improved : the sensitivity increased from 28.6% to 80%. A new analysis of our study population would be interesting to perform.

CONCLUSION

For the moment no preventive treatment exists to effectively treat a PVP in case of very early detection. The interest for further studies on this disease is to rapidly identify patients at very high risk and therefore adapt our surveillance targeted to reduce maternal and neonatal complications related to this disease. Studies concerned with the correlation between the evolution of angiogenic factors and the presence of uterine artery Doppler anomaly are still few and evoke the possibility of early detection of placental vascular disease. These results need to be confirmed by further studies, prospective and higher power. However, initial data are promising in the PVP recidivism screening of patients at risk.

REFERENCES

1. Duley L. The global impact of pre-eclampsia and eclampsia. *Semin Perinatol.* 2009;33:130-7.
2. Khan KS, Wojdyla D, Say L, Gülmezoglu AM, Van Look PFA. WHO analysis of causes of maternal death: a systematic review. *Lancet.* 2006;367:1066-74.
3. Chang J, Elam-Evans LD, Berg CJ, Herndon J, Flowers L, Seed KA, et al. Pregnancy-related mortality surveillance--United States, 1991--1999. *Morb Mortal Wkly Rep Surveill Summ Wash DC* 2002. 2003;52:1-8.
4. Steegers EAP, von Dadelszen P, Duvekot JJ, Pijnenborg R. Pre-eclampsia. *Lancet.* 2010;376:631-44.
5. Chauhan SP, Cole J, Sanderson M, Magann EF, Scardo JA. Suspicion of intrauterine growth restriction: Use of abdominal circumference alone or estimated fetal weight below 10%. *J Matern-Fetal Neonatal Med Off J Eur Assoc Perinat Med Fed Asia Ocean Perinat Soc Int Soc Perinat Obstet.* 2006;19:557-62.
6. Eskenazi B, Fenster L, Sidney S. A multivariate analysis of risk factors for preeclampsia. *JAMA J Am Med Assoc.* 1991;266:237-41.
7. Duckitt K, Harrington D. Risk factors for pre-eclampsia at antenatal booking: systematic review of controlled studies. *BMJ.* 2005;330:565.
8. Maynard SE, Min J-Y, Merchan J, Lim K-H, Li J, Mondal S, et al. Excess placental soluble fms-like tyrosine kinase 1 (sFlt1) may contribute to endothelial dysfunction, hypertension, and proteinuria in preeclampsia. *J Clin Invest.* 2003;111:649-58.
9. Venkatesha S, Toporsian M, Lam C, Hanai J, Mammoto T, Kim YM, et al. Soluble endoglin contributes to the pathogenesis of preeclampsia. *Nat Med.* 2006;12:642-9.
10. Schlembach D, Wallner W, Sengenberger R, Stiegler E, Mörtl M, Beckmann MW, et al. Angiogenic growth factor levels in maternal and fetal blood: correlation with Doppler

ultrasound parameters in pregnancies complicated by pre-eclampsia and intrauterine growth restriction. *Ultrasound Obstet Gynecol Off J Int Soc Ultrasound Obstet Gynecol.* 2007;29:407-13.

11. Widmer M, Villar J, Benigni A, Conde-Agudelo A, Karumanchi SA, Lindheimer M. Mapping the theories of preeclampsia and the role of angiogenic factors: a systematic review. *Obstet Gynecol.* 2007;109:168-80.

12. Espinoza J, Chaiworapongsa T, Romero R, Kim YM, Kim GJ, Nien JK, et al. Unexplained fetal death: another anti-angiogenic state. *J Matern-Fetal Neonatal Med Off J Eur Assoc Perinat Med Fed Asia Ocean Perinat Soc Int Soc Perinat Obstet.* 2007;20:495-507.

13. Germain AM, Romanik MC, Guerra I, Solari S, Reyes MS, Johnson RJ, et al. Endothelial dysfunction: a link among preeclampsia, recurrent pregnancy loss, and future cardiovascular events? *Hypertension.* 2007;49:90-5.

14. Venkatesha S, Toporsian M, Lam C, Hanai J, Mammoto T, Kim YM, et al. Soluble endoglin contributes to the pathogenesis of preeclampsia. *Nat Med.* 2006;12:642-9.

15. 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;355:992-1005.

16. Stepan H, Krämer T, Faber R. Maternal plasma concentrations of soluble endoglin in pregnancies with intrauterine growth restriction. *J Clin Endocrinol Metab.* 2007;92:2831-4.

17. Moore AG, Young H, Keller JM, Ojo LR, Yan J, Simas TAM, et al. Angiogenic biomarkers for prediction of maternal and neonatal complications in suspected preeclampsia. *J Matern-Fetal Neonatal Med Off J Eur Assoc Perinat Med Fed Asia Ocean Perinat Soc Int Soc Perinat Obstet.* 2012;25:2651-7.

18. Powers RW, Jeyabalan A, Clifton RG, Van Dorsten P, Hauth JC, Klebanoff MA, et al. Soluble fms-Like tyrosine kinase 1 (sFlt1), endoglin and placental growth factor (PlGF) in preeclampsia among high risk pregnancies. *PloS One.* 2010;5:e13263.

19. Échographie en pratique obstétricale - 9782294731730 | Elsevier Masson - Livres, ebooks, revues et traités EMC pour toutes spécialités médicales et paramédicales
20. Harman CR, Baschat AA. Comprehensive assessment of fetal wellbeing: which Doppler tests should be performed? *Curr Opin Obstet Gynecol*. 2003;15:147-57.
21. Cnossen JS, Morris RK, Riet G ter, Mol BWJ, van der Post JAM, Coomarasamy A, et al. Use of uterine artery Doppler ultrasonography to predict pre-eclampsia and intrauterine growth restriction: a systematic review and bivariable meta-analysis. *Can Med Assoc J*. 2008;178:701-11.
22. Velauthar L, Plana MN, Kalidindi M, Zamora J, Thilaganathan B, Illanes SE, et al. First-trimester uterine artery Doppler and adverse pregnancy outcome: a meta-analysis involving 55,974 women. *Ultrasound Obstet Gynecol Off J Int Soc Ultrasound Obstet Gynecol*. 2014;43:500-7.
23. Gómez-Arriaga PI, Herraiz I, López-Jiménez EA, Gómez-Montes E, Denk B, Galindo A. Uterine artery Doppler and sFlt-1/PlGF ratio: usefulness in diagnosis of pre-eclampsia. *Ultrasound Obstet Gynecol Off J Int Soc Ultrasound Obstet Gynecol*. 2013;41:530-7.
24. Schlembach D, Wallner W, Sengenberger R, Stiegler E, Mörtl M, Beckmann MW, et al. Angiogenic growth factor levels in maternal and fetal blood: correlation with Doppler ultrasound parameters in pregnancies complicated by pre-eclampsia and intrauterine growth restriction. *Ultrasound Obstet Gynecol Off J Int Soc Ultrasound Obstet Gynecol*. 2007;29:407-13.
25. Brown MA, Lindheimer MD, de Swiet M, Van Assche A, Moutquin JM. The classification and diagnosis of the hypertensive disorders of pregnancy: statement from the International Society for the Study of Hypertension in Pregnancy (ISSHP). *Hypertens Pregnancy Off J Int Soc Study Hypertens Pregnancy*. 2001;20:IX - XIV.

26. Redman CWG, Sargent IL. Pre-eclampsia, the placenta and the maternal systemic inflammatory response--a review. *Placenta*. 2003;24 Suppl A:S21-7.
27. Levine RJ, Maynard SE, Qian C, Lim K-H, England LJ, Yu KF, et al. Circulating angiogenic factors and the risk of preeclampsia. *N Engl J Med*. 2004;350:672-83.
28. Kulmala L, Phupong V. Combination of plasma-soluble fms-like tyrosine kinase 1 and uterine artery Doppler for the prediction of preeclampsia in cases of elderly gravida. *Hypertens Res Off J Jpn Soc Hypertens*. 2014;37:538-42.
29. Diab AE, El-Beheri MM, Ebrahiem MA, Shehata AE. Angiogenic factors for the prediction of pre-eclampsia in women with abnormal midtrimester uterine artery Doppler velocimetry. *Int J Gynaecol Obstet Off Organ Int Fed Gynaecol Obstet*. 2008;102:146-51.
30. Tobinaga CM, Torloni MR, Gueuvoghlian-Silva BY, Pendeloski KPT, Akita PA, Sass N, et al. Angiogenic factors and uterine Doppler velocimetry in early- and late-onset preeclampsia. *Acta Obstet Gynecol Scand*. 2014;93:469-76.
31. Stubert J, Ullmann S, Bolz M, Külz T, Dieterich M, Richter D-U, et al. Prediction of preeclampsia and induced delivery at <34 weeks gestation by sFLT-1 and PlGF in patients with abnormal midtrimester uterine Doppler velocimetry: a prospective cohort analysis. *BMC Pregnancy Childbirth*. 2014;14:292.

Table 1: Demographic characteristics of the study population

	Total 200 patients	No PVP 155 patients	PVP 45 patients	P value
Age (years)				
mean ± SD	31.8 ± 5.0	31.9 ± 5.0	31.4± 5.1	0.62
median	31.4	31.4	31.5	
(Q1–Q3)	(28.1–35.7)	(28.1–36.1)	(27.8–34.7)	
Gestity				
mean ± SD	2.9 ± 1.9	2.9 ± 1.9	2.9 ± 2.0	0.80
median	2 (1–4)	2 (1–4)	2 (1–4)	
(Q1–Q3)				
Parity				
mean ± SD	1.2 ± 0.9	1.2 ± 1.0	1.3 ± 0.8	0.59
median	1 (1–2)	1 (1–2)	1 (1–2)	
(Q1–Q3)				
BMI (Kg/m²)				
mean ± SD	25.4 ± 6.3	25.2 ± 6.3	26.1 ± 6.3	0.26
median	23.5	23.3	25.7	
(Q1–Q3)	(20.9–28.2)	(20.9–27.5)	(21.3–28.9)	

Smoking, n (%)	26 (13.4)	19 (12.8)	7 (15.6)	0.63
BMI > 30 (Kg/m ²), n (%)	37 (19.4)	28 (18.8)	9 (21.4)	0.70
Diabetes, n (%)	8 (4.1)	5 (3.3)	3 (6.7)	0.32
Kidney disease, n (%)	5 (2.6)	3 (2.0)	2 (4.4)	0.36
Hypertension, n (%)	18 (9.2)	8 (5.3)	10 (22.2)	0.001
Lupus, n (%)	15 (7.7)	13 (8.6)	2 (4.4)	0.36
Antiphospholipid Syndrome, n (%)	6 (3.1)	5 (3.3)	1 (2.2)	0.70
Personal history of VTE, n (%)	38 (19.3)	31 (20.4)	7 (15.6)	0.47
Personal history of PVP, n (%)	135 (68.9)	97 (64.2)	38 (84.4)	0.01
Familial history of cardiovascular disease or VTE, n (%)	39 (19.9)	33 (21.9)	6 (13.3)	0.21

Table 2: Doppler parameters of the study population (n, %)

	Total (n= 200)	No PVP (n=155)	PVP (n=45)	P value
Unilateral RI >0,60	26 (13%)	19 (12,3%)	7 (15,6%)	0,61
Bilateral RI >0,60	19 (9,5%)	7 (4,5%)	12 (26,7%)	< 0,05
Unilateral notching	13 (6,5%)	7 (4,5%)	6 (13,3%)	0,08
Bilateral notching	11 (5,5%)	4 (2,6%)	7 (15,6 %)	< 0,05

RI: resistance index

Table 3: Predictive value of Doppler uterine abnormalities in PVP

	PVP +	PVP -	Se (%)	Sp (%)	VPP (%)	VPN (%)	LR +	LR -	OR IC95%
Unilateral IR >0,60	7	19	15,6	87,7	26,9	78,2	1,3	1,0	1,3 [0,5-3,3]
Bilateral IR >0,60	12	7	26,7	95,5	63,2	81,8	5,9	0,8	7,7 [2,9-20,5]
Unilateral notching	6	7	13,3	95,5	46,2	79,1	3,0	0,9	3,3 [1,1-9,8]
Bilateral notching	7	4	15,6	97,4	63,6	79,9	6,0	0,9	7,0 [2,1-23,6]
At least one doppler abnormality	21	26	46,7	83,2	44,7	84,3	2,8	6,4	4,3 [2,1-8,9]

Se : sensibility, Sp: Spécificity, VPP : positive predictive value, VPN : negative predictive value, LR : likelihood ratio, OR : Odds Ratio

Tableau 4: Predictive value of angiogenic factors increase in PVP

	PVP +	PVP -	Se	Sp	VPP	VPN	LR	LR	OR
			(%)	(%)	(%)	(%)	+	-	IC95%
Sflt-1 >1790,1 pg/mL	13 (28,9%)	21 (13,5%)	28,9	86,5	38,2	80,7	2,1	0,8	2,6 [1,2-5,7]
SEng >5,454 ng/mL	24 (53,3%)	47 (30,3%)	53,3	69,7	33,8	83,7	1,8	0,7	2,6 [1,3-5,1]
Association of the two	10 (22,2%)	13 (8,3%)	22,2	91,6	43,5	80,2	2,7	0,8	3,1 [1,3-7,6]

Se : sensibility, Sp: Spécificity, VPP : positive predictive value, VPN : negative predictive value, LR : likelihood ratio, OR : Odds Ratio

Table 5 : Predictive value of the association of increased angiogenic factors and uterine doppler abnormalities in PVP

	PVP +	PVP -	Se(%)	Sp(%)	PPV	NPV	LR+	LR-	OR
					(%)	(%)			CI95%
sFlt-1 >1790,1 pg/mL									
+ SEng >5,454 ng/mL	5	0	11,1	100	100	79,5		0,9	
+ bilateral notching	(11,1%)								
sFlt-1 >1790,1 pg/mL									
+ SEng >5,454 ng/mL	8	1	17,8	99,4	88,9	80,6	27,5	0,8	33,3
+ at least one Doppler	(17,8%)	(0,6%)							[5,6-195,9]
abnormality									

sFlt1									
sFlt-1 >1790,1 pg/mL	2	1							7,2
+unilateral notching	(4,4%)	(0,6%)	4,4	99,4	66,7	78,2	6,9	1,0	[0,9-55,6]
sFlt-1 >1790,1 pg/mL	5								
+ bilateral notching	(11,1%)	0	11,1	100	100	79,5		0,9	
sFlt-1 >1790,1 pg/mL	3	1							11
+ unilateral RI>0,60	(6,7%)	(0,6%)	6,7	99,4	75	78,6	10,3	0,9	[1,6-76,7]
sFlt-1 >1790,1 pg/mL	4								
+ bilateral RI >0,60	(8,9%)	0	8,9	100	100	79,1		0,9	
SEng									
SEng >5,454 ng/mL +	4	2							7,5
unilateral Notching	(8,9%)	(1,3%)	8,9	98,7	66,7	79,9	6,9	0,9	[1,5-36,4]
SEng >5,454 ng/mL +	6	1							23,7
bilateral Notching	(13,3%)	(0,6%)	13,3	99,4	85,7	79,8	20,7	0,9	[3,9-144,7]
SEng >5,454 ng/mL +	5	5							3,8
unilateral RI>0,60	(11,1%)	(3,2%)	11,1	96,8	50	78,9	3,4	0,9	[1,1-12,9]
SEng >5,454 ng/mL +	6	2							11,8
bilateral RI>0,60	(13,3%)	(1,3%)	13,3	98,7	75	79,7	10,3	0,9	[2,6-52,7]

RI: resistance index, Se : sensibility, Sp : Spécificity, PPV : positive predictive value, NPV : negative predictive value, LR : likelihood ratio, OR : Odds Ratio, CI 95 % : confidence interval at 95%

1.2. Utilisation du volume placentaire: étude VOLUPLA

Il existe donc un lien entre les facteurs de l'hémostase, les facteurs angiogéniques et la survenue d'une PVP. Nous avons ensuite étudié la relation entre certains facteurs de l'hémostase et le volume placentaire.



RESEARCH ARTICLE

Relationship between Plasma D-Dimer Concentration and Three-Dimensional Ultrasound Placental Volume in Women at Risk for Placental Vascular Diseases: A Monocentric Prospective Study

Cécile Fangeat¹, Céline Chauleur^{1,2}, Amandine Stadler¹, Emilie Presles², Marie-Noëlle Varlet¹, Jean-Christophe Gris^{3,4}, Tiphaine Raia-Barjat^{1,2*}

1 Department of Gynecology and Obstetrics, University Hospital, Saint Etienne, France, **2** Research Unit EA3065, Saint Etienne University Jean Monnet F 42023, Saint Etienne, France, **3** Laboratory of Haematology, University Hospital, Nîmes, France, **4** Research Unit EA2992, Montpellier University, Montpellier, France

* tiphaïne.barjat@chu-st-etienne.fr



OPEN ACCESS

Citation: Fangeat C, Chauleur C, Stadler A, Presles E, Varlet M-N, Gris J-C, et al. (2016) Relationship between Plasma D-Dimer Concentration and Three-Dimensional Ultrasound Placental Volume in Women at Risk for Placental Vascular Diseases: A Monocentric Prospective Study. PLoS ONE 11(6): e0156593. doi:10.1371/journal.pone.0156593

Editor: Elizabeth W Triche, St Francis Hospital, UNITED STATES

Received: August 29, 2015

Accepted: May 17, 2016

Published: June 13, 2016

Copyright: © 2016 Fangeat et al. This is an open access article distributed under the terms of the [Creative Commons Attribution License](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author and source are credited.

Data Availability Statement: All relevant data are within the paper and its Supporting Information files.

Funding: The authors received no specific funding for this work.

Competing Interests: The authors have declared that no competing interests exist.

Abstract

Introduction

The aim of this study was to correlate placental volumes deduced from three-dimensional ultrasound and virtual organ computer-aided analysis (VOCAL) software with systemic concentrations of D-dimer and soluble endothelial protein C receptor (sEPCR).

Methods

This was a monocentric experimental prospective study conducted from October 2008 to July 2009. Forty consecutive patients at risk of placental vascular pathology (PVP) recurrence or occurrence were included. Placental volumes were systematically measured three times (11–14, 16–18 and 20–22 weeks of gestation (WG)) by two independent sonographers. D-dimers and sEPCR plasma concentrations were measured using ELISA kits (Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay).

Results

Eleven patients had a PVP. The plasma D-dimer level was positively correlated with placental volume ($r = 0.45, p < 0.001$). A smaller placental volume and placental quotient was evidenced in women who developed a PVP at the three gestational ages, and the difference was more pronounced during the third exam (20 WG). No obvious correlation could be demonstrated between the development of a PVP and the levels of D-dimer and sEPCR. There was no significant difference in the values of placental volumes measured by the two sonographers.

Conclusion

The placenta growth could be a major determinant of the elevation of D-dimer during pregnancy. Consideration of placental volume could allow for modulation of the D-dimer concentrations for restoring their clinical interest.

Introduction

A placenta in pre-eclampsia (PE) or in intrauterine growth restriction (IUGR) is often the site of multiple infarcts that generate placental hypoperfusion [1–3]. The introduction of three-dimensional (3D) ultrasound techniques enables the placental volume up to 22 weeks of gestation (WG) to be determined quickly and easily. Some authors tried to find out whether or not the placentas of PE women or small-for-gestational age (SGA) fetuses have different growth characteristics compared to those of uncomplicated pregnancies. However, even if many studies found smaller placental volumes in PE women and SGA fetuses, this method alone is not able to predict a PVP [4–10]. It seemed interesting to us to evaluate the link between placental volume and two bioassays that increased during pregnancy or expressed by the placenta.

D-dimer levels increase progressively during a normal pregnancy, which alters their clinical utility in the diagnosis of venous thromboembolism. This increase is proportional with gestational age [11–13]. Some authors described higher levels of D-dimer in patients with IUGR, gestational hypertension, preeclampsia and *abruptio placentae* than in normal pregnancies [14–16]. The placenta growth could be a major determinant of the elevation of the D-dimer level during pregnancy but relation between placental volume and D-dimer levels has not been studied.

sEPCR (soluble endothelial protein C receptor) is an endothelial cell membrane glycoprotein that binds Protein C and activated Protein C (APC) [17–20]. sEPCR plays a critical role in foeto-maternal blood coagulation control and in preventing thrombosis at the maternal-embryonic interface [20]. The trophoblast constitutively expresses tissue factor and sEPCR so that sEPCR could be in relation with placental volume. The link between placental volume, plasma D-dimer and sEPCR levels and PVP is currently insufficiently documented.

The objective of this study was to correlate placental volume with systemic concentrations of D-dimers. The secondary objectives were to correlate placental volume with systemic concentrations of sEPCR; evaluate placental volume, plasma D-dimer and sEPCR levels for the prediction of placental vascular pathology in high-risk women; assess the feasibility of placental volume measurements deduced from 3D ultrasound scans at 12, 16 and 22 weeks of gestation; and determine the corresponding interobserver reproducibility.

Materials and Methods

Patients

This is a monocentric prospective longitudinal study carried out in our hospital. From October 2008 to July 2009, all women at 12 WG with a previous PVP or at risk of having a PVP because of a chronic vascular disease (hypertension, previous thromboembolic events or thrombophilic disorders) were included. The study was approved by the University Hospital of Saint Etienne institutional review board and ethics committee, and all subjects provided written informed consent. This clinical investigation was performed according to the Helsinki declaration of 1975, as revised in 1996. Exclusion criteria were multiple pregnancies and aneuploidies.

PVPs were defined by (1) fetal death ≥ 20 WG unrelated to fetal malformations, abnormal karyotype or infectious disease; (2) PE defined according to the International Society for the Study of Hypertension in Pregnancy criteria (ISSHP) as the occurrence of hypertension after 20 WG with a systolic ≥ 140 mmHg and/or diastolic ≥ 90 mmHg found on two measures, associated with proteinuria ≥ 0.3 g/24 h or $\geq 1+$ on dipstick 2 times without associated urinary tract infection; (3) edamsia defined as the presence of convulsions in a preeclamptic patient; (4) *abruptio placentae* defined by the presence of externalised haemorrhage and/or found on pathologic analysis of placenta conducted in a context of preeclampsia, wood uterus or fetal distress; (5) Hemolysis, Elevated Liver enzyme and Low Platelet count (HELLP) syndrome defined by the combination of hemolysis (LDH > 600 IU, bilirubin > 1.2 mg/dl, or presence of schizocytes in peripheral blood), elevated liver enzymes and platelets $< 100,000$; and (6) SGA defined by a birthweight $\leq$ to the 10th customised centile.

Demographic data, medical history, pathologies during pregnancy, treatments and undesirable events were collected.

Ultrasound

Placental volume and blood samples were performed at 11–14, 16–18 and 20–22 WG. The placental site was determined in 2D real-time mode using a transabdominal 3.5 MHz volume transducer (GE Voluson 730). The scanning plane was chosen at the place where the largest placental surface area was visualised. The placental volume was then scanned in this plane and saved; this procedure was repeated until a satisfactory image of the entire placenta was obtained [7]. The virtual organ computer aided analysis (VOCAL) technique was used to obtain a sequence of 6 sections of the placenta, each after a 30° rotation from the previous one. In each of the 6 planes, the contour of the placenta was drawn manually, which took approximately 60 seconds. The equipment automatically displayed the reconstructed image and its volume in cm³. During the second time, the placental volume was measured by a second sonographer (S2). The results of the first sonographer (S1) were unknown in order to compare the measurements and calculate intra- and interobserver agreements.

Measurements could not be performed on exactly the same day of gestation. Therefore we have calculated a quotient of placental volume divided by the number of gestational days (placental quotient [PQ] = placental volume/number of gestational days). Thus, we obtained 3 quotients: PQ1 (12 WG), PQ2 (16 WG) and PQ3 (20 WG) (8).

Biology

All blood samples were collected in anticoagulated tubes, 9 volumes of blood for 1 volume of anticoagulant solution (0.109 M trisodium citrate).

Following a double centrifugation at 2500 g for 20 minutes, aliquots were snap frozen and immediately stored at -80°C. These aliquots were to be analysed in a single round at the end of the work. Laboratory workers were blinded to the results of placental volume measurements and to the development of a PVP. D-dimer and sEPCR concentrations were quantified by commercially available ELISA kits (Asserachrom, Stago, Asnières, France). Testing was performed in duplicate according to the manufacturer's instructions in the Laboratory of Haematology, University Hospital, Nîmes, France.

Statistical analysis

The different analyses were performed using the StatView[®] software. Qualitative variables were reported as absolute and relative frequencies (expressed in %) and compared using Fisher's exact test. Quantitative variables were described by mean and standard deviation and

median and interquartile range and were compared by Student's *t*-test. In case of a non-normally distributed variable (assessed by a Shapiro-Wilk test), a Mann-Whitney U-test was performed. Group comparability between patients with a PVP and patients presenting no PVP was verified on the demographics and baseline characteristics.

We also used Spearman's rank-order correlation to elucidate a linkage between placental volume and D-dimer and between placental volume and sEPCR with their corresponding regression graphs.

A Wilcoxon rank-sum test was used to compare quantitative data between the different groups. The results were summarised in a box plot.

The non-parametric regression proposed by Passing and Bablock was used to estimate the relationship between placental volumes measured by the two observers. This linear regression procedure has no special assumptions regarding the distribution of the samples and the measurement errors. The result does not depend on the assignment of the methods (or instruments) to X and Y. The slope B and intercept A are calculated with a 95% confidence interval. These confidence intervals are used to determine whether or not there is only a chance difference between B and 1 and between A and 0. For all analyses, a statistical significance was established at $p < 0.05$.

Results

Forty consecutive patients with eligible criteria were included from October 2008 to July 2009.

The patients' characteristics and inclusion criteria are summarised in [Table 1](#). Eleven PVP cases occurred. 8 neonates were SGA babies, 4 patients developed PE and one patient developed severe PE associated with SGA. No patient had thromboembolic issues. Demographic characteristics were not statistically different between patients who experienced a PVP (PVP+ group) and those who did not (PVP- group), except for gestational age at delivery (earlier for PVP+ group) and birth weight (lower in PVP+ group). Inclusion criteria were not statistically different between the two groups, except for history of fetal growth restriction, which was more frequent in the PVP+ group.

Plasma D-dimer level was positively correlated with placental volume ($r = 0.45$, $p < 0.001$; PVP- $r = 0.45$, $p < 0.001$; PVP+ $r = 0.49$, $p < 0.001$; Spearman rank test) ([Fig 1](#)). No relation between sEPCR and placental volume have emerged from our analysis ($r = 0.03$, $p = 0.65$; PVP- $r = 0.07$; PVP+ $r = 0.02$; Spearman rank test) ([Fig 2](#)).

We found a significant difference between placental volumes or PQ values according to the presence/absence of a PVP during the pregnancy under focus. Placental volumes were smaller in cases of PE or SGA, a difference that was significant as early as the first sonography (12 WG 61.5 cm³ for the PVP- group versus 51.0 cm³ for the PVP+ group, $p = 0.04$) but was more pronounced during the third exam (20 WG 231.8 cm³ for the PVP- group versus 155.8 cm³ for the PVP+ group, $p = 0.004$) ([Table 2](#)). We found no significant difference between plasma D-dimer levels values or plasma sEPCR level values according to the presence or absence of a PVP ([Table 2](#)).

The distributions of the placental volume, plasma D-dimer levels and sEPCR levels are presented as box plots in [Fig 3](#). The mean placental volume was 58.6 cm³ for S1 versus 61.3 for S2 at 12 WG, 127.9 cm³ versus 132.5 at 16 WG and 214.4 cm³ versus 200.7 at 20 WG. The mean PQ value was 0.7 for S1 versus 0.71 for S2 at 12 WG ($p = 0.68$), 1.1 versus 1.2 at 16 WG ($p = 0.57$) and 1.5 versus 1.4 at 20 WG ($p = 0.38$).

With a Passing-Bablok linear regression analysis, the agreement between placental volumes or PQ measured by the two observers was excellent. The slope and intercept were not significantly different from 1 and 0, respectively.

Table 1. Patients' characteristics.

Demographic data: mean $\pm$ standard deviation median (Q1;Q3)	Total n = 40		PVP—n = 29		PVP+ n = 11		P value
	mean $\pm$ SD	median (Q1–Q3)	mean $\pm$ SD	median (Q1–Q3)	mean $\pm$ SD	median (Q1–Q3)	
Age (years)	31.5 $\pm$ 5.1	32.0 (27.5–35.5)	31.7 $\pm$ 5.6	32.0 (27.0–36.0)	30.9 $\pm$ 3.7	31.0 (28.3–33.8)	0.7
Gestity	2.8 $\pm$ 2.0	2.0 (1.0–4.0)	2.7 $\pm$ 2.0	2.0 (1.0–4.0)	3.1 $\pm$ 2.0	2.5 (2.0–3.75)	0.6
Parity	1.5 $\pm$ 1.1	1.0 (1.0–2.0)	1.4 $\pm$ 1.1	1.0 (1.0–2.0)	1.8 $\pm$ 1.1	2.0 (1.0–2.0)	0.4
BMI (Kg/m ²)	24.8 $\pm$ 5.3	23.4 (21.1–27.9)	25.5 $\pm$ 5.6	23.2 (21.5–30.3)	22.6 $\pm$ 3.9	23.6 (19.3–24.6)	0.2
Term of delivery (WG)	38.4 $\pm$ 2.2	38.6 (37.7–39.6)	38.9 $\pm$ 1.9	39.2 (38.1–40.1)	36.9 $\pm$ 2.4	37.4 (36.6–38.3)	0.006
Birth weight (grams)	3025.7 $\pm$ 547.9	3072.5 (2815.0–3373.8)	3205 $\pm$ 393.4	3200 (2987.5–3497.5)	2487.8 $\pm$ 613.5	2645 (2380–2755)	0.0004
Treatment:	n	%	n	%	n	%	
Low-dose aspirin, 100 mg per day	17	42.5	11	37.9	6	54.5	0.5
Prophylactic LMWH 4,000 units per day	11	27.5	9	31.0	2	18.2	0.7
Two treatments	7	17.5	6	20.7	1	9.1	0.7
No treatment	5	12.5	3	10.3	2	18.2	0.6
Inclusion criteria	n	%	n	%	n	%	
Chronic hypertension	1	2.5	0	0	1	9.1	0.3
Systemic Lupus Erythematosus	2	5.0	2	6.9	0	0	1
Anti-phospholipid Syndrome	3	7.5	2	6.9	1	9.1	1
Venous thromboembolic history	11	27.5	9	31.0	2	18.2	0.7
Thrombophilia	5	12.5	4	13.8	1	9.1	1
History of PVP							
Preedampsia	7	17.5	3	10.3	4	36.4	0.08
Abruptio placentae	2	5.0	2	6.9	0	0	1
Vascular IUGR < 10th percentile	4	10.0	0	0	4	36.4	0.004
Foetal death $\geq$ 10WG	8	20.0	5	17.2	3	27.3	0.7
At least 2 early miscarriages < 10 WG	10	25.0	9	31.0	1	9.1	0.2

doi:10.1371/journal.pone.0156593.t001

Discussion

We proved that the plasma D-dimer level was positively correlated with placental volume. To our knowledge, this is the only study that investigated this relationship. The value of D-dimer during pregnancy is higher than normal in 15% of patients in the 1st trimester, 71% in the second trimester and 96% in the third trimester [21]. Recent studies have tried to establish new reference intervals of D-dimer levels in pregnant women according to trimester. Reference intervals of D-dimer were determined by Ercan *et al.* as 110–400 ng/mL, 140–750 ng/mL and 160–1300 ng/mL in first, second and third trimester, respectively [22]. Therefore, other studies have tried to establish new thresholds of D-dimer references for each trimester to predict the risk of thrombosis in pregnant women. Nishii *et al.* studied the correlation between venous Doppler ultrasound of the lower limbs and D-dimer levels for the detection of venous thromboembolism disease (VTE) in a population of asymptomatic patients [11]. The authors showed that in the third trimester of pregnancy, the average value of the D-dimer positive ultrasound group was significantly higher than in the negative group. They concluded that D-dimer levels could not be used alone for screening VTE; however, it would be interesting to perform an

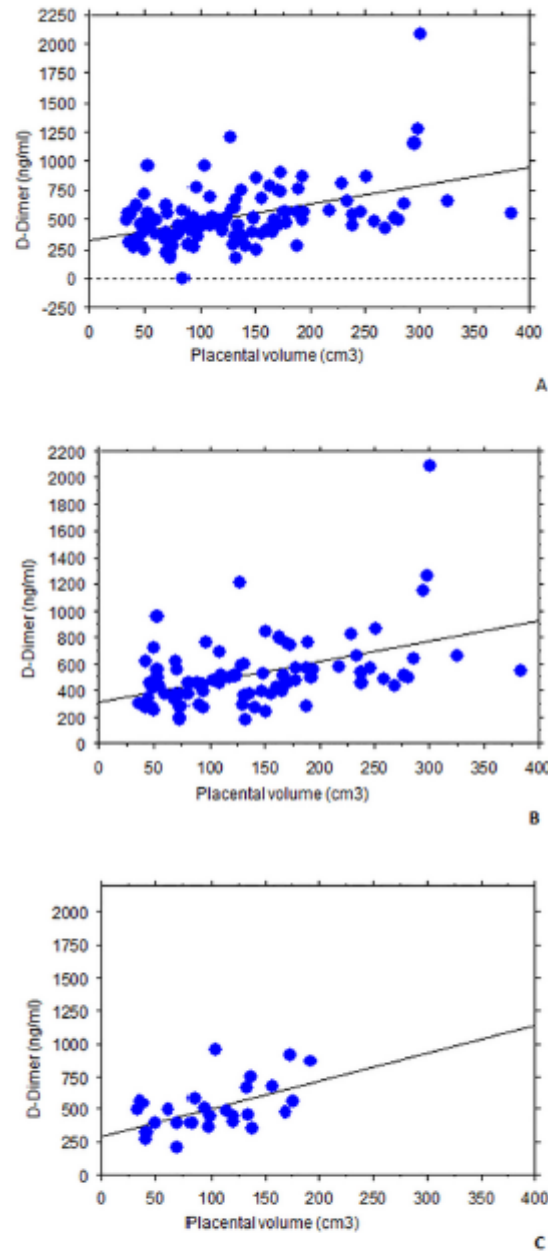


Fig 1. Plasma D-dimer level was positively correlated with placental volume. Regression graphs obtained from Spearman's rank-order correlation in order to elucidate linkage between placental volume and D-dimer. A. All patients and all measurements. B. Only patients with no PVP. C. Only patients with PVP.

doi:10.1371/journal.pone.0156593.g001

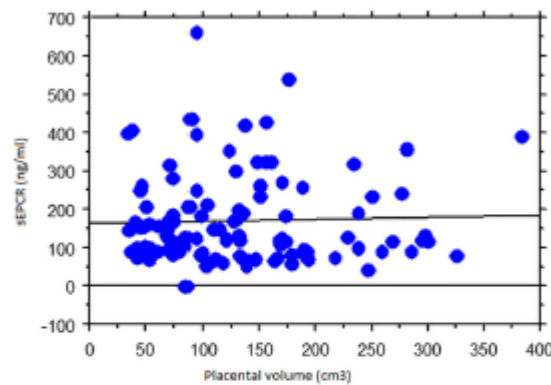


Fig 2. No relation between sEPCR and placental volume was found. Regression graphs obtained from Spearman's rank-order correlation in order to elucidate linkage between placental volume and sEPCR.

doi:10.1371/journal.pone.0156593.g002

ultrasound in pregnant women with D-dimer levels greater than 3200 ng/ml in the third trimester and would improve the asymptomatic VTE detection rate.

Many studies have shown that D-dimer levels are raised in women with PE compared to a normotensive pregnancy [23–25]. Ho *et al.* suggested that D-dimer levels could be used as

Table 2. Ultrasound and blood samples results.

Gestational window	12 weeks		16 weeks		20 weeks	
Placental Volume (cm ³)	mean ± SD	median (Q1–Q3)	mean ± SD	median (Q1–Q3)	mean ± SD	median (Q1–Q3)
Total	58.6 ± 18.0	53.0 (43.8–71.9)	127.9 ± 32.2	127.0 (99.6–148.9)	214.4 ± 65.2	191.0 (167.8–263.3)
PVP –	61.5 ± 17.7	54.2 (48.3–73.4)	133.9 ± 32.4	131.6 (109.1–151.6)	231.8 ± 63.4	237.0 (174.8–278.9)
PVP +	51.0 ± 17.3	41.0 (39.1–64.8)	112.8 ± 27.6	102.5 (95.2–125.6)	155.8 ± 25.6	162.0 (136.3–172.4)
P value	0.04		0.06		0.004	
Placental Quotient	mean ± SD	median (Q1–Q3)	mean ± SD	median (Q1–Q3)	mean ± SD	median (Q1–Q3)
Total	0.68 ± 0.20	0.62 (0.51–0.83)	1.12 ± 0.29	1.09 (0.87–1.30)	1.51 ± 0.46	1.35 (1.17–1.87)
PVP –	0.71 ± 0.19	0.66 (0.59–0.85)	1.18 ± 0.29	1.18 (0.95–1.35)	1.36 ± 0.44	1.67 (1.23–1.96)
PVP +	0.59 ± 0.20	0.48 (0.44–0.74)	0.97 ± 0.23	0.90 (0.81–1.09)	1.08 ± 0.18	1.13 (0.95–1.19)
P value	0.03		0.04		0.002	
D-dimer (ng/ml)	mean ± SD	median (Q1–Q3)	mean ± SD	median (Q1–Q3)	mean ± SD	median (Q1–Q3)
Total	411.7 ± 155.6	379.0 (298.5–505.5)	521.9 ± 203.1	482.0 (403.5–581.3)	648.4 ± 315.9	574.0 (484.0–712.5)
PVP –	413.3 ± 168.2	379.0 (294.0–461.0)	509.6 ± 209.7	482.0 (395.0–567.8)	665.4 ± 352.1	576.0 (495.0–744.0)
PVP +	407.2 ± 119.3	403.5 (329.3–507.5)	556.4 ± 189.3	481.5 (425.0–647.0)	599.1 ± 179.0	570.0 (481.5–665.0)
P value	0.92		0.54		0.82	
sEPCR (ng/ml)	mean ± SD	median (Q1–Q3)	mean ± SD	median (Q1–Q3)	mean ± SD	median (Q1–Q3)
Total	164.0 ± 96.3	146.8 (94.4–180.5)	177.5 ± 132.7	127.3 (81.7–211.8)	168.8 ± 112.0	122.3 (90.3–224.1)
PVP –	157.1 ± 88.1	135.3 (93.3–188.7)	165.0 ± 108.8	128.1 (74.6–214.8)	166.1 ± 97.3	123.2 (91.0–235.3)
PVP +	183.9 ± 120.2	153.2 (108.0–164.6)	212.8 ± 187.0	127.3 (107.9–205.1)	177.7 ± 157.5	116.2 (89.7–148.7)
P value	0.53		0.42		0.68	
Gestational window	12 to 16 Weeks		16 to 20 Weeks		12 to 20 Weeks	
Placental Volume growth	mean ± SD	median (Q1–Q3)	mean ± SD	median (Q1–Q3)	mean ± SD	median (Q1–Q3)
Total	132.9 ± 74.5	126.8 (83.4–171.4)	67.9 ± 45.1	64.7 (39.8–100.9)	285.7 ± 126.5	282.7 (177.4–379.3)
PVP –	129.7 ± 72.0	117.9 (84.7–154.6)	73.8 ± 46.7	69.0 (47.7–107.1)	292.3 ± 126.1	282.7 (213.1–379.3)
PVP +	141.2 ± 83.7	142.9 (88.3–190.4)	48.5 ± 35.2	43.1 (33.2–68.9)	263.5 ± 134.0	270.8 (144.7–348.2)
P value	0.67		0.15		0.58	

doi:10.1371/journal.pone.0156593.t002

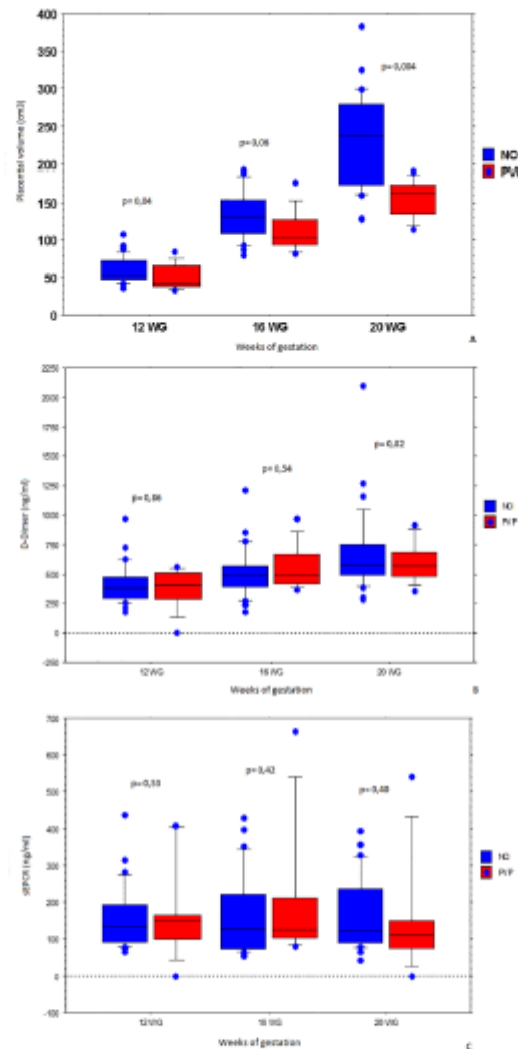


Fig 3. Placental volumes were smaller in cases of PVP. Summary with box plots of the distribution of values according to gestational age and the occurrence or not of a PVP. (A) Placental volume at 12, 16 and 20 WG and comparison of data based on the occurrence or not of a PVP. (B) D-dimer concentrations at 12, 16 and 20 WG and comparison of data based on the occurrence or not of a PVP. (C) sEPCR concentrations at 12, 16 and 20 WG and comparison of data based on the occurrence or not of a PVP.

doi:10.1371/journal.pone.0156593.g003

complementary predictors for the development of PE [26]. In our study, we did not find any relationship between D-dimer and PVP development.

Because birthweight and placental weight at the time of delivery are closely correlated [6,27,28], some authors aimed to predict foetal growth restriction through placental volumes [4,10,27,29,30]. Although our study dealt with only forty patients, our results are in agreement with these studies. We found smaller volumes, especially at 20 WG but also at 12 WG in cases

of PVP. Our findings are in contrast to those of Odeh *et al.* who reported that placental volume was not a predictor of PE developed after 34 WG and of SGA [31].

Węgrzyn *et al.* were the first to investigate placental volume using the VOCAL technique [32]. We used a 30° rotation and a sequence of 6 planes.

Hurtado *et al.* found that very high levels of IgM and IgG anti-sEPCR constituted a strong risk factor for the first episode of foetal death, with a 20-fold increase in relative risk [17]. Isermann *et al.* showed a new function for the thrombomodulin-protein C system in controlling the growth and survival of trophoblast cells in the placenta; this function is essential for the maintenance of pregnancy [33]. The hypercoagulable state developed during pregnancy may be increased in PVP probably due to the multiple infarcts in the placenta, and sEPCR seems to be a marker of endothelium activation/damage [34]. In our study, we did not find any relationship between sEPCR and PVP development.

One of the aims of the study was to determine interobserver reproducibility of placental volume measurements and its feasibility. This study shows that this technique is easy, quick (about 1 minute) and reproducible. The placental volumes are not significantly different between the two sonographers. Others studies assessed the reproducibility of placental volumes [3,5,35–38]. PQ in our study are quite similar with those of an unselected group of 1199 women: PQ1 0.66 vs 0.601, PQ2 1.14 vs 1.136 and PQ3 1.48 vs 1.643 [8]. The advantage of this method compared to second trimester uterine Doppler is that placental volume can be performed as early as the first trimester. Rizzo [10] and Hafner [4] found that a low placental volume in the first trimester is strongly associated with an abnormal uterine Doppler in the second trimester and that both have similar sensitivities for predicting PE; however, there is no relationship between placental volume and uterine Doppler in the first trimester [9]. However, placental volume measurements are sometimes difficult to perform. In our study, the volume differences between the two sonographers are higher at 20 WG. It can be explained by the irregular shape of the placenta; from week 19 onward, the size of the placenta often exceeds the capacity of the equipment [6,7,39]. Despite this, the agreement between placental volumes measured by the two observers was very good.

Conclusion

The plasma D-dimer level was positively correlated with placental volume. The placenta growth could be a major determinant of the elevation of the D-dimer level during pregnancy. Consideration of placental volume could then allow modulating D-dimer concentrations for restoring their clinical interest. All study data are available (S1 Table).

Placental volume is decreased in high-risk patients who experienced a PVP compared to patients who did not have a PVP at an early stage. Placental volume could complement of a PVP screening strategy.

Supporting Information

S1 Table. All available data.
(PDF)

Author Contributions

Conceived and designed the experiments: CF CC. Performed the experiments: CF TRB AS MNV CC. Analyzed the data: CF TRB EP JCG CC. Contributed reagents/materials/analysis tools: CF TRB EP JCG CC. Wrote the paper: CF TRB AS EP MNV JCG CC.

References

1. Baschat AA, Hecher K. Fetal growth restriction due to placental disease. *Semin Perinatol*. 2004; 28:67–80. PMID: [15058904](#)
2. Abramowicz JS, Sheiner E. In utero imaging of the placenta: importance for diseases of pregnancy. *Placenta*. 2007; 28:S14–22. PMID: [17383721](#)
3. Hafner E, Metzenbauer M, Dillinger-Paller B, Hoefinger D, Schuchter K, Sommer-Wagner H, et al. Correlation of first trimester placental volume and second trimester uterine artery Doppler flow. *Placenta*. 2001; 22:729–34. PMID: [11597193](#)
4. Hafner E, Metzenbauer M, Höfner D, Stonek F, Schuchter K, Waldhör T, et al. Comparison between three-dimensional placental volume at 12 weeks and uterine artery impedance/spotting at 22 weeks in screening for pregnancy-induced hypertension, pre-eclampsia and fetal growth restriction in a low-risk population. *Ultrasound Obstet Gynecol*. 2006; 27:652–7. PMID: [16514618](#)
5. Hafner E, Philipp T, Schuchter K, Dillinger-Paller B, Philipp K, Bauer P. Second-trimester measurements of placental volume by three-dimensional ultrasound to predict small-for-gestational-age infants. *Ultrasound Obstet Gynecol*. 1998; 12:97–102. PMID: [9744052](#)
6. Thame M, Osmond C, Wilks R, Bennett FI, Forrester TE. Second-trimester placental volume and infant size at birth. *Obstet Gynecol*. 2001; 98:279–83. PMID: [11506845](#)
7. Hafner E, Schuchter K, van Leeuwen M, Metzenbauer M, Dillinger-Paller B, Philipp K. Three-dimensional sonographic volumetry of the placenta and the fetus between weeks 15 and 17 of gestation. *Ultrasound Obstet Gynecol*. 2001; 18:116–20. PMID: [11529989](#)
8. Hafner E, Metzenbauer M, Höfner D, Munkel M, Gassner R, Schuchter K, et al. Placental growth from the first to the second trimester of pregnancy in SGA-fetuses and pre-eclamptic pregnancies compared to normal fetuses. *Placenta*. 2003; 24:336–42. PMID: [12657506](#)
9. Schuchter K, Metzenbauer M, Hafner E, Philipp K. Uterine artery Doppler and placental volume in the first trimester in the prediction of pregnancy complications. *Ultrasound Obstet Gynecol*. 2001; 18:590–2. PMID: [11844195](#)
10. Rizzo G, Capponi A, Cavicchioni O, Vendola M, Arduini D. First trimester uterine Doppler and three-dimensional ultrasound placental volume calculation in predicting pre-eclampsia. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*. 2008; 138:147–51. PMID: [17916401](#)
11. Nishii A, Noda Y, Nemoto R, Ushiro K, Ohno T, Mochizuki Y, et al. Evaluation of D-dimer during pregnancy. *J Obstet Gynaecol Res*. 2009; 35:689–93. doi: [10.1111/j.1447-0756.2008.01007.x](#) PMID: [19751328](#)
12. Jeremiah ZA, Adias TC, Oplah M, George SP, Mgbere O, Essien EJ. Elevation in D-dimer concentrations is positively correlated with gestation in normal uncomplicated pregnancy. *Int J Womens Health*. 2012; 4:437–43. doi: [10.2147/IJWH.S32655](#) PMID: [23071413](#)
13. Giavarina D, Mezzana G, Dorizzi RM, Soffiati G. Reference interval of D-dimer in pregnant women. *Clin Biochem*. 2001; 34:331–3. PMID: [11440735](#)
14. Francalanci I, Comoglio P, Liotta AA, Cellai AP, Fedi S, Parretti E, et al. D-Dimer in intra-uterine growth retardation and gestational hypertension. *Thromb Res*. 1995; 80:89–92. PMID: [8578542](#)
15. Nolan TE, Smith RP, Devoe LD. Maternal plasma D-dimer levels in normal and complicated pregnancies. *Obstet Gynecol*. 1993; 81:235–8. PMID: [8423957](#)
16. Belo L, Santos-Silva A, Rumley A, Lowe G, Pereira-Leite L, Quintanilha A, et al. Elevated tissue plasminogen activator as a potential marker of endothelial dysfunction in pre-eclampsia: correlation with proteinuria. *BJOG*. 2002; 109:1250–5. PMID: [12452463](#)
17. Hurtado V, Montes R, Gils J-C, Bertolaccini ML, Alonso A, Martínez-González MA, et al. Autoantibodies against EPCR are found in antiphospholipid syndrome and are a risk factor for fetal death. *Blood*. 2004; 104:1369–74. PMID: [15150078](#)
18. Brenner B. Haemostatic changes in pregnancy. *Thromb Res*. 2004; 114:409–14. PMID: [15507271](#)
19. Franchi F, Biguzzi E, Cetin I, Facchetti F, Radaelli T, Bozzo M, et al. Mutations in the thrombomodulin and endothelial protein C receptor genes in women with late fetal loss. *Br J Haematol*. 2001; 114:641–6. PMID: [11552992](#)
20. Gu J-M, Crawley JTB, Ferrell G, Zhang F, Li W, Esmon NL, et al. Disruption of the endothelial cell protein C receptor gene in mice causes placental thrombosis and early embryonic lethality. *J Biol Chem*. 2002; 277:43335–43. PMID: [12218060](#)
21. Wang M, Lu S, Li S, Shen F. Reference intervals of D-dimer during the pregnancy and puerperium period on the STA-R evolution coagulation analyzer. *Clin Chim Acta*. 2013; 425:176–80. doi: [10.1016/j.cca.2013.08.006](#) PMID: [23954836](#)

22. Ercan S, Ozkan S, Yücel N, Orçun A. Establishing reference intervals for D-dimer to trimesters. *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2014;1–5.
23. Han L, Liu X, Li H, Zou J, Yang Z, Han J, et al. Blood coagulation parameters and platelet indices: changes in normal and preeclamptic pregnancies and predictive values for preeclampsia. *PLoS ONE.* 2014; 9:e114488. doi: [10.1371/journal.pone.0114488](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0114488) PMID: [25464515](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25464515/)
24. Pinheiro MB, Carvalho MG, Martins-Filho OA, Freitas LG, Godoi LC, Alpoim PN, et al. Severe preeclampsia: are hemostatic and inflammatory parameters associated? *Clin Chim Acta.* 2014; 427:65–70. doi: [10.1016/j.cca.2013.09.050](https://doi.org/10.1016/j.cca.2013.09.050) PMID: [24121033](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24121033/)
25. Dusse LM, Alpoim PN, Lwaleed BA, de Sousa LP, Carvalho M das G, Gomes KB. Is there a link between endothelial dysfunction, coagulation activation and nitric oxide synthesis in preeclampsia? *Clin Chim Acta.* 2013; 415:226–9. doi: [10.1016/j.cca.2012.10.006](https://doi.org/10.1016/j.cca.2012.10.006) PMID: [23089074](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23089074/)
26. Ho CH, Yang ZL. The predictive value of the hemostasis parameters in the development of preeclampsia. *Thromb Haemost.* 1992; 67:214–8. PMID: [1621241](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/1621241/)
27. Wolf H, Oosting H, Treffers PE. Second-trimester placental volume measurement by ultrasound: prediction of fetal outcome. *Am J Obstet Gynecol.* 1989; 160:121–6. PMID: [2643317](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/2643317/)
28. Clapp JF, Rizk KH, Appleby-Wineberg SK, Crass JR. Second-trimester placental volumes predict birth weight at term. *J Soc Gynecol Investig.* 1995; 2: 19–22. PMID: [9420843](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9420843/)
29. Law LW, Leung TY, Sahota DS, Chan LW, Fung TY, Lau TK. Which ultrasound or biochemical markers are independent predictors of small-for-gestational age? *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2009; 34:283–7. doi: [10.1002/uoq.6455](https://doi.org/10.1002/uoq.6455) PMID: [19670336](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19670336/)
30. Yigiter AB, Kavak ZN, Durukan B, Isci H, Uzuner A, Uyar E, et al. Placental volume and vascularization flow indices by 3D power Doppler US using VOCAL technique and correlation with IGF-1, free beta-hCG, PAPP-A, and uterine artery Doppler at 11–14 weeks of pregnancy. *J Perinat Med.* 2011; 39:137–41. doi: [10.1515/JPM.2010.136](https://doi.org/10.1515/JPM.2010.136) PMID: [21241202](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21241202/)
31. Odeh M, Ophir E, Maximovsky O, Grinin V, Bornstein J. Placental volume and three-dimensional power Doppler analysis in prediction of pre-eclampsia and small for gestational age between Week 11 and 13 weeks and 6 days of gestation. *Prenat Diagn.* 2011; 31:367–71. doi: [10.1002/pd.2697](https://doi.org/10.1002/pd.2697) PMID: [21254145](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21254145/)
32. Wegrzyn P, Faro C, Falcon O, Peralta CFA, Nicolaides KH. Placental volume measured by three-dimensional ultrasound at 11 to 13 + 6 weeks of gestation: relation to chromosomal defects. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2005; 26:28–32. PMID: [15937964](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15937964/)
33. Isermann B, Sood R, Pawlinski R, Zogg M, Kalloway S, Degen JL, et al. The thrombomodulin-protein C system is essential for the maintenance of pregnancy. *Nat Med.* 2003; 9:331–7. PMID: [12579195](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12579195/)
34. Saposnik B, Peynaud-Debayle E, Stepanian A, Baron G, Simansour M, Mandelbrot L, et al. Elevated soluble endothelial cell protein C receptor (sEPCR) levels in women with preeclampsia: a marker of endothelial activation/damage? *Thromb Res.* 2012; 129:152–7. doi: [10.1016/j.thromres.2011.07.023](https://doi.org/10.1016/j.thromres.2011.07.023) PMID: [21824644](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21824644/)
35. Metznerbauer M, Hafner E, Hoefinger D, Schuchter K, Stangl G, Ogris E, et al. Three-dimensional ultrasound measurement of the placental volume in early pregnancy: method and correlation with biochemical placenta parameters. *Placenta.* 2001; 22:602–5. PMID: [11440550](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11440550/)
36. Burstein E, Sheiner E, HersHKovitz R. Three-dimensional placental volume measurements between 11 and 13 weeks' gestation. *Am J Perinatol.* 2009; 26:169–71. doi: [10.1055/s-0028-1095188](https://doi.org/10.1055/s-0028-1095188) PMID: [18979413](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18979413/)
37. Deurloo K, Spreuwenberg M, Rekoert-Hollander M, van Vugt J. Reproducibility of 3-dimensional sonographic measurements of fetal and placental volume at gestational ages of 11–18 weeks. *J Clin Ultrasound.* 2007; 35:125–32. PMID: [17274036](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17274036/)
38. Bujold E, Effendi M, Girard M, Gouin K, Forest J-C, Couturier B, et al. Reproducibility of first trimester three-dimensional placental measurements in the evaluation of early placental insufficiency. *J Obstet Gynaecol Can.* 2009; 31:1144–8. PMID: [20085680](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20085680/)
39. Howe D, Wheeler T, Perring S. Measurement of placental volume with real-time ultrasound in mid-pregnancy. *J Clin Ultrasound.* 1994; 22:77–83. PMID: [8132800](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/8132800/)

2. Traitement du retard de croissance intra-utérin d'origine vasculaire : Etude GROWTH

Après plusieurs études sur la prédiction du risque de PVP, nous nous sommes intéressés au traitement du versant fœtal de cette pathologie, le retard de croissance intra-utérin d'origine vasculaire.

Héparine de bas poids moléculaire pour le traitement du retard de croissance intra-utérin d'origine vasculaire : Essai randomisé multicentrique Etude GROWTH

Tiphaine Raia-Barjat MD^{1;2}, Silvy Laporte MD ;PhD³, Emilie Presles MD³, Murielle Doret MD;PhD⁴, Cyril Huissoud MD;PhD⁵, Denis Gallot MD;PhD⁶, Philippe Merviel MD;PhD⁷, Pascale Hoffmann MD;PhD⁸, Olivier Dupuis MD;PhD⁹, Paul Zufferey MD³, Florence Rancon MD³, Céline Chauleur MD;PhD^{1;2}

¹ Département de Gynécologie, Obstétrique, et Médecine de la Reproduction, CHU Saint Etienne. Université de Saint Etienne Jean Monnet, 42055 Saint Etienne cedex 2, France.

² Unité de recherche INSERM UMR1059 Université Jean Monnet 42023 Saint Etienne France

³ Unité de Recherche Clinique Innovation et Pharmacologie, CHU Saint Etienne. 42055 Saint Etienne cedex 2, France.

Service de Gynécologie Obstétrique de : ⁴Hospices civils de LYON- Hôpital Femme Mère Enfant, ⁵Hospices civils de Lyon – Hôpital de la Croix-Rousse, ⁶ CHU de Clermont-Ferrand,

⁷CHU de Brest, ⁸CHU de Grenoble, ⁹hospices civils de Lyon- Centre hospitalier Lyon Sud

Auteur correspondant :

Tiphaine Raia-Barjat

Département de Gynécologie-Obstétrique

CHU de Saint Etienne Hôpital NORD,

Avenue Albert Raimond

42270 Saint Priest en Jarez France

Téléphone: 04 77 82 86 09

Fax: 04 77 82 84 57

Email: raia.tiphaine@gmail.com

RESUME

Introduction : Le retard de croissance intra-utérin (RCIU) vasculaire est secondaire à un développement anormal du placenta avec altération de la circulation materno-fœtale, troubles de la coagulation et constitution d'infarctus placentaires. Le RCIU représente la troisième cause de mortalité périnatale en France et est associée à une morbidité importante. L'objectif principal est d'évaluer l'efficacité d'un traitement par énoxaparine à dose préventive (4000 UI/j) administrée lors du diagnostic de RCIU vasculaire jusqu'à la naissance ou au maximum jusqu'à 36SA, pour réduire le nombre de nouveau-nés ayant un poids de naissance inférieur au 10^{ème} percentile pour l'âge gestationnel.

Matériels et méthodes : Nous proposons un essai multicentrique randomisé en ouvert en 2 groupes parallèles comparant l'administration d'énoxaparine par voie sous-cutanée à dose préventive associée à une prise en charge classique (groupe 1) versus prise en charge classique seule (groupe 2). Le critère d'évaluation principal est le nombre de nouveau-nés ayant un poids de naissance inférieur au 10^{ème} percentile (Selon la formule AUDIPOG). Les critères d'évaluation secondaires porteront sur les paramètres de résistance des dopplers fœtaux et utérins et la tolérance du traitement. En choisissant une puissance statistique de 85%, et un risque d'erreur de 1^{ère} espèce alpha de 5%, 81 patientes par groupe sont nécessaires pour montrer une réduction relative de la fréquence de RCIU de 33% en supposant un taux d'événement sans traitement de 70%. Au total 162 patientes devront être incluses. L'étude à débiter en juillet 2016.

Ethique et Rayonnement : L'étude a été approuvée par le comité de protection des personnes (CPP) le 11 Avril 2016. Un comité d'évènements critiques et un comité de surveillance ont été établis. Les résultats de l'objectif principal et de chacune des analyses secondaires seront soumis pour publication.

INTRODUCTION

Définition, diagnostics et conséquences du retard de croissance intra-utérin

Le retard de croissance intra-utérin (RCIU) a été défini par le CNGOF lors des recommandations sur le RCIU en Décembre 2013. Le petit poids pour l'âge gestationnel est ainsi défini par un poids isolé (estimation échographique pondérale in utéro ou poids de naissance) inférieur au 10^{ème} percentile. Le 10^{ème} percentile est défini selon des courbes de croissance de référence à chaque âge gestationnel. (3). Ce seuil du 10^{ème} percentile est recommandé également par l'American College of Obstetricians and Gynecologists (ACOG) (4). 10% des grossesses se compliquent par définition d'un petit poids pour l'âge gestationnel. En échographie, les mesures les plus utilisées pour l'estimation de poids fœtal sont le diamètre bipariétal, la longueur fémorale et la circonférence abdominale selon les références de Haddlock et al. (5). Parmi les fœtus diagnostiqués échographiquement in utéro comme petit pour l'âge gestationnel, 69.6% des nouveau-né présenteront réellement un poids de naissance <10^{ème} percentile et 40.3% <3^{ème} percentile (6).

Le RCIU représente la troisième cause de mortalité périnatale en France et est associée à une morbidité importante (7). Le RCIU augmente le risque de complications gestationnelles, la morbidité néonatale et la mortalité néonatale (8). Pour des poids de naissance inférieurs au 10^{ème} percentile pour l'âge gestationnel, le risque de décès néonatal est doublé par rapport au poids normaux et se situe à 1.5% (9). Les études épidémiologiques ont démontré que les fœtus présentant un RCIU étaient prédisposés au développement de troubles cognitifs mineurs, de difficultés scolaires dans l'enfance et de syndrome métabolique à l'âge adulte (obésité, diabète de type 2, pathologies et accidents cardio-vasculaires) (10,11). L'étude multicentrique prospective observationnelle PORTO a montré que l'estimation échographique du poids fœtal <3^{ème} percentile était le plus fortement corrélée aux complications périnatales. Parmi les fœtus dont l'estimation échographique du poids fœtal était <10^{ème} percentile, 28% des fœtus ont été

admis en soins intensifs néonataux, 5.2% ont présenté une complication majeure et 0.7% n'ont pas survécu (12).

RCIU d'origine vasculaire

80 à 90 % des RCIU sont d'origine vasculaire. La définition du RCIU d'origine vasculaire s'appuie sur les anomalies de compliance des artères utérines : élévation des index de résistance des artères utérines, diminution du flux diastolique et présence de NOTCH au-delà de 24 SA. L'analyse est subjective (présence de Notch) et objective (index de pulsatilité >1.45) (13). L'examen doppler des artères utérines au deuxième trimestre apparaît être l'examen le plus précoce et le plus sensible pour le dépistage du RCIU d'origine vasculaire (14). Les autres arguments sont : le caractère asymétrique du RCIU, les anomalies de structure et de volume placentaire, et l'oligoamnios (15). Le doppler ombilical est aussi le reflet des résistances vasculaires placentaires. La diminution du flux diastolique apparaît lorsque plus de 30% de la vascularisation chorale est endommagée. La disparition complète du flux diastolique correspond généralement à des dommages supérieurs à 60% (3).

Pathogénie du retard de croissance intra-utérin vasculaire

Le RCIU vasculaire est secondaire à un développement anormal du placenta avec altération de la circulation materno-fœtale, constitution d'infarctus placentaires et déséquilibre de la balance thromboxane A₂/prostacyclines et des facteurs angiogéniques (16). La lésion primitive a d'abord été décrite comme un déficit d'invasion du trophoblaste vers les artères spiralées utérines maternelles durant le second trimestre de la grossesse, conduisant à une hypoperfusion de la circulation utéroplacentaire et à une ischémie placentaire (17).

La souffrance placentaire résultante de ces anomalies d'invasion vasculaire induirait le largage de médiateurs dans la circulation maternelle, responsable du développement d'une réponse

endothéliale vasoconstrictrice inadaptée, et du syndrome clinique et biologique développé par la mère lors de la pré-éclampsie. L'activation et des plaquettes et du système de la coagulation peuvent survenir tôt lors de l'installation de cette pathologie, avant que les symptômes cliniques ne se développent (18). 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, ont pu être argumentés. (19,20) Les concepts actuels suggèrent que la physiopathologie résulte d'un déséquilibre de facteurs angiogéniques témoignant d'une activation de la coagulation. (21)(22)

L'examen anatomopathologique des placentas de grossesses compliquées de RCIU a mis en évidence une association de lésions multiples. Salafia et al. ont notamment mis en évidence des phénomènes de nécrose et de thrombose (23–25). Cette anomalie vasculaire associée à un trouble de la coagulation et à un phénomène de thrombose placentaire pourrait faire supposer un potentiel effet bénéfique d'un traitement antiagrégant ou anticoagulant. (26)

Etudes sur la prévention et le traitement du RCIU vasculaire et des pathologies vasculaires placentaires associés

En prévention, l'aspirine n'a pas montré d'efficacité pour réduire la survenue des PVP lors d'une première grossesse (27). En prévention de la récurrence des PVP, l'aspirine permet une réduction significative du risque de développer une pré-éclampsie de 10 % et une réduction significative des petits poids de naissance pour l'âge gestationnel de 10% selon une méta analyse de la *cochrane review* en 2007 (28,29). Les HBPM dans le même contexte permettent une réduction significative du risque de mortalité périnatale, d'accouchement prématuré avant 34SA et avant 37SA, d'enfant ayant un poids de naissance inférieur au 10^{ème} percentile pour l'âge gestationnel selon une revue de la *Cochrane review* de Dodd et al. en 2013. Les études incluses dans cette méta analyse restaient par contre de faible niveau de preuve (30). Il existe

un manque de données fiables disponibles sur les complications graves périnatales et sur les résultats à long terme d'une prévention par les HBPM (31).

La prise en charge classique d'un RCIU vasculaire repose principalement sur la mise en place d'une surveillance active de la croissance, des dopplers et des enregistrements du rythme cardiaque fœtal (>26SA) mais aucun traitement anticoagulant n'est utilisé. Cette prise en charge est définie par les recommandations du CNGOF datant de 2103. Une seule étude randomisée a étudié l'administration d'HBPM à dose préventive pendant 14 jours dans le RCIU vasculaire constitué. Dans cet essai en ouvert ayant inclus 73 patientes les résultats étaient en faveur du groupe héparine. Ils ont montré une amélioration significative de marqueurs physiopathologiques de la pathologie vasculaire placentaire par les HBPM : amélioration des indices hémorhéologiques maternelles et réduction de l'apoptose placentaire. (32) Ceci était associé à une meilleure cinétique de croissance fœtale et un poids de naissance plus élevé (2877g vs 2492g) dans le groupe HBPM. Cette étude « proof of concept » suggère que les HBPM sont un traitement physiopathologique du RCIU vasculaire constitué. Par ailleurs, un essai italien ouvert et contrôlé a analysé l'effet d'un traitement court, durant la grossesse, par HBPM, sur l'index de résistance hémodynamique des artères utérines évalué par échographie doppler, chez des femmes ayant une hypertension de la grossesse et chez des témoins, entre la 24^{ème} et 26^{ème} SA. Le traitement par HBPM s'est accompagné d'une baisse de l'index de résistance des artères utérines chez les femmes atteintes d'hypertension gravidique traitées par HBPM, mais pas chez les hypertendues non-traitées, ni chez les témoins (2). Aucune étude n'a porté sur l'intérêt des HBPM dans le cadre de la pré-éclampsie car cette pathologie constitue une indication semi-urgente d'extraction fœtale. D'autres traitements ont été étudié : l'aspirine (33), l'administration d'oxygène, la supplémentation en nutriments, le repos, les inhibiteurs calciques, les bêta mimétiques, ... sans preuve formelle de leur efficacité.

RATIONNEL :

A l'heure actuelle, aucune stratégie pharmacologique n'est recommandée pour le traitement des patientes présentant un RCIU vasculaire constitué. Des données physiopathologiques et cliniques concernant le RCIU vasculaire suggèrent que les HBPM administrés pendant 14 jours sont efficaces dans cette indication pour améliorer le poids de naissance. Cependant le niveau de preuve du bénéfice des HBPM n'est pas suffisant et un traitement prolongé jusqu'à 36 SA (comme l'aspirine en prévention des PVP) mérite d'être évalué. Ainsi, nous proposons la première étude randomisée dans le RCIU vasculaire constitué pour évaluer l'efficacité d'une administration prolongée d'HBPM à dose préventive sur le nombre de nouveau-nés ayant un poids de naissance inférieur au 10^{ème} percentile.

OBJECTIFS :**Objectif principal**

L'objectif principal est d'évaluer l'efficacité d'un traitement par énoxaparine à dose préventive administrée lors du diagnostic de RCIU vasculaire jusqu'à la naissance ou au maximum jusqu'à 36 SA, pour réduire le nombre de nouveau-nés ayant un poids de naissance inférieur au 10^{ème} percentile pour l'âge gestationnel.

Objectifs secondaires

(1) Evaluer l'impact d'un traitement par énoxaparine lors du diagnostic de RCIU vasculaire sur :

- les paramètres de résistance des dopplers fœtaux et utérins
- la croissance fœtale
- les paramètres néonataux majeurs et mineurs

(2) Évaluer la tolérance du traitement par énoxaparine

(3) Evaluer les facteurs prédictifs d'un poids de naissance inférieur au 10^{ème} percentile.

MATERIELS ET METHODES

Type d'étude

Il s'agit d'une étude prospective multicentrique randomisée en ouvert en groupes parallèles comparant l'administration d'énoxaparine 4000 UI/j associée à une prise en charge classique (groupe 1) versus prise en charge classique seule (groupe 2). Le traitement comprendra dans le groupe énoxaparine une injection sous-cutanée par jour d'énoxaparine à 4000 UI anti-Xa/0,4 ml. Le traitement sera débuté dès le diagnostic de RCIU vasculaire (≥ 22 SA) et jusqu'au début de la 36^{ème} semaine d'aménorrhée ou l'accouchement. Les inclusions ont débuté en juillet 2017 et l'étude devrait durer 3 ans.

L'étude a été approuvée par le comité de protection des personnes (CPP), par l'agence française du médicament et par la CNIL (Commission informatique et liberté). Un comité d'évènements critiques et un comité de surveillance ont été établis.

La figure 1 résume les détails du déroulement de l'étude.

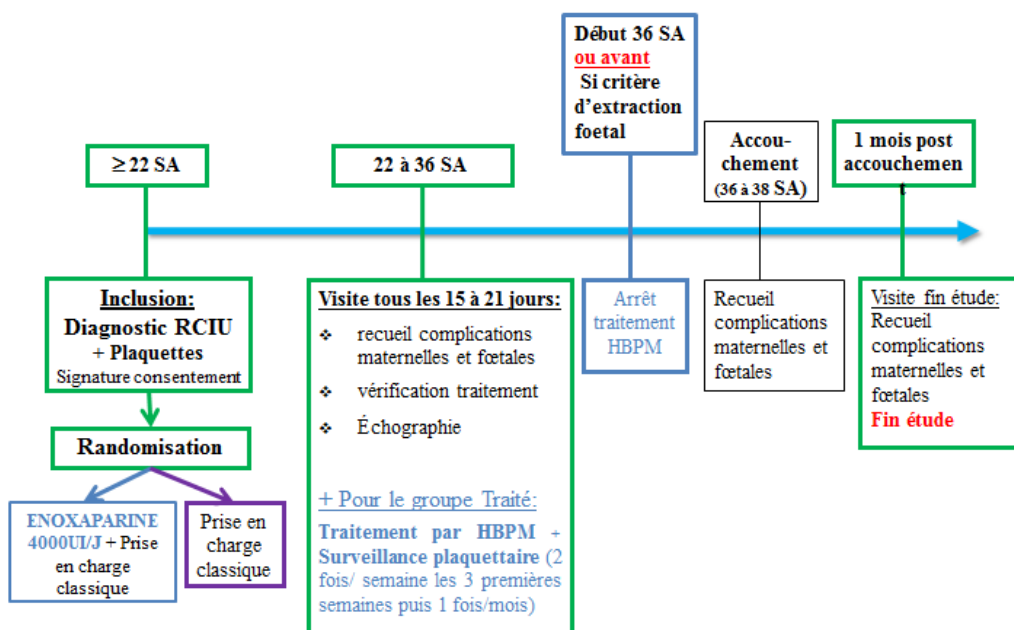


Figure 1 : déroulement de l'étude

Critères d'inclusion

Patiente de plus de 18 ans étant à un âge gestationnel ≥ 22 SA et <34 SA présentant un RCIU vasculaire défini selon le CNGOF (Collège National des Gynécologues et Obstétriciens Français Annexe 4) par :

- Estimation échographique du poids fœtal inférieure au 10^{ème} percentile.
- Arguments cliniques et échographiques en faveur d'un défaut de croissance pathologique ou d'une altération du bien-être fœtal
- Arguments cliniques et échographiques en faveur d'une insuffisance placentaire (dopplers utérins pathologiques de façon uni- ou bilatérale)

Ayant bénéficié d'une datation précise de grossesse lors d'une échographie entre 11⁺⁰ et 13⁺⁶SA.

Consentement écrit après délivrance d'une notice d'information comportant l'explication sur les avantages et risques notamment pour l'anesthésie péridurale en cas de traitement en cours.

RANDOMISATION

La randomisation sera réalisée à distance de manière centralisée à l'Unité de recherche Clinique, Innovation Pharmacologie.

L'inclusion des patients et la déclaration de nouvelles visites de suivi de la grossesse se font à travers un ECRF sur le Web (<https://ecrf-ste.girci-raa.org/CSOnline/>), où la fiche d'information et le formulaire de consentement, peuvent être téléchargés directement.

GROUPE TRAITEMENT**Pour les deux groupes**

Le suivi de la grossesse sera conforme aux recommandations du CNGOF avec échographie au minimum toutes les 3 semaines. Avec notamment :

- Des corticoïdes pour la maturation pulmonaire seront réalisés à partir de 26SA.
- Le terme d'accouchement sera à adapter aux données fœtales et maternelles.
- La décision finale du terme et du mode d'accouchement sera laissée à l'équipe prenant en charge la patiente en tenant compte des recommandations.
- Les suites de couches seront suivies selon les modalités habituelles,

Spécifiquement pour le groupe HBPM

- L'injection sous-cutanée sera réalisée par la patiente lors d'un suivi en ambulatoire (un apprentissage par une IDE pendant 3 jours sera prescrit). L'infirmière fait la première séance d'éducation à l'auto-injection en sous-cutanée renouvelée le lendemain et le surlendemain. L'observance de la patiente sera vérifiée à chaque visite à l'aide du carnet de suivi des injections. En cas d'hospitalisation, l'injection sera faite par l'équipe médicale. Dans ce cas, le carnet de suivi sera complété par l'équipe médicale
- Suivi biologique spécifique à cette étude avec une numération des plaquettes sanguines 2 fois par semaines pendant 3 semaines, puis 1 fois par mois jusqu'à la fin de la grossesse. Vérification en temps réel (<24 heures du prélèvement) de la variation des plaquettes. Toute décroissance supérieure à 40% entre 2 prélèvements successifs ou un chiffre absolu de plaquettes inférieur à 100 000/mm³ entraînera un contrôle immédiat sur tube citraté au centre investigateur du taux de plaquettes. Si la décroissance est confirmée, un arrêt immédiat des injections et l'application de la procédure « Suspicion de TIH » sont prévus. En cas de retard à un contrôle, une relance téléphonique à 48H après la date théorique sera effectuée.
- Les injections seront interrompues à 36 SA+ 0j ou jusqu'au jour de l'accouchement si celui-ci est anticipé ou jusqu'à la survenue d'une complication.

CRITERES D'EVALUATION

Critère d'évaluation principal

Nombre de nouveau-nés ayant un poids de naissance inférieur au 10^{ème} percentile. (Selon la formule AUDIPOG (http://www.audipog.net/courbes_morpho.php)).

Critères d'évaluation secondaires

(1) Les paramètres de résistance des dopplers fœtaux et utérins sont les suivants : Doppler des artères utérines et Doppler ombilical.

La croissance fœtale sera mesurée à l'aide des paramètres suivants : évolution de l'EPF (Estimation du Poids Fœtal), le poids de naissance en grammes, le nombre de nouveau-nés ayant un poids de naissance inférieur au < 3^{ème} percentile, le nombre d'extraction fœtale pour arrêt de la croissance ou cassure de la courbe de croissance.

Les paramètres néonataux majeurs et mineurs seront mesurés. Ces critères seront mesurés à la naissance puis à 1 mois de vie.

(2) La tolérance du traitement sera évaluée lors de chaque consultation de suivi (Annexe 5)

2.1. Manifestations hémorragiques maternelles majeures et non majeures mais cliniquement pertinentes définies selon l'ISTH auxquelles ont été ajoutées les définitions spécifiques à la Gynécologie-Obstétrique

2.2. Intolérance cutanée aux points d'injection

2.3. Thrombocytopénie

2.4. Douleurs osseuses spontanées, événement fracturaire.

(3) Les facteurs prédictifs d'un poids de naissance inférieur au 10^{ème} percentile.

NOMBRE DE SUJETS NECESSAIRES

Le calcul de l'effectif s'appuie sur les données d'une cohorte de Fong et al. présentant des critères échographiques d'inclusion similaires à notre étude. Dans cette cohorte chez des fœtus chez qui le diagnostic de RCIU vasculaire a été fait en échographie, 70% des nouveau-nés présentaient un RCIU confirmé, c'est à dire un poids de naissance inférieur au 10^{ème} percentile (6). L'étude de Yu et al. a montré une efficacité des HBPM sur la prise de poids mais ne renseigne pas sur le pourcentage de nouveau-nés qui présentaient un poids de naissance inférieur au 10^{ème} percentile, critère principal de notre projet (30). Cependant, en utilisant les résultats sur le poids de naissance des enfants et en supposant une distribution de forme Normale, il a été possible de simuler la distribution des poids de naissance et d'estimer le pourcentage d'enfants ayant un poids de naissance inférieur au 10^{ème} percentile. La réduction relative de risque de RCIU estimée est d'environ 45% en faveur des HBPM. Compte tenu de l'approximation de cet effet, il est raisonnable d'escompter une réduction relative du risque de RCIU de 1/3 avec l'énoxaparine.

En choisissant une puissance statistique de 85%, et un risque d'erreur de 1^{ère} espèce alpha de 5%, 81 patientes par groupe sont nécessaires pour montrer une réduction relative de la fréquence de RCIU de 33% en supposant un taux d'événement sans traitement de 70%.

Au total 162 patientes devront être incluses.

ANALYSES STATISTIQUES

La stratégie de la saisie et de l'analyse des données s'effectuera au sein de l'EA 3065. Un contrôle qualité de l'ensemble de la base de données sera réalisé en fin d'étude. La base sera gelée avant l'ouverture des analyses statistiques.

Analyse descriptive

La population incluse sera tout d'abord décrite globalement et par groupe grâce aux méthodes statistiques suivantes :

- variables quantitatives : nombre de données disponibles, moyenne, écart-type, médiane, 1er et 3ème quartiles, minimum et maximum ;
- variables qualitatives : fréquences absolues et relatives (exprimées en %).

Analyse du critère principal

Afin de comparer la proportion de nouveau-nés avec un poids de naissance inférieur au 10^{ème} percentile entre les deux groupes, un test exact de Fisher sera effectué. Le risque relatif ainsi que son intervalle de confiance à 95% pourront également être calculés. Si un déséquilibre sur un ou des facteurs de confusion apparaît, une analyse de sensibilité sera réalisée en ajustant sur ce ou ces facteurs. Pour cela, un modèle logistique multivarié sera alors envisagé.

Analyse des critères secondaires

Les méthodes statistiques utilisées pour évaluer l'impact d'un traitement par HBPM lors du diagnostic de RCIU vasculaire sur les paramètres de résistance des Dopplers foetaux et utérins, de croissance fœtale et néonataux majeurs et mineurs seront identiques à celles proposées pour l'analyse du critère principal dans le cas d'un paramètre qualitatif. Si le critère est quantitatif, un test T de Student ou un test des rangs sera effectué et ce en fonction de la Normalité de la distribution de la variable testée. La Normalité sera au préalable vérifiée à l'aide d'un test de Shapiro-Wilk. Les paramètres de tolérance seront analysés avec les mêmes méthodes.

Enfin, afin de déterminer des facteurs prédictifs d'un poids de naissance inférieur au 10ème percentile, des modèles logistiques seront utilisés. Ainsi, des analyses univariées seront mises en œuvre sur chacun de ces facteurs (facteurs identifiés dans le chapitre objectifs secondaires).

Les variables avec une prévalence supérieure à 3% et présentant une p-valeur inférieure à 0.15

seront alors introduites dans un modèle multivarié. Les corrélations entre ces variables seront au préalable vérifiées. Si certaines variables sont corrélées de manière significative, le choix de la variable à introduire dans le modèle multivarié se fera soit sur la pertinence clinique soit sur la valeur de la c-statistic des modèles multivariés construits avec l'une ou l'autre des variables. Enfin, une variable sera considérée comme facteur indépendant associé à un poids de naissance inférieur au 10^{ème} percentile si elle présente une p-valeur inférieure à 0.05 dans le modèle multivarié.

Degré de signification statistique

Les résultats seront considérés comme significatifs au seuil de 5%.

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

Si des données manquantes sont observées sur le critère d'évaluation principal, une analyse de sensibilité sera effectuée selon l'hypothèse du biais maximal. Ainsi, une patiente randomisée dans le groupe énoxaparine + prise en charge classique sera considérée comme en échec, c'est-à-dire naissance d'un enfant dont le poids est inférieur au 10^{ème} percentile. A l'inverse, une patiente randomisée dans le groupe prise en charge classique sera considérée comme un succès (poids de naissance supérieur au 10^{ème} percentile).

Analyse pour le comité de surveillance

L'analyse pour le comité de surveillance portera sur les critères de tolérance définis en critères secondaires dans un souci de sécurité des patients. Aucune analyse intermédiaire portant sur le critère de jugement principal n'est prévue. Aussi, le risque d'erreur global sera de 5% pour l'analyse finale.

Gestion des modifications apportées au plan d'analyse de la stratégie initiale

L'analyse sera réalisée en intention de traiter.

COMITES

Comité de pilotage

Il sera constitué des initiateurs cliniciens du projet, du méthodologiste et du biostatisticien en charge du projet, des représentants du promoteur et de l'Unité de recherche clinique du CHU de Saint-Etienne nommés pour cette recherche. Il définira l'organisation générale et le déroulement de la recherche et coordonnera les informations. Il déterminera initialement la méthodologie et décidera en cours de recherche des conduites à tenir dans les cas imprévus, surveillera le déroulement de la recherche en particulier sur le plan de la tolérance et des événements indésirables.

Comité de surveillance indépendant

Un Comité de Surveillance Indépendant (CSI) sera mis en place afin d'assurer la sécurité de l'étude tout au long de son déroulement, sur la base des données de sécurité qui lui seront fournies en cours d'étude telle la tolérance et les événements indésirables. Les analyses de sécurité porteront sur les événements cités plus haut en comparant la survenue des événements dans les deux groupes. Le CSI a un rôle consultatif, il fera part de ses recommandations à l'investigateur-coordonnateur : il pourra s'agir de la poursuite de l'étude (avec ou sans amendement) ou de l'arrêt de l'étude. Il est constitué de personnes extérieures à la recherche dont nécessairement deux cliniciens experts dans la pathologie étudiée et un pharmacologue/méthodologiste, ainsi que le statisticien indépendant, membre non votant. Ce CSI se réunira après l'inclusion de la moitié des patientes ou à la demande du président du CSI, en cas de survenue d'un événement indésirable grave ayant trait à la sécurité des patientes (hémorragie majeure, hémorragie de la délivrance sévère, thrombocytopénie, événement fracturaire). Tous les membres de ce CSI seront informés de façon instantanée par l'attaché de recherche clinique de la survenue d'un tel événement. Le Président du Comité de Surveillance pourra décider à tout moment de réunir le Comité en urgence par téléconférence.

Comité indépendant de validation des évènements critiques

L'étude étant en ouvert, il est prévu dans cette étude un comité indépendant à l'aveugle des traitements, pour la validation du diagnostic d'accidents hémorragiques graves ou cliniquement pertinents, d'hémorragie de la délivrance sévère, de thrombocytopénie, d'évènement fracturaire. Il est composé de trois membres dont le rôle sera de confirmer le diagnostic pour chaque patient ayant présenté un tel événement. Dans un premier temps, pour chaque patient inclus, le clinicien en charge du patient, recueillera les événements, à partir des données cliniques, biologiques et radiologiques, comme accidents hémorragiques graves ou cliniquement pertinents, hémorragie de la délivrance sévère, thrombocytopénie, évènement fracturaire, ... Le diagnostic final «confirmé» sera établi par le comité d'experts qui statuera sur l'ensemble des accidents certains.

ETHIQUE ET RAYONNEMENT

L'étude a été approuvée par le comité de protection des personnes (CPP) le 11 Avril 2016, par l'agence française du médicament et par la CNIL (Commission informatique et liberté).

L'étude a été déclarée sur le site Clinicaltrials.gov sous le numéro NCT02672566 le 28 janvier 2016. Les résultats de l'objectif principal et de chacune des analyses secondaires seront soumis pour publication.

DISCUSSION

Ainsi, nous proposons la première étude randomisée dans le RCIU vasculaire constitué pour évaluer l'efficacité d'une administration prolongée d'HBPM à dose préventive sur le nombre de nouveau-nés ayant un poids de naissance inférieur au 10^{ème} percentile. Deux groupes seront comparés : HBPM + prise en charge classique versus prise en charge classique. L'HBPM choisie est l'enoxaparine à 4000UI/j. Cette HBPM présente un recul important chez la femme

enceinte ainsi qu'une bonne tolérance à la dose de 4000UI/j. L'HBPM sera administrée à partir du diagnostic de RCIU vasculaire inférieur au 10^{ème} percentile (entre 22SA et 34 SA) jusqu'à 36 SA (ou naissance). Le diagnostic de RCIU vasculaire inférieur au 10^{ème} percentile sera posé en suivant les recommandations du CNGOF. Les patientes seront suivies et traitées selon les mêmes recommandations.

Les investigateurs n'ont pas de conflits d'intérêts à déclarer.

REFERENCES

1. Yu Y, Shen L, Zhong M, et al. [Effect of heparin on fetal growth restriction]. *Zhonghua Fu Chan Ke Za Zhi*. 2004;39:793–6.
2. Torricelli M, Reis FM, Florio P, et al. 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.
3. Retard de croissance intra-utérin : recommandations pour la pratique clinique – Texte court. *J Gynécologie Obstétrique Biol Reprod*. 2013;42:1018–25.
4. Practice bulletin no. 134: fetal growth restriction. *Obstet Gynecol*. 2013;121:1122–33.
5. Hadlock FP, Harrist RB, Sharman RS, Deter RL, Park SK. Estimation of fetal weight with the use of head, body, and femur measurements--a prospective study. *Am J Obstet Gynecol*. 1985;151:333–7.
6. Fong KW, Ohlsson A, Hannah ME, et al. Prediction of perinatal outcome in fetuses suspected to have intrauterine growth restriction: Doppler US study of fetal cerebral, renal, and umbilical arteries. *Radiology*. 1999;213:681–9.
7. Blondel B, Supernant K, Du Mazaubrun C, Bréart G, pour la Coordination nationale des Enquêtes Nationales Périnatales. [Trends in perinatal health in metropolitan France between 1995 and 2003: results from the National Perinatal Surveys]. *J Gynécologie Obstétrique Biol Reprod*. 2006;35:373–87.
8. Resnik R. Intrauterine growth restriction. *Obstet Gynecol*. 2002;99:490–6.
9. Getahun D, Ananth CV, Kinzler WL. Risk factors for antepartum and intrapartum stillbirth: a population-based study. *Am J Obstet Gynecol*. 2007;196:499–507.

10. Pallotto EK, Kilbride HW. Perinatal outcome and later implications of intrauterine growth restriction. *Clin Obstet Gynecol.* 2006;49:257–69.
11. Barker DJP. Adult consequences of fetal growth restriction. *Clin Obstet Gynecol.* 2006;49:270–83.
12. Unterscheider J, Daly S, Geary MP, et al. Optimizing the definition of intrauterine growth restriction: the multicenter prospective PORTO Study. *Am J Obstet Gynecol.* 2013;208:290.e1–6.
13. Bower S, Kingdom J, Campbell S. Objective and subjective assessment of abnormal uterine artery Doppler flow velocity waveforms. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 1998;12:260–4.
14. Cnossen JS, Morris RK, ter Riet G, et al. Use of uterine artery Doppler ultrasonography to predict pre-eclampsia and intrauterine growth restriction: a systematic review and bivariable meta-analysis. *CMAJ Can Med Assoc J J Assoc Medicale Can.* 2008;178:701–11.
15. Miller J, Turan S, Baschat AA. Fetal growth restriction. *Semin Perinatol.* 2008;32:274–80.
16. Hendrix N, Berghella V. Non-placental causes of intrauterine growth restriction. *Semin Perinatol.* 2008;32:161–5.
17. Redman CW. Current topic: pre-eclampsia and the placenta. *Placenta.* 1991;12:301–8.
18. Janes SL, Kyle PM, Redman C, Goodall AH. Flow cytometric detection of activated platelets in pregnant women prior to the development of pre-eclampsia. *Thromb Haemost.* 1995;74:1059–63.
19. Masotti G, Galanti G, Poggesi L, Abbate R, Neri Serneri GG. Differential inhibition of prostacyclin production and platelet aggregation by aspirin. *Lancet.* 1979;2:1213–7.
20. Bussolino F, Benedetto C, Massobrio M, Camussi G. Maternal vascular prostacyclin activity in pre-eclampsia. *Lancet.* 1980;2:702.

21. Schlembach D, Wallner W, Sengenberger R, et al. Angiogenic growth factor levels in maternal and fetal blood: correlation with Doppler ultrasound parameters in pregnancies complicated by pre-eclampsia and intrauterine growth restriction. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2007;29:407–13.
22. Stepan H, Krämer T, Faber R. Maternal Plasma Concentrations of Soluble Endoglin in Pregnancies with Intrauterine Growth Restriction. *J Clin Endocrinol Metab.* 2007;92:2831–4.
23. Salafia CM, Minior VK, Pezzullo JC, Popek EJ, Rosenkrantz TS, Vintzileos AM. Intrauterine growth restriction in infants of less than thirty-two weeks' gestation: associated placental pathologic features. *Am J Obstet Gynecol.* 1995;173:1049–57.
24. Salafia CM, Charles AK, Maas EM. Placenta and fetal growth restriction. *Clin Obstet Gynecol.* 2006;49:236–56.
25. Salafia CM. Placental pathology of fetal growth restriction. *Clin Obstet Gynecol.* 1997;40:740–9.
26. Dekker GA, Sibai BM. Etiology and pathogenesis of preeclampsia: current concepts. *Am J Obstet Gynecol.* 1998;179:1359–75.
27. Subtil D, Goeusse P, Puech F, et al. Aspirin (100 mg) used for prevention of pre-eclampsia in nulliparous women: the Essai Régional Aspirine Mère-Enfant study (Part 1). *BJOG Int J Obstet Gynaecol.* 2003;110:475–84.
28. Duley L, Henderson-Smart DJ, Meher S, King JF. Antiplatelet agents for preventing pre-eclampsia and its complications. *Cochrane Database Syst Rev Online.* 2007;:CD004659.
29. Askie LM, Duley L, Henderson-Smart DJ, Stewart LA. Antiplatelet agents for prevention of pre-eclampsia: a meta-analysis of individual patient data. *Lancet.* 2007;369:1791–8.

30. Dodd JM, McLeod A, Windrim RC, Kingdom J. Antithrombotic therapy for improving maternal or infant health outcomes in women considered at risk of placental dysfunction. *Cochrane Database Syst Rev*. 2013;7:CD006780.
31. Lausman A, McCarthy FP, Walker M, Kingdom J. Screening, diagnosis, and management of intrauterine growth restriction. *J Obstet Gynaecol Can JOGC J Obstétrique Gynécologie Can JOGC*. 2012;34:17–28.
32. Yu Y-H, Shen L-Y, Zou H, Wang Z-J, Gong S-P. Heparin for patients with growth restricted fetus: a prospective randomized controlled trial. *J Matern-Fetal Neonatal Med Off J Eur Assoc Perinat Med Fed Asia Ocean Perinat Soc Int Soc Perinat Obstet*. 2010;23:980–7.
33. Subtil D, Goeusse P, Houfflin-Debarge V, et al. Randomised comparison of uterine artery Doppler and aspirin (100 mg) with placebo in nulliparous women: the Essai Régional Aspirine Mère-Enfant study (Part 2). *BJOG Int J Obstet Gynaecol*. 2003;110:485–91.
34. Mismetti P, Laporte S, Pellerin O, et al. Effect of a retrievable inferior vena cava filter plus anticoagulation vs anticoagulation alone on risk of recurrent pulmonary embolism: a randomized clinical trial. *JAMA*. 2015;313:1627–35.
35. Frappé P, Buchmuller-Cordier A, Bertoletti L, et al. Annual diagnosis rate of superficial vein thrombosis of the lower limbs: the STEPH community-based study. *J Thromb Haemost JTH*. 2014;12:831–8.
36. Bonnin M, Bolandard F, Mercier FJ, Bazin J-E, Benhamou D. [Iatrogenic effects of the treatment with heparin in pregnancy]. *Ann Médecine Interne*. 2003;154:386–91.
37. Sanson BJ, Lensing AW, Prins MH, et al. Safety of low-molecular-weight heparin in pregnancy: a systematic review. *Thromb Haemost*. 1999;81:668–72.
38. Wawrzyńska L, Tomkowski WZ, Przedlacki J, Hajduk B, Torbicki A. Changes in bone density during long-term administration of low-molecular-weight heparins or acenocoumarol

for secondary prophylaxis of venous thromboembolism. *Pathophysiol Haemost Thromb.* 2003;33:64–7.

39. Casele HL, Laifer SA. Prospective evaluation of bone density in pregnant women receiving the low molecular weight heparin enoxaparin sodium. *J Matern Fetal Med.* 2000;9:122–5.

DISCUSSION, CONCLUSIONS, PERSPECTIVES

DISCUSSION, CONCLUSIONS, PERSPECTIVES

1. Discussion

1.1 Synthèse de la littérature et de nos résultats

Les études sur la prédiction du risque de survenue d'une pathologie vasculaire placentaire se caractérisent par une hétérogénéité :

- des méthodologies : cohorte, cas-témoins, randomisé
- des populations étudiées : population à bas risque, population à haut risque en prévention de la récurrence et parfois toutes les patientes globalisées (bas et haut risque)
- des facteurs étudiés : caractéristiques maternelles, (caractéristiques démographiques, histoire médicale, pression artérielle moyenne), données échographiques (Dopplers des artères utérines, volume placentaire, écho-angiographie placentaire), dosages sanguins maternels (PlGF, SFLT1, SEng, PAPP-A...)
- de l'association ou non des facteurs de prédiction en des modèles combinés
- des issues étudiées : pré-éclampsie seulement, RCIU seulement, ou toutes les pathologies vasculaires placentaires.

Cette hétérogénéité explique en partie la variabilité des résultats observés dans les différentes études.

Il est important de partir de la prévalence de l'évènement dans la population d'étude afin de vérifier si les résultats peuvent être transposés à la pratique. En population à bas risque, la prévalence attendue est de 1 à 2 %. Une prévalence de la prééclampsie supérieure à 8 % témoigne d'une population d'étude à haut risque. Si la prévalence de l'évènement étudié est faible dans la population étudiée, une bonne valeur prédictive négative peut être observée même pour une sensibilité faible. Les chiffres élevés de VPN dans certaines études sont potentiellement dus à l'incidence relativement faible de la prééclampsie.

La plupart des publications analysant la performance prédictive de différents facteurs au premier trimestre sont des études cas-témoins nichées (nested case control study). A partir d'une cohorte, le groupe des cas est ensuite constitué par les patientes ayant présenté un évènement et les témoins sont sélectionnés de façon rétrospective à partir des patientes n'ayant pas

développé de pathologie. Ces études possèdent tout de même un bon niveau de preuve car le recueil des données se fait de façon prospective.

La population d'étude et la répartition dans les groupes cas ou témoins peut induire un biais de sélection. En n'incluant que des grossesses normales dans le groupe témoin, il est possible d'augmenter artificiellement la performance du test. Appliqué en population générale, le même test peut donner lieu à un nombre supérieur de faux positifs. Méthodologiquement, la détermination de la population contrôle doit donc être réalisée de façon non biaisée pour éviter de surreprésenter les « vrais négatifs » dans le groupe témoin. Enfin, la plupart des études publiées n'évaluent pas la validité externe des algorithmes de prédiction qu'elles proposent.

Les études sur la prédiction des PVP portent principalement sur la prédiction du risque de pré-éclampsie et très peu sur le risque de RCIU alors que la physiopathologie est identique. Nous n'avons pas retrouvé dans la littérature d'étude ayant comparé les performances dans ces deux situations. Les performances des tests sont directement liées à l'âge gestationnel de survenue de la pré-éclampsie. Plus l'évènement est précoce plus la sensibilité est bonne.

Prédiction du risque de survenue d'une PVP

Nous nous sommes intéressés au facteur de l'hémostase et notamment au TFPI. Ce facteur produit par les cellules endothéliales intervient dans la cascade de la coagulation. Peu d'études s'étaient intéressées à son évaluation durant la grossesse et à sa corrélation avec la survenue de PVP. Nous nous sommes intéressés à une population à haut risque défini sur les caractéristiques démographiques et l'histoire médical des patientes. Le TFPI s'interprète à partir de deux facteurs que sont sa résistance et son activité. La résistance TFPI est définie selon la réponse anticoagulante au TFPI. L'activité TFPI est basée sur la capacité du TFPI de l'échantillon plasmatique à inhiber le complexe FT/VIIa en présence de Xa. Quinze patientes sur les 72 ont présenté une PVP. Nous nous sommes ainsi intéressés aux RCIU et aux PE. Nous avons mis en évidence une résistance au TFPI induit par la grossesse, sans qu'il existe de différence entre les patientes ayant présenté ou non une PVP. Cette réponse participe à l'hypercoagulabilité physiologique, inhérente à l'état gravide, qui est liée entre autres à un déficit physiologique en protéine S ainsi qu'à la résistance à la protéine C activée acquise (non liée à une mutation du facteur V Leyden). Nous avons mis en évidence que le taux de TFPI activité était significativement plus élevé dans le groupe de patientes ayant présenté une PVP. Le ratio

TF/TFPI se trouve alors augmenté dans cette population de patientes, soulignant le mécanisme d'hypercoagulabilité dans la genèse des PE. L'administration d'HBPM pourrait diminuer l'effet pro coagulant chez ces patientes, en augmentant la sécrétion et la production de TFPI par les cellules endothéliales.

Sur la cohorte des 200 patientes, nous avons comparé le dosage des deux facteurs angiogéniques SFLT1 et Seng chez les patientes ayant présenté une pré-éclampsie et une RCIU. 24 patientes ont présenté une PE dont 9 associées à un RCIU et 21 un RCIU sans PE. Les taux des deux facteurs angiogéniques n'étaient pas significativement différents entre les deux groupes malgré une tendance à des taux plus élevés en cas de pré-éclampsie. Les taux dans ces deux groupes PE et RCIU étaient par contre significativement plus élevés que pour les patientes n'ayant pas présenté de complication.

Nous avons défini des seuils présentant la meilleurs sensibilité et spécificité à l'aide de courbes ROC. Les seuils obtenus étaient tout à fait concordants avec ceux décrits dans la littérature. Nous avons associé aux facteurs angiogéniques mesurés à 24SA, la mesure du Dopplers des artères utérines à 22SA. La présence d'anomalies bilatérales des dopplers utérins était plus fréquente en cas de PVP. Lorsque les anomalies des dopplers utérins étaient utilisées pour prédire la survenue d'une PVP, sensibilité, spécificité, VPP et VPN étaient respectivement de 46,7 %, 83,2%, 44,7% et 84,3%. La présence d'un taux de Sflt-1 supérieur à 1790,1 pg/mL et de notchs bilatéraux était associée respectivement à des sensibilité, spécificité, VPP et VPN de 11,1%, 100%, 100% et 79,5% pour prédire le risque de survenue d'une PVP. La présence d'un taux de SEng supérieur à 5,454 ng/mL et de notchs bilatéraux était associée respectivement à une sensibilité, spécificité, VPP et VPN de 13,3%, 99,4%, 85,7% et 79,8% pour prédire la survenue d'une PVP. L'association de l'augmentation des deux facteurs angiogéniques et de la présence d'une anomalie doppler des artères utérines permettait de prédire la survenue d'une PVP avec des sensibilité, spécificité, VPP et VPN de 17,8%, 99,4%, 88,9% et 80,6% respectivement. L'association des facteurs angiogéniques aux Dopplers utérins entraine une diminution de la sensibilité mais une augmentation de la spécificité et de la valeur prédictive négative.

Nous nous sommes enfin intéressés au volume placentaire chez 40 patientes à haut risque. Onze patientes ont présenté une PVP. Nous avons également réalisé un dosage de deux facteurs de l'hémostase : (1) les D-Dimères qui sont les ultimes produits de dégradation de la fibrine. La fibrinolyse est le processus de dissolution physiologique des caillots sanguins ou thrombus

constitués de fibrine par la plasmine. Elle correspond à l'étape finale de la coagulation sanguine et permet une reperméabilisation des vaisseaux sanguins altérés. La présence de D-Dimères dans la circulation sanguine est donc le témoin indirect d'une activation de la coagulation suivie d'une thrombolyse réactionnelle (2) et la s-EPCR (soluble endothelial protein C receptor) qui est une glycoprotéine de la membrane des cellules endothéliales capable de fixer la protéine C et de l'activer. Le taux de D-Dimères est augmenté significativement pendant la période de grossesse et de façon proportionnelle à l'âge gestationnel. Nous avons mis en évidence une corrélation entre le volume placentaire mesuré en échographie et le taux de D-Dimères. Chez les patientes ayant présenté une PVP, nous avons retrouvé des VP plus petits mais pas de différence pour les taux de D-Dimères ni de sEPCR. Notre conclusion était que le placenta est peut-être le facteur qui explique l'augmentation du taux de D-Dimères en cours de grossesse.

Traitement des PVP

Nous proposons un essai multicentrique randomisé en ouvert en 2 groupes parallèles comparant l'administration d'énoxaparine par voie sous-cutanée à dose préventive associée à une prise en charge classique (groupe 1) versus prise en charge classique seule (groupe 2). L'objectif principal est d'évaluer l'efficacité d'un traitement par énoxaparine à dose préventive (4000 UI/j) administrée lors du diagnostic de RCIU vasculaire jusqu'à la naissance ou au maximum jusqu'à 36SA, pour réduire le nombre de nouveau-nés ayant un poids de naissance inférieur au 10^{ème} percentile pour l'âge gestationnel.

1.2. Limites de nos travaux

- La principale limite est le nombre de sujets inclus seulement 72 patientes dans l'étude sur le TFPI, 200 pour les facteurs angiogéniques et 40 pour le volume placentaire. Nos études manquent forcément de puissance.
- Il s'agit d'étude de cohorte qui présentent donc un risque de biais de sélection comme nous l'avons précisé précédemment.
- Nous avons étudié deux facteurs présentant une action anti-angiogénique sflt-1 et SEng et nous n'avons pas effectué le dosage du PlGF qui possède une action angiogénique et qui paraît plus intéressant dans la littérature récente.
- Nos dosages de facteurs angiogéniques et autres facteurs débutent à 20SA. Des dosages plus précoces auraient été intéressants mais posent le problème de la faisabilité.

2. Conclusion

L'objectif de ce travail était d'apporter des nouvelles informations sur la prédiction et le traitement des pathologies vasculaires placentaires. Ainsi, nous avons montré que l'activité TFPI peut être une aide à l'évaluation du risque de PVP. Il nous reste à évaluer d'autres facteurs de l'hémostase comme les D-Dimères ou le temps de génération de thrombine. Nous avons mis en évidence que les facteurs angiogéniques sont perturbés avant la survenue d'une pré-éclampsie et que ceci est également vrai pour le RCIU. Il existe une tendance à des taux plus élevés en cas de PE que de RCIU. Il existe une corrélation entre le volume placentaire en échographie et le taux de D-Dimères mesurés à 12, 16 et 22 SA. Nous essayons d'évaluer dans une étude multicentrique comparative en ouvert l'efficacité de l'énoxaparine à dose préventive pour le traitement du RCIU vasculaire constitué.

3. Perspectives

Etude Angiopred

L'analyse des facteurs angiogéniques a été soumise. Nous attendons la publication pour soumettre l'article sur l'association des facteurs angiogéniques aux Dopplers utérins à 22SA.

Dans le cadre de l'étude Angiopred, nous travaillons actuellement à analyser les données des dosages des D-Dimères et du temps de génération de thrombine. Sur la cohorte de 200 patientes à haut risque, nous disposons des caractéristiques maternelles, de la PAM, des Dopplers utérins à 22SA, du dosage des facteurs angiogéniques et des facteurs de l'hémostase. Nous allons évaluer les performances d'un dépistage combiné.

J'ai obtenu une bourse de l'association AIRE d'aide à la recherche médical en décembre 2016 pour financer le dosage de la vitamine D. Les dosages sont terminés et nous travaillons à l'analyse des données.

Etude Volupla

Les inclusions des 1000 patientes sont terminées depuis juin 2016. Nous avons analysé les volumes placentaires à 12, 16 et 22SA. La rédaction de l'article est en cours. Nous travaillons au recueil des données de la PAPP-A et l'HCG et à l'intégration des données.

Etude Growth

Les inclusions sont en cours dans 7 centres. Si les débuts ont été difficiles, actuellement le nombre d'inclusion augmente sensiblement après une longue période de rodage. Nous en sommes à 27 sur 162 prévues. Nous travaillons en collaboration avec les centres pluridisciplinaires de diagnostic prénatal pour repérer les patientes.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. Brown MA, Lindheimer MD, de Swiet M, Van Assche A, Moutquin JM. The classification and diagnosis of the hypertensive disorders of pregnancy: statement from the International Society for the Study of Hypertension in Pregnancy (ISSHP). *Hypertens Pregnancy Off J Int Soc Study Hypertens Pregnancy*. 2001;20:IX-XIV.
2. Mol BWJ, Roberts CT, Thangaratinam S, Magee LA, de Groot CJM, Hofmeyr GJ. Pre-eclampsia. *Lancet Lond Engl*. 2016;387:999-1011.
3. Khan KS, Wojdyla D, Say L, Gülmezoglu AM, Van Look PFA. WHO analysis of causes of maternal death: a systematic review. *Lancet*. 2006;367:1066-74.
4. Chang J, Elam-Evans LD, Berg CJ, Herndon J, Flowers L, Seed KA, et al. Pregnancy-related mortality surveillance--United States, 1991--1999. *Morb Mortal Wkly Rep Surveill Summ Wash DC* 2002. 2003;52:1-8.
5. Retard de croissance intra-utérin : recommandations pour la pratique clinique – Texte court. *J Gynécologie Obstétrique Biol Reprod*. 2013;42:1018-25.
6. Ego A. [Definitions: small for gestational age and intrauterine growth retardation]. *J Gynecol Obstet Biol Reprod (Paris)*. 2013;42:872-94.
7. Practice bulletin no. 134: fetal growth restriction. *Obstet Gynecol*. 2013;121:1122-33.
8. Bower S, Kingdom J, Campbell S. Objective and subjective assessment of abnormal uterine artery Doppler flow velocity waveforms. *Ultrasound Obstet Gynecol*. 1998;12:260–264.
9. Cnossen JS, Morris RK, ter Riet G, Mol BWJ, van der Post JAM, Coomarasamy A, et al. Use of uterine artery Doppler ultrasonography to predict pre-eclampsia and intrauterine growth restriction: a systematic review and bivariable meta-analysis. *CMAJ Can Med Assoc J J Assoc Medicale Can*. 2008;178:701-11.
10. Salomon LJ, Malan V. [Managing and identifying the causes of IUGR]. *J Gynecol Obstet Biol Reprod (Paris)*. 2013;42:929-40.

11. Giles WB, Trudinger BJ, Baird PJ. Fetal umbilical artery flow velocity waveforms and placental resistance: pathological correlation. *Br J Obstet Gynaecol.* 1985;92:31-8.
12. Morrow RJ, Adamson SL, Bull SB, Ritchie JW. Effect of placental embolization on the umbilical arterial velocity waveform in fetal sheep. *Am J Obstet Gynecol.* 1989;161:1055-60.
13. Miller J, Turan S, Baschat AA. Fetal growth restriction. *Semin Perinatol.* 2008;32:274-80.
14. Blondel B, Supernant K, Du Mazaubrun C, Bréart G, pour la Coordination nationale des Enquêtes Nationales Périnatales. [Trends in perinatal health in metropolitan France between 1995 and 2003: results from the National Perinatal Surveys]. *J Gynécologie Obstétrique Biol Reprod.* 2006;35:373-87.
15. Resnik R. Intrauterine growth restriction. *Obstet Gynecol.* 2002;99:490-6.
16. Getahun D, Ananth CV, Kinzler WL. Risk factors for antepartum and intrapartum stillbirth: a population-based study. *Am J Obstet Gynecol.* 2007;196:499-507.
17. Pallotto EK, Kilbride HW. Perinatal outcome and later implications of intrauterine growth restriction. *Clin Obstet Gynecol.* 2006;49:257-69.
18. Barker DJP. Adult consequences of fetal growth restriction. *Clin Obstet Gynecol.* 2006;49:270-83.
19. Unterscheider J, Daly S, Geary MP, Kennelly MM, McAuliffe FM, O'Donoghue K, et al. Optimizing the definition of intrauterine growth restriction: the multicenter prospective PORTO Study. *Am J Obstet Gynecol.* 2013;208:290.e1-6.
20. Lecarpentier E, Fournier T, Guibourdenche J, Tsatsaris V. [Pathophysiology of preeclampsia]. *Presse Medicale Paris Fr* 1983. 2016;45:631-7.
21. Redman CW. Current topic: pre-eclampsia and the placenta. *Placenta.* 1991;12:301-8.
22. Brosens I, Pijnenborg R, Vercruysse L, Romero R. The « Great Obstetrical Syndromes » are associated with disorders of deep placentation. *Am J Obstet Gynecol.* 2011;204:193-201.

23. Everett TR, Lees CC. Beyond the placental bed: placental and systemic determinants of the uterine artery Doppler waveform. *Placenta*. 2012;33:893-901.
24. Salafia CM, Minior VK, Pezzullo JC, Popek EJ, Rosenkrantz TS, Vintzileos AM. Intrauterine growth restriction in infants of less than thirty-two weeks' gestation: associated placental pathologic features. *Am J Obstet Gynecol*. 1995;173:1049-57.
25. Salafia CM, Charles AK, Maas EM. Placenta and fetal growth restriction. *Clin Obstet Gynecol*. 2006;49:236-56.
26. Salafia CM. Placental pathology of fetal growth restriction. *Clin Obstet Gynecol*. 1997;40:740-9.
27. Rajakumar A, Whitelock KA, Weissfeld LA, Daftary AR, Markovic N, Conrad KP. Selective overexpression of the hypoxia-inducible transcription factor, HIF-2alpha, in placentas from women with preeclampsia. *Biol Reprod*. 2001;64:499-506.
28. Janes SL, Kyle PM, Redman C, Goodall AH. Flow cytometric detection of activated platelets in pregnant women prior to the development of pre-eclampsia. *Thromb Haemost*. 1995;74:1059-63.
29. Masotti G, Galanti G, Poggesi L, Abbate R, Neri Serneri GG. Differential inhibition of prostacyclin production and platelet aggregation by aspirin. *Lancet*. 1979;2:1213-7.
30. Bussolino F, Benedetto C, Massobrio M, Camussi G. Maternal vascular prostacyclin activity in pre-eclampsia. *Lancet*. 1980;2:702.
31. Maynard SE, Min J-Y, Merchan J, Lim K-H, Li J, Mondal S, et al. Excess placental soluble fms-like tyrosine kinase 1 (sFlt1) may contribute to endothelial dysfunction, hypertension, and proteinuria in preeclampsia. *J Clin Invest*. 2003;111:649-58.
32. Schlembach D, Wallner W, Sengenberger R, Stiegler E, Mörtl M, Beckmann MW, et al. Angiogenic growth factor levels in maternal and fetal blood: correlation with Doppler ultrasound parameters in pregnancies complicated by pre-eclampsia and intrauterine growth restriction. *Ultrasound Obstet Gynecol Off J Int Soc Ultrasound Obstet Gynecol*. 2007;29:407-13.

33. Widmer M, Villar J, Benigni A, Conde-Agudelo A, Karumanchi SA, Lindheimer M. Mapping the theories of preeclampsia and the role of angiogenic factors: a systematic review. *Obstet Gynecol.* 2007;109:168-80.
34. Espinoza J, Chaiworapongsa T, Romero R, Kim YM, Kim GJ, Nien JK, et al. Unexplained fetal death: another anti-angiogenic state. *J Matern-Fetal Neonatal Med Off J Eur Assoc Perinat Med Fed Asia Ocean Perinat Soc Int Soc Perinat Obstet.* 2007;20:495-507.
35. Germain AM, Romanik MC, Guerra I, Solari S, Reyes MS, Johnson RJ, et al. Endothelial dysfunction: a link among preeclampsia, recurrent pregnancy loss, and future cardiovascular events? *Hypertension.* 2007;49:90-5.
36. Venkatesha S, Toporsian M, Lam C, Hanai J, Mammoto T, Kim YM, et al. Soluble endoglin contributes to the pathogenesis of preeclampsia. *Nat Med.* 2006;12:642-9.
37. 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;355:992-1005.
38. Stepan H, Krämer T, Faber R. Maternal plasma concentrations of soluble endoglin in pregnancies with intrauterine growth restriction. *J Clin Endocrinol Metab.* 2007;92:2831-4.
39. Moore AG, Young H, Keller JM, Ojo LR, Yan J, Simas TAM, et al. Angiogenic biomarkers for prediction of maternal and neonatal complications in suspected preeclampsia. *J Matern-Fetal Neonatal Med Off J Eur Assoc Perinat Med Fed Asia Ocean Perinat Soc Int Soc Perinat Obstet.* 2012;25:2651-7.
40. Powers RW, Jeyabalan A, Clifton RG, Van Dorsten P, Hauth JC, Klebanoff MA, et al. Soluble fms-Like tyrosine kinase 1 (sFlt1), endoglin and placental growth factor (PlGF) in preeclampsia among high risk pregnancies. *PloS One.* 2010;5:e13263.
41. Lisonkova S, Joseph KS. Incidence of preeclampsia: risk factors and outcomes associated with early- versus late-onset disease. *Am J Obstet Gynecol.* 2013;209:544.e1-544.e12.
42. Steegers EAP, von Dadelszen P, Duvekot JJ, Pijnenborg R. Pre-eclampsia. *Lancet.* 2010;376:631-44.

43. Roberts JM, Catov JM. Preeclampsia more than 1 disease: or is it? *Hypertens Dallas Tex* 1979. 2008;51:989-90.
44. Wright D, Syngelaki A, Akolekar R, Poon LC, Nicolaides KH. Competing risks model in screening for preeclampsia by maternal characteristics and medical history. *Am J Obstet Gynecol*. 2015;213:62.e1-10.
45. Gallo D, Poon LC, Fernandez M, Wright D, Nicolaides KH. Prediction of preeclampsia by mean arterial pressure at 11-13 and 20-24 weeks' gestation. *Fetal Diagn Ther*. 2014;36:28-37.
46. Fouché CJ, Simon EG, Perrotin F. [How I do... uterine artery Doppler velocimetry in first trimester of pregnancy]. *Gynecol Obstet Fertil*. 2012;40:194-6.
47. Khong TY, De Wolf F, Robertson WB, Brosens I. Inadequate maternal vascular response to placentation in pregnancies complicated by pre-eclampsia and by small-for-gestational age infants. *Br J Obstet Gynaecol*. 1986;93:1049-59.
48. Coleman MA, McCowan LM, North RA. Mid-trimester uterine artery Doppler screening as a predictor of adverse pregnancy outcome in high-risk women. *Ultrasound Obstet Gynecol Off J Int Soc Ultrasound Obstet Gynecol*. 2000;15:7-12.
49. García B, Llurba E, Valle L, Gómez-Roig MD, Juan M, Pérez-Matos C, et al. Do knowledge of uterine artery resistance in the second trimester and targeted surveillance improve maternal and perinatal outcome? UTOPIA study: a randomized controlled trial. *Ultrasound Obstet Gynecol Off J Int Soc Ultrasound Obstet Gynecol*. 2016;47:680-9.
50. Gallo DM, Poon LC, Akolekar R, Syngelaki A, Nicolaides KH. Prediction of preeclampsia by uterine artery Doppler at 20-24 weeks' gestation. *Fetal Diagn Ther*. 2013;34:241-7.
51. Velauthar L, Plana MN, Kalidindi M, Zamora J, Thilaganathan B, Illanes SE, et al. First-trimester uterine artery Doppler and adverse pregnancy outcome: a meta-analysis involving 55,974 women. *Ultrasound Obstet Gynecol Off J Int Soc Ultrasound Obstet Gynecol*. 2014;43:500-7.
52. Lefebvre J, Demers S, Bujold E, Nicolaides KH, Girard M, Brassard N, et al. Comparison of two different sites of measurement for transabdominal uterine artery Doppler

- velocimetry at 11-13 weeks. *Ultrasound Obstet Gynecol Off J Int Soc Ultrasound Obstet Gynecol*. 2012;40:288-92.
53. Nowak PM, Nardoza LMM, Araujo Júnior E, Rolo LC, Moron AF. Comparison of placental volume in early pregnancy using multiplanar and VOCAL methods. *Placenta*. 2008;29:241-5.
 54. Bujold E, Effendi M, Girard M, Gouin K, Forest J-C, Couturier B, et al. Reproducibility of first trimester three-dimensional placental measurements in the evaluation of early placental insufficiency. *J Obstet Gynaecol Can JOGC J Obstétrique Gynécologie Can JOGC*. 2009;31:1144-8.
 55. Deurloo K, Spreuwenberg M, Rekoert-Hollander M, van Vugt J. Reproducibility of 3-dimensional sonographic measurements of fetal and placental volume at gestational ages of 11-18 weeks. *J Clin Ultrasound JCU*. 2007;35:125-32.
 56. Viero S, Chaddha V, Alkazaleh F, Simchen MJ, Malik A, Kelly E, et al. Prognostic value of placental ultrasound in pregnancies complicated by absent end-diastolic flow velocity in the umbilical arteries. *Placenta*. 2004;25:735-41.
 57. Hata T, Tanaka H, Noguchi J, Hata K. Three-dimensional ultrasound evaluation of the placenta. *Placenta*. 2011;32:105-15.
 58. Toal M, Keating S, Machin G, Dodd J, Adamson SL, Windrim RC, et al. Determinants of adverse perinatal outcome in high-risk women with abnormal uterine artery Doppler images. *Am J Obstet Gynecol*. 2008;198:330.e1-7.
 59. Schwartz N, Wang E, Parry S. Two-dimensional sonographic placental measurements in the prediction of small-for-gestational-age infants. *Ultrasound Obstet Gynecol Off J Int Soc Ultrasound Obstet Gynecol*. 2012;40:674-9.
 60. McGinty P, Farah N, Dwyer VO, Hogan J, Reilly A, Turner MJ, et al. Ultrasound assessment of placental function: the effectiveness of placental biometry in a low-risk population as a predictor of a small for gestational age neonate. *Prenat Diagn*. 2012;32:620-6.

61. Cheong KB, Leung KY, Li TKT, Chan HY, Lee YP, Tang MHY. Comparison of inter- and intraobserver agreement and reliability between three different types of placental volume measurement technique (XI VOCAL, VOCAL and multiplanar) and validity in the in-vitro setting. *Ultrasound Obstet Gynecol Off J Int Soc Ultrasound Obstet Gynecol*. 2010;36:210-7.

62. Hafner E, Metzenbauer M, Höfner D, Munkel M, Gassner R, Schuchter K, et al. Placental growth from the first to the second trimester of pregnancy in SGA-foetuses and pre-eclamptic pregnancies compared to normal foetuses. *Placenta*. 2003;24:336-42.

63. Hafner E, Metzenbauer M, Höfner D, Stonek F, Schuchter K, Waldhör T, et al. Comparison between three-dimensional placental volume at 12 weeks and uterine artery impedance/notching at 22 weeks in screening for pregnancy-induced hypertension, pre-eclampsia and fetal growth restriction in a low-risk population. *Ultrasound Obstet Gynecol Off J Int Soc Ultrasound Obstet Gynecol*. 2006;27:652-7.

64. Nardoza LMM, Nowak PM, Araujo Júnior E, Guimarães Filho HA, Rolo LC, Torloni MR, et al. Evaluation of placental volume at 7-10+6 weeks of pregnancy by 3D-sonography. *Placenta*. 2009;30:585-9.

65. Hafner E, Philipp T, Schuchter K, Dillinger-Paller B, Philipp K, Bauer P. Second-trimester measurements of placental volume by three-dimensional ultrasound to predict small-for-gestational-age infants. *Ultrasound Obstet Gynecol Off J Int Soc Ultrasound Obstet Gynecol*. 1998;12:97-102.

66. Hafner E, Schuchter K, van Leeuwen M, Metzenbauer M, Dillinger-Paller B, Philipp K. Three-dimensional sonographic volumetry of the placenta and the fetus between weeks 15 and 17 of gestation. *Ultrasound Obstet Gynecol Off J Int Soc Ultrasound Obstet Gynecol*. 2001;18:116-20.

67. de Paula CFS, Ruano R, Campos JADB, Zugaib M. Placental volumes measured by 3-dimensional ultrasonography in normal pregnancies from 12 to 40 weeks' gestation. *J Ultrasound Med Off J Am Inst Ultrasound Med*. 2008;27:1583-90.

68. Huster KM, Haas K, Schoenborn J, McVean D, Odibo AO. Reproducibility of placental volume and vasculature indices obtained by 3-dimensional power Doppler sonography. *J Ultrasound Med Off J Am Inst Ultrasound Med.* 2010;29:911-6.
69. Zhong Y, Tuuli M, Odibo AO. First-trimester assessment of placenta function and the prediction of preeclampsia and intrauterine growth restriction. *Prenat Diagn.* 2010;30:293-308.
70. Thame M, Osmond C, Bennett F, Wilks R, Forrester T. Fetal growth is directly related to maternal anthropometry and placental volume. *Eur J Clin Nutr.* 2004;58:894-900.
71. Thame M, Osmond C, Wilks R, Bennett FI, Forrester TE. Second-trimester placental volume and infant size at birth. *Obstet Gynecol.* 2001;98:279-83.
72. Hafner E, Metzenbauer M, Dillinger-Paller B, Hoefinger D, Schuchter K, Sommer-Wagner H, et al. Correlation of first trimester placental volume and second trimester uterine artery Doppler flow. *Placenta.* 2001;22:729-34.
73. Proctor LK, Toal M, Keating S, Chitayat D, Okun N, Windrim RC, et al. Placental size and the prediction of severe early-onset intrauterine growth restriction in women with low pregnancy-associated plasma protein-A. *Ultrasound Obstet Gynecol Off J Int Soc Ultrasound Obstet Gynecol.* 2009;34:274-82.
74. Schwartz N, Coletta J, Pessel C, Feng R, Timor-Tritsch IE, Parry S, et al. Novel 3-dimensional placental measurements in early pregnancy as predictors of adverse pregnancy outcomes. *J Ultrasound Med Off J Am Inst Ultrasound Med.* 2010;29:1203-12.
75. Schuchter K, Metzenbauer M, Hafner E, Philipp K. Uterine artery Doppler and placental volume in the first trimester in the prediction of pregnancy complications. *Ultrasound Obstet Gynecol Off J Int Soc Ultrasound Obstet Gynecol.* 2001;18:590-2.
76. Rizzo G, Capponi A, Cavicchioni O, Vendola M, Arduini D. First trimester uterine Doppler and three-dimensional ultrasound placental volume calculation in predicting pre-eclampsia. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2008;138:147-51.

77. Metzenbauer M, Hafner E, Hoefinger D, Schuchter K, Stangl G, Ogris E, et al. Three-dimensional ultrasound measurement of the placental volume in early pregnancy: method and correlation with biochemical placenta parameters. *Placenta*. 2001;22:602-5.
78. Costa SL, Proctor L, Dodd JM, Toal M, Okun N, Johnson J-A, et al. Screening for placental insufficiency in high-risk pregnancies: is earlier better? *Placenta*. 2008;29:1034-40.
79. Duan J, Chabot-Lecoanet A-C, Perdriolle-Galet E, Christov C, Hossu G, Cherifi A, et al. Utero-placental vascularisation in normal and preeclamptic and intra-uterine growth restriction pregnancies: third trimester quantification using 3D power Doppler with comparison to placental vascular morphology (EVUPA): a prospective controlled study. *BMJ Open* [Internet]. 2016;6.
80. Costa J, Rice H, Cardwell C, Hunter A, Ong S. An assessment of vascularity and flow intensity of the placenta in normal pregnancy and pre-eclampsia using three-dimensional ultrasound. *J Matern-Fetal Neonatal Med Off J Eur Assoc Perinat Med Fed Asia Ocean Perinat Soc Int Soc Perinat Obstet*. 2010;23:894-9.
81. Dar P, Gebb J, Reimers L, Bernstein PS, Chazotte C, Merkatz IR. First-trimester 3-dimensional power Doppler of the uteroplacental circulation space: a potential screening method for preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol*. 2010;203:238.e1-7.
82. Hafner E, Metzenbauer M, Stümpflen I, Waldhör T, Philipp K. First trimester placental and myometrial blood perfusion measured by 3D power Doppler in normal and unfavourable outcome pregnancies. *Placenta*. 2010;31:756-63.
83. Vieillefosse S, Guibourdenche J, Atallah A, Haddad B, Fournier T, Tsatsaris V, et al. [Predictive and prognostic factors of preeclampsia: Interest of PlGF and sFLT-1]. *J Gynecol Obstet Biol Reprod (Paris)*. 2016;45:999-1008.
84. 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;125:911-9.
85. Rana S, Cerdeira AS, Wenger J, Salahuddin S, Lim K-H, Ralston SJ, et al. Plasma Concentrations of Soluble Endoglin versus Standard Evaluation in Patients with Suspected Preeclampsia. *PLoS ONE* [Internet]. 26 oct 2012;7.

86. Verlohren S, Herraiz I, Lapaire O, Schlembach D, Zeisler H, Calda P, et al. New Gestational Phase-Specific Cutoff Values for the Use of the Soluble fms-Like Tyrosine Kinase-1/Placental Growth Factor Ratio as a Diagnostic Test for Preeclampsia. *Hypertension*. 2013;
87. Verlohren S, Herraiz I, Lapaire O, Schlembach D, Moertl M, Zeisler H, et al. The sFlt-1/PlGF ratio in different types of hypertensive pregnancy disorders and its prognostic potential in preeclamptic patients. *Am J Obstet Gynecol*. 2012;206:58.e1-8.
88. Zeisler H, Llurba E, Chantraine F, Vatish M, Staff AC, Sennström M, et al. Predictive Value of the sFlt-1:PlGF Ratio in Women with Suspected Preeclampsia. *N Engl J Med*. 2016;374:13-22.
89. Salahuddin S, Lee Y, Vadnais M, Sachs BP, Karumanchi SA, Lim K-H. Diagnostic utility of soluble fms-like tyrosine kinase 1 and soluble endoglin in hypertensive diseases of pregnancy. *Am J Obstet Gynecol*. 2007;197:28.e1-6.
90. Kusanovic JP, Romero R, Chaiworapongsa T, Erez O, Mittal P, Vaisbuch E, et al. A prospective cohort study of the value of maternal plasma concentrations of angiogenic and anti-angiogenic factors in early pregnancy and midtrimester in the identification of patients destined to develop preeclampsia. *J Matern-Fetal Neonatal Med Off J Eur Assoc Perinat Med Fed Asia Ocean Perinat Soc Int Soc Perinat Obstet*. 2009;22:1021-38.
91. Kleinrouweler CE, Wiegerinck MMJ, Ris-Stalpers C, Bossuyt PMM, van der Post JAM, von Dadelszen P, et al. Accuracy of circulating placental growth factor, vascular endothelial growth factor, soluble fms-like tyrosine kinase 1 and soluble endoglin in the prediction of pre-eclampsia: a systematic review and meta-analysis. *BJOG Int J Obstet Gynaecol*. 2012;119:778-87.
92. Moore Simas TA, Crawford SL, Solitro MJ, Frost SC, Meyer BA, Maynard SE. Angiogenic factors for the prediction of preeclampsia in high-risk women. *Am J Obstet Gynecol*. 2007;197:244.e1-8.
93. Moore Simas TA, Crawford SL, Bathgate S, Yan J, Robidoux L, Moore M, et al. Angiogenic biomarkers for prediction of early preeclampsia onset in high-risk women. *J*

- Matern-Fetal Neonatal Med Off J Eur Assoc Perinat Med Fed Asia Ocean Perinat Soc Int Soc Perinat Obstet. 2013;
94. Maynard SE, Crawford SL, Bathgate S, Yan J, Robidoux L, Moore M, et al. Gestational angiogenic biomarker patterns in high risk preeclampsia groups. *Am J Obstet Gynecol.* 2013;209:53.e1-9.
 95. Poon LCY, Kametas NA, Maiz N, Akolekar R, Nicolaides KH. First-trimester prediction of hypertensive disorders in pregnancy. *Hypertens Dallas Tex* 1979. 2009;53:812-8.
 96. O’Gorman N, Wright D, Syngelaki A, Akolekar R, Wright A, Poon LC, et al. Competing risks model in screening for preeclampsia by maternal factors and biomarkers at 11-13 weeks gestation. *Am J Obstet Gynecol.* 2016;214:103.e1-103.e12.
 97. Gallo DM, Wright D, Casanova C, Campanero M, Nicolaides KH. Competing risks model in screening for preeclampsia by maternal factors and biomarkers at 19-24 weeks’ gestation. *Am J Obstet Gynecol.* 2016;214:619.e1-619.e17.
 98. Tsiakkas A, Saiid Y, Wright A, Wright D, Nicolaides KH. Competing risks model in screening for preeclampsia by maternal factors and biomarkers at 30-34 weeks’ gestation. *Am J Obstet Gynecol.* 2016;215:87.e1-87.e17.
 99. O’Gorman N, Nicolaides KH, Poon LCY. The use of ultrasound and other markers for early detection of preeclampsia. *Womens Health Lond Engl.* 2016;12(2):199-207.
 100. Oliveira N, Magder LS, Blitzer MG, Baschat AA. First-trimester prediction of pre-eclampsia: external validity of algorithms in a prospectively enrolled cohort. *Ultrasound Obstet Gynecol Off J Int Soc Ultrasound Obstet Gynecol.* 2014;44:279-85.
 101. Subtil D, Goeusse P, Puech F, Lequien P, Biaisque S, Breart G, et al. Aspirin (100 mg) used for prevention of pre-eclampsia in nulliparous women: the Essai Régional Aspirine Mère-Enfant study (Part 1). *BJOG Int J Obstet Gynaecol.* 2003;110:475-84.
 102. Knight M, Duley L, Henderson-Smart DJ, King JF. Antiplatelet agents for preventing and treating pre-eclampsia. *Cochrane Database Syst Rev.* 2000:CD000492.

103. Duley L, Henderson-Smart DJ, Meher S, King JF. Antiplatelet agents for preventing pre-eclampsia and its complications. *Cochrane Database Syst Rev Online*. 2007;CD004659.
104. Askie LM, Duley L, Henderson-Smart DJ, Stewart LA. Antiplatelet agents for prevention of pre-eclampsia: a meta-analysis of individual patient data. *Lancet*. 2007;369:1791-8.
105. Brenner B, Hoffman R, Blumenfeld Z, Weiner Z, Younis JS. Gestational outcome in thrombophilic women with recurrent pregnancy loss treated by enoxaparin. *Thromb Haemost*. 2000;83:693-7.
106. Brenner B, Bar J, Ellis M, Yarom I, Yohai D, Samueloff A, et al. Effects of enoxaparin on late pregnancy complications and neonatal outcome in women with recurrent pregnancy loss and thrombophilia: results from the Live-Enox study. *Fertil Steril*. 2005;84:770-3.
107. Brenner B, Hoffman R, Carp H, Dulitsky M, Younis J, LIVE-ENOX Investigators. Efficacy and safety of two doses of enoxaparin in women with thrombophilia and recurrent pregnancy loss: the LIVE-ENOX study. *J Thromb Haemost JTH*. 2005;3:227-9.
108. Dodd JM, McLeod A, Windrim RC, Kingdom J. Antithrombotic therapy for improving maternal or infant health outcomes in women considered at risk of placental dysfunction. *Cochrane Database Syst Rev*. 2010;CD006780.
109. Dodd JM, McLeod A, Windrim RC, Kingdom J. Antithrombotic therapy for improving maternal or infant health outcomes in women considered at risk of placental dysfunction. *Cochrane Database Syst Rev*. 2013;7:CD006780.
110. Lausman A, McCarthy FP, Walker M, Kingdom J. Screening, diagnosis, and management of intrauterine growth restriction. *J Obstet Gynaecol Can JOGC J Obstétrique Gynécologie Can JOGC*. 2012;34:17-28.
111. Haddad B, Winer N, Chitrit Y, Houfflin-Debargé V, Chauleur C, Bages K, et al. Enoxaparin and Aspirin Compared With Aspirin Alone to Prevent Placenta-Mediated Pregnancy Complications: A Randomized Controlled Trial. *Obstet Gynecol*. 2016;128:1053-63.

112. Subtil D, Goeusse P, Houfflin-Debarge V, Puech F, Lequien P, Breart G, et al. Randomised comparison of uterine artery Doppler and aspirin (100 mg) with placebo in nulliparous women: the Essai Régional Aspirine Mère-Enfant study (Part 2). *BJOG Int J Obstet Gynaecol.* 2003;110:485-91.
113. Rolnik DL, Wright D, Poon LC, O’Gorman N, Syngelaki A, de Paco Matallana C, et al. Aspirin versus Placebo in Pregnancies at High Risk for Preterm Preeclampsia. *N Engl J Med.* 2017;
114. Torricelli M, Reis FM, Florio P, Severi FM, Bocchi C, Picciolini E, et al. 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.
115. Yu Y, Shen L, Zhong M, Zhang Y, Su G, Gao Y, et al. [Effect of heparin on fetal growth restriction]. *Zhonghua Fu Chan Ke Za Zhi.* 2004;39:793-6.
116. Yu Y-H, Shen L-Y, Zou H, Wang Z-J, Gong S-P. Heparin for patients with growth restricted fetus: a prospective randomized controlled trial. *J Matern-Fetal Neonatal Med Off J Eur Assoc Perinat Med Fed Asia Ocean Perinat Soc Int Soc Perinat Obstet.* 2010;23:980-7.
117. Lefkou E, Mamopoulos A, Dagklis T, Vosnakis C, Rousso D, Girardi G. Pravastatin improves pregnancy outcomes in obstetric antiphospholipid syndrome refractory to antithrombotic therapy. *J Clin Invest.* 2016;126:2933-40.
118. Seely EW, Williams GH, Graves SW. Markers of sodium and volume homeostasis in pregnancy-induced hypertension. *J Clin Endocrinol Metab.* 1992;74:150-6.
119. Cruikshank DP, Chan GM, Doerrfeld D. Alterations in vitamin D and calcium metabolism with magnesium sulfate treatment of preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol.* 1993;168:1170-1176-1177.
120. Bodnar LM, Catov JM, Simhan HN, Holick MF, Powers RW, Roberts JM. Maternal vitamin D deficiency increases the risk of preeclampsia. *J Clin Endocrinol Metab.* 2007;92:3517-22

RESUME

Les pathologies vasculaires placentaires sont fréquentes et graves. La forme maternelle prédominante est la pré-éclampsie et la forme fœtale le retard de croissance intra-utérin. Les questions posées autour de ce sujet concernent tout d'abord la prédiction de la survenue de ces pathologies suffisamment tôt afin de permettre une surveillance rapprochée, une administration de corticoïdes et une prise en charge dans une maternité de niveau adaptée. La prévention de la survenue et de la récurrence ainsi que le traitement de ces pathologies à la phase constituée sont aussi des problématiques encore non résolues. Notre objectif était de travailler sur ces différentes questions par l'intermédiaire de trois études : l'étude ANGIOPRED, l'étude VOLUPLA et l'étude GROWTH. Les résultats de ces travaux et une revue de la littérature mettent en évidence une perturbation des facteurs de l'hémostase et des facteurs angiogéniques dans la pré-éclampsie et dans le retard de croissance. L'association des facteurs maternels, échographiques, angiogéniques et sériques constitue un modèle prédictif efficace principalement du fait d'une excellente valeur prédictive négative. Le volume placentaire est corrélé au taux de D-Dimères et est intéressant pour la prédiction des pathologies vasculaires placentaires. De nouveaux travaux devront poursuivre l'étude de la prédiction, de la prévention et du traitement des pathologies liées au placenta. Le traitement est notamment l'objet de l'étude Growth qui vise à évaluer l'efficacité de l'énoxaparine dans le traitement du retard de croissance vasculaire constitué.

Mots clés : pathologies vasculaires placentaires, pré-éclampsie, retard de croissance intra-utérin, prédiction, tissue factor pathway inhibitor ; facteurs angiogéniques ; volume placentaire ; énoxaparine

ABSTRACT

Placenta-mediated adverse pregnancy outcomes are frequent and severe pathologies whose predominant maternal form is preeclampsia and fetal form, intrauterine growth retardation. The questions asked about this subject concern first of all the prediction of the occurrence of its pathologies in a sufficiently early way to allow for close monitoring, administration of corticosteroids, and management in an appropriate level of maternity. The prevention of the occurrence and recurrence and the treatment of its pathologies in the constituted phase are also unresolved problems. Our objective was therefore to work on its various questions through three studies: the ANGIOPRED study, the VOLUPLA study and the GROWTH study. The results of his work and of the literature show that the factors of haemostasis and angiogenic factors are disturbed in preeclampsia and in growth retardation. The association of maternal, ultrasound, angiogenic and serum factors constitutes a predictive model that is effective mainly by an excellent negative predictive value. The placental volume is correlated with the D-dimer level and is interesting for placenta-mediated adverse pregnancy outcomes prediction. New studies will have to continue the exploration of the prediction, prevention and treatment of this pathologies related to the placenta. The treatment is notably the object of the study Growth which aims to evaluate the effectiveness of the Enoxaparin for the treatment of constituted vascular growth retardation.

Keywords: Placenta-mediated adverse pregnancy outcomes; preeclampsia; intrauterine growth retardation; prediction; tissue factor pathway inhibitor; angiogenic factors; placental volume; enoxaparin