



**HAL**  
open science

# Utilisation du monoxyde d'azote inhalé chez le nouveau-né prématuré : données fondamentales et mise au point d'un protocole de recherche clinique

Valérie Steinmann-Valdès

## ► To cite this version:

Valérie Steinmann-Valdès. Utilisation du monoxyde d'azote inhalé chez le nouveau-né prématuré : données fondamentales et mise au point d'un protocole de recherche clinique. Sciences du Vivant [q-bio]. 2000. hal-01739025

**HAL Id: hal-01739025**

<https://hal.univ-lorraine.fr/hal-01739025v1>

Submitted on 20 Mar 2018

**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.



## AVERTISSEMENT

Ce document est le fruit d'un long travail approuvé par le jury de soutenance et mis à disposition de l'ensemble de la communauté universitaire élargie.

Il est soumis à la propriété intellectuelle de l'auteur. Ceci implique une obligation de citation et de référencement lors de l'utilisation de ce document.

D'autre part, toute contrefaçon, plagiat, reproduction illicite encourt une poursuite pénale.

Contact : [ddoc-theses-contact@univ-lorraine.fr](mailto:ddoc-theses-contact@univ-lorraine.fr)

## LIENS

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 122. 4

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 335.2- L 335.10

[http://www.cfcopies.com/V2/leg/leg\\_droi.php](http://www.cfcopies.com/V2/leg/leg_droi.php)

<http://www.culture.gouv.fr/culture/infos-pratiques/droits/protection.htm>

10 AVR. 2000

## THESE

pour obtenir le grade de

## DOCTEUR EN MEDECINE

Présentée et soutenue publiquement  
dans le cadre du troisième cycle de Médecine Spécialisée

par

**Valérie STEINMANN - VALDES**

le 7 Avril 2000



# UTILISATION DU MONOXYDE D' AZOTE INHALE CHEZ LE NOUVEAU - NE PREMATURE .

## Données fondamentales et mise au point d' un protocole de recherche clinique .

Examineurs de la thèse :

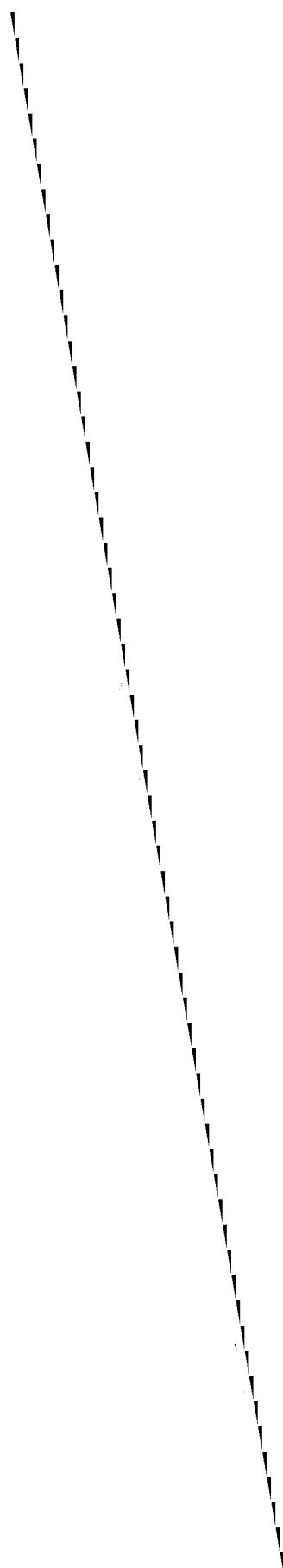
M. J.M. HASCOËT	Professeur	Président
M. P. VERT	Professeur	
M. F. MARCHAL	Professeur	Juges
M. D. LONGROIS	Professeur	

BIBLIOTHEQUE MEDECINE NANCY 1



D

007 162578 3



# **THESE**

pour obtenir le grade de

## **DOCTEUR EN MEDECINE**

Présentée et soutenue publiquement  
dans le cadre du troisième cycle de Médecine Spécialisée

par

**Valérie STEINMANN - VALDES**

le 7 Avril 2000

### **UTILISATION DU MONOXYDE D' AZOTE INHALE CHEZ LE NOUVEAU - NE PREMATURE .**

**Données fondamentales et mise au point d' un  
protocole de recherche clinique .**

Examineurs de la thèse :

M. J.M. HASCOËT Professeur Président

M. P. VERT Professeur

M. F. MARCHAL Professeur Juges

M. D. LONGROIS Professeur

UNIVERSITÉ HENRI POINCARÉ, NANCY 1

FACULTÉ DE MÉDECINE DE NANCY

-----  
Président de l'Université : Professeur Claude BURLET

Doyen de la Faculté de Médecine : Professeur Jacques ROLAND

Vice-Doyen de la Faculté de Médecine : Professeur Hervé VESPIGNANI

**Assesseurs**

du 1er Cycle :  
du 2ème Cycle :  
du 3ème Cycle :  
de la Vie Facultaire :

Mme le Docteur Chantal KOHLER  
Mme le Professeur Michèle KESSLER  
Mr le Professeur Jacques POUREL  
Mr le Professeur Philippe HARTEMANN

**DOYENS HONORAIRES**

Professeur Adrien DUPREZ - Professeur Jean-Bernard DUREUX  
Professeur Georges GRIGNON - Professeur François STREIFF

**PROFESSEURS HONORAIRES**

Louis PIERQUIN - Etienne LEGAIT - Jean LOCHARD - René HERBEUVAL - Gabriel FAIVRE - Jean-Marie FOLIGUET  
Guy RAUBER - Paul SADOUL - Raoul SENAULT - Pierre ARNOULD - Roger BENICHOUX - Marcel RIBON  
Jacques LACOSTE - Jean BEUREY - Jean SOMMELET - Pierre HARTEMANN - Emile de LAVERGNE  
Augusta TREHEUX - Michel MANCIAUX - Paul GUILLEMIN - Pierre PAYSANT  
Jean-Claude BURDIN - Claude CHARDOT - Jean-Bernard DUREUX - Jean DUHEILLE - Jean-Pierre GRILLIAT  
Pierre LAMY - François STREIFF - Jean-Marie GILGENKRANTZ - Simone GILGENKRANTZ  
Pierre ALEXANDRE - Robert FRISCH - Jean GROSDIDIER - Michel PIERSON - Jacques ROBERT  
Gérard DEBRY - Georges GRIGNON - Pierre TRIDON - Michel WAYOFF - François CHERRIER - Oliéro GUERCI  
Gilbert PERCEBOIS - Claude PERRIN - Jean PREVOT - Pierre BERNADAC - Jean FLOQUET  
Alain GAUCHER - Michel LAXENAIRE - Michel BOULANGE - Michel DUC - Claude HURIET - Pierre LANDES  
Alain LARCAN - Gérard VAILLANT - Max WEBER

=====  
**PROFESSEURS DES UNIVERSITÉS -  
PRATICIENS HOSPITALIERS**

(Disciplines du Conseil National des Universités)

-----  
**42ème Section : SCIENCES MORPHOLOGIQUES**

1ère sous-section : (*Anatomie*)

Professeur Michel RENARD - Professeur Jacques ROLAND - Professeur Gilles GROSDIDIER

Professeur Pierre LASCOMBES - Professeur Marc BRAUN

2ème sous-section : (*Histologie, Embryologie, Cytogénétique*)

Professeur Hubert GERARD - Professeur Bernard FOLIGUET - Professeur Bruno LEHEUP

3ème sous-section : (*Anatomie et cytologie pathologiques*)

Professeur Adrien DUPREZ - Professeur François PLENAT

Professeur Jean-Michel VIGNAUD - Professeur Eric LABOUYRIE  
-----

**43ème Section : BIOPHYSIQUE ET IMAGERIE MÉDICALE**

1ère sous-section : (*Biophysique et traitement de l'image*)

Professeur Alain BERTRAND - Professeur Gilles KARCHER - Professeur Pierre-Yves MARIE

2ème sous-section : (*Radiologie et imagerie médicale*)

Professeur Jean-Claude HOEFFEL - Professeur Luc PICARD - Professeur Denis REGENT

Professeur Michel CLAUDON - Professeur Serge BRACARD - Professeur Alain BLUM



**44ème Section : BIOCHIMIE, BIOLOGIE CELLULAIRE ET MOLÉCULAIRE, PHYSIOLOGIE ET NUTRITION**

1ère sous-section : (*Biochimie et Biologie Moléculaire*)

Professeur Pierre NABET - Professeur Jean-Pierre NICOLAS - Professeur Francine NABET

Professeur Jean-Louis GUEANT

2ème sous-section : (*Physiologie*)

Professeur Jean-Pierre CRANCE - Professeur Jean-Pierre MALLIE

Professeur Hubert UFFHOLTZ - Professeur François MARCHAL - Professeur Philippe HAOUZI

3ème sous-section : (*Biologie cellulaire*)

Professeur Claude BURLET

4ème sous-section : (*Nutrition*)

Professeur Olivier ZIEGLER

-----

**45ème Section : MICROBIOLOGIE ET MALADIES TRANSMISSIBLES**

1ère sous-section : (*Bactériologie, Virologie-Hygiène*)

Professeur Alain LE FAOU

2ème sous-section : (*Parasitologie et mycologie*)

Professeur Bernard FORTIER

3ème sous-section : (*Maladies infectieuses - maladies tropicales*)

Professeur Philippe CANTON - Professeur Alain GERARD - Professeur Thierry MAY

-----

**46ème Section : SANTÉ PUBLIQUE**

1ère sous-section : (*Epidémiologie, économie de la santé et prévention*)

Professeur Jean-Pierre DESCHAMPS - Professeur Philippe HARTEMANN

Professeur Serge BRIANÇON - Professeur Francis GUILLEMIN

2ème sous-section : (*Médecine du travail et des risques professionnels*)

Professeur Guy PETIET

3ème sous-section : (*Médecine légale*)

Professeur Henry COUDANE

4ème sous-section (*Biostatistiques et informatique médicale*)

Professeur Bernard LEGRAS - Professeur François KOHLER

-----

**47ème Section : HÉMATOLOGIE, IMMUNOLOGIE, TRANSFUSION, CANCÉROLOGIE ET GÉNÉTIQUE**

1ère sous-section : (*Hématologie*)

Professeur Christian JANOT - Professeur Thomas LECOMPTE - Professeur Pierre BORDIGONI -

Professeur Pierre LEDERLIN

(*Génie biologique et médical*)

Professeur J.François STOLTZ

2ème sous-section : (*Cancérologie*)

Professeur François GUILLEMIN - Professeur Thierry CONROY

(*Radiothérapie*)

Professeur Pierre BEY

3ème sous-section : (*Immunologie*)

Professeur Gilbert FAURE - Professeur Marie-Christine BENE

4ème sous-section : (*génétiq*ue)

Professeur Philippe JONVEAUX

-----

**48ème Section : ANESTHÉSIOLOGIE, PHARMACOLOGIE, RÉANIMATION ET THÉRAPEUTIQUE**

1ère sous-section : (*Anesthésiologie et réanimation chirurgicale*)

Professeur Marie-Claire LAXENAIRE - Professeur Claude MEISTELMAN - Professeur Dan LONGROIS

2ème sous-section : (*Réanimation médicale*)

Professeur Alain LARCAN - Professeur Henri LAMBERT - Professeur Nicolas DELORME

Professeur Pierre-Edouard BOLLAERT

3ème sous-section : (*Pharmacologie fondamentale, Pharmacologie clinique*)

Professeur René-Jean ROYER - Professeur Patrick NETTER - Professeur Pierre GILLET

4ème sous-section : (*Thérapeutique*)

Professeur François PAILLE - Professeur Gérard GAY - Professeur Faiez ZANNAD

-----

**49ème Section : PATHOLOGIE NERVEUSE, PATHOLOGIE MENTALE et RÉÉDUCATION**

1ère sous-section : (*Neurologie*)

Professeur Michel WEBER - Professeur Gérard BARROCHE - Professeur Hervé VESPIGNANI

2ème sous-section : (*Neurochirurgie*)

Professeur Henri HEPNER - Professeur Jean-Claude MARCHAL - Professeur Jean AUQUE

3ème sous-section : (*Psychiatrie d'adultes*)

Professeur Jean-Pierre KAHN

4ème sous-section : (*Pédopsychiatrie*)

Professeur Colette VIDAILHET - Professeur Daniel SIBERTIN-BLANC

5ème sous-section : (*Médecine physique et de réadaptation*)

Professeur Jean-Marie ANDRE

-----

**50ème Section : PATHOLOGIE OSTÉO-ARTICULAIRE, DERMATOLOGIE et CHIRURGIE PLASTIQUE**

1ère sous-section : (*Rhumatologie*)

Professeur Jacques POUREL - Professeur Isabelle VALCKENAERE

2ème sous-section : (*Chirurgie orthopédique et traumatologique*)

Professeur Daniel SCHMITT - Professeur Jean-Pierre DELAGOUTTE - Professeur Daniel MOLE

Professeur Didier MAINARD

3ème sous-section : (*Dermato-vénérologie*)

Professeur Jean-Luc SCHMUTZ

4ème sous-section : (*Chirurgie plastique, reconstructrice et esthétique*)

Professeur Michel MERLE - Professeur François DAP

-----

**51ème Section : PATHOLOGIE CARDIO-PULMONAIRE et VASCULAIRE**

1ère sous-section : (*Pneumologie*)

Professeur Daniel ANTHOINE - Professeur Jean-Marie POLU - Professeur Yves MARTINET

Professeur Jean-François CHABOT

2ème sous-section : (*Cardiologie et maladies vasculaires*)

Professeur Etienne ALIOT - Professeur Nicolas DANCHIN - Professeur Yves JUILLIERE - Professeur Nicolas SADOUL

3ème sous-section : (*Chirurgie thoracique et cardio-vasculaire*)

Professeur Pierre MATHIEU - Professeur Jacques BORRELLY - Professeur Jean-Pierre VILLEMOT

Professeur Jean-Pierre CARTEAUX

4ème sous-section : (*Chirurgie vasculaire*)

Professeur Gérard FIEVE

-----

**52ème Section : MALADIES DES APPAREILS DIGESTIF et URINAIRE**

1ère sous-section : (*Hépatologie, gastro-entérologie*)

Professeur Pierre GAUCHER - Professeur Marc-André BIGARD

Professeur Jean-Pierre BRONOWICKI

2ème sous-section : (*Chirurgie digestive*)

3ème sous-section : (*Néphrologie*)

Professeur Michèle KESSLER - Professeur Dominique HESTIN (Mme)

4ème sous-section : (*Urologie*)

Professeur Philippe MANGIN - Professeur Jacques HUBERT

-----

**53ème Section : MÉDECINE INTERNE et CHIRURGIE GÉNÉRALE  
MÉDECINE ET CHIRURGIE EXPÉRIMENTALE**

1ère sous-section : (*Médecine interne*)

Professeur Gilbert THIBAUT - Professeur Francis PENIN

Professeur Denise MONERET-VAUTRIN

Professeur Jean DE KORWIN KROKOWSKI - Professeur Pierre KAMINSKY

2ème sous-section : (*Chirurgie générale*)

Professeur Patrick BOISSEL - Professeur Laurent BRESLER

-----



**54ème Section : PATHOLOGIE DE L'ENFANT, OBSTÉTRIQUE, SYSTÈME ENDOCRINIEN  
REPRODUCTION ET DÉVELOPPEMENT**

1ère sous-section : (*Pédiatrie*)

Professeur Paul VERT - Professeur Danièle SOMMELET - Professeur Michel VIDAILHET - Professeur Pierre MONIN  
Professeur Jean-Michel HASCOET - Professeur Pascal CHASTAGNER

2ème sous-section : (*Chirurgie infantile*)

Professeur Michel SCHMITT - Professeur Gilles DAUTEL

3ème sous-section : (*Gynécologie et obstétrique*)

Professeur Michel SCHWEITZER - Professeur Jean-Louis BOUTROY

Professeur Philippe JUDLIN - Professeur Patricia BARBARINO

4ème sous-section : (*Endocrinologie et maladies métaboliques*)

Professeur Jacques LECLERE - Professeur Pierre DROUIN - Professeur Georges WERYHA

5ème sous-section : (*Biologie du développement et de la reproduction*)

-----

**55ème Section : SPÉCIALITÉS MÉDICO-CHIRURGICALES**

1ère sous-section : (*Oto-rhino-laryngologie*)

Professeur Claude SIMON - Professeur Roger JANKOWSKI

2ème sous-section : (*Ophthalmologie*)

Professeur Antoine RASPILLER - Professeur Jean-Luc GEORGE - Professeur Jean-Paul BERROD

3ème sous-section : (*Stomatologie et chirurgie maxillo-faciale*)

Professeur Michel STRICKER - Professeur Jean-François CHASSAGNE

=====

**PROFESSEURS DES UNIVERSITÉS**

-----

**27ème section : INFORMATIQUE**

Professeur Jean-Pierre MUSSE

-----

**64ème Section : BIOCHIMIE ET BIOLOGIE MOLÉCULAIRE**

Professeur Daniel BURNEL

=====

**PROFESSEUR ASSOCIÉ**

**Hygiène et santé publique**

Professeur Roland SCHULZE-ROBBECKE

=====

**MAÎTRES DE CONFÉRENCES DES UNIVERSITÉS - PRATICIENS HOSPITALIERS**

**42ème Section : SCIENCES MORPHOLOGIQUES**

1ère sous-section : (*Anatomie*)

Docteur Bruno GRIGNON

2ème sous-section : (*Histologie, Embryologie, cytogénétique*)

Docteur Jean-Louis CORDONNIER - Docteur Edouard BARRAT - Docteur Jean-Claude GUEDENET

Docteur Françoise TOUATI - Docteur Chantal KOHLER

3ème sous-section : (*Anatomie et cytologie pathologiques*)

Docteur Yves GRIGNON - Docteur Béatrice MARIE

-----

**43ème Section : BIOPHYSIQUE ET IMAGERIE MÉDICALE**

1ère sous-section : (*Biophysique et traitement de l'image*)

Docteur Marie-Hélène LAURENS - Docteur Jean-Claude MAYER

Docteur Pierre THOUVENOT - Docteur Jean-Marie ESCANYE - Docteur Amar NAOUN

-----

**44ème Section : BIOCHIMIE, BIOLOGIE CELLULAIRE ET MOLÉCULAIRE, PHYSIOLOGIE ET NUTRITION**

1ère sous-section : (*Biochimie et biologie moléculaire*)

Docteur Marie-André GELOT - Docteur Xavier HERBEUVAL - Docteur Jean STRACZEK

Docteur Sophie FREMONT - Docteur Isabelle GASTIN - Dr Bernard NAMOUR

2ème sous-section : (*Physiologie*)

Docteur Gérard ETHEVENOT - Docteur Nicole LEMAU de TALANCE - Christian BEYAERT

-----

**45ème Section : MICROBIOLOGIE ET MALADIES TRANSMISSIBLES**

1ère sous-section : (*Bactériologie, Virologie-Hygiène*)

Docteur Francine MORY - Docteur Michèle WEBER - Docteur Christine LION

Docteur Michèle DAILLOUX

2ème sous-section : (*Parasitologie et mycologie*)

Docteur Marie-France BIAVA - Docteur Nelly CONTET-AUDONNEAU

-----

**46ème Section : SANTÉ PUBLIQUE**

1ère sous-section : (*Epidémiologie, économie de la santé et prévention*)

-----

**47ème Section : HÉMATOLOGIE, CANCÉROLOGIE, IMMUNOLOGIE ET GÉNÉTIQUE**

1ère sous-section : (*Hématologie*)

Docteur Jean-Claude HUMBERT - Docteur François SCHOONEMAN

3ème sous-section : (*Immunologie*)

Docteur Marie-Nathalie SARDA

4ème sous-section : (*Génétique*)

-----

**48ème Section : ANESTHÉSIOLOGIE, PHARMACOLOGIE, RÉANIMATION ET THÉRAPEUTIQUE**

1ère sous-section : (*Anesthésiologie et réanimation chirurgicale*)

Docteur Jacqueline HELMER - Docteur Gérard AUDIBERT

3ème sous-section : (*Pharmacologie fondamentale - Pharmacologie clinique*)

Docteur Françoise LAPICQUE - Docteur Marie-José ROYER-MORROT

Docteur Damien LOEUILLE

=====

**MAÎTRES DE CONFÉRENCES**

-----

**19ème section : SOCIOLOGIE, DÉMOGRAPHIE**

Madame Michèle BAUMANN .

-----

**32ème section : CHIMIE ORGANIQUE, MINÉRALE, INDUSTRIELLE**

Monsieur Jean-Claude RAFT

-----

**40ème section : SCIENCES DU MÉDICAMENT**

Monsieur Jean-Yves JOUZEAU

-----

60ème section : MÉCANIQUE, GÉNIE MÉCANIQUE ET GÉNIE CIVILE  
Monsieur Alain DURAND

-----

64ème section : BIOCHIMIE ET BIOLOGIE MOLÉCULAIRE  
Madame Marie-Odile PERRIN - Mademoiselle Marie-Claire LANHERS

-----

65ème section : BIOLOGIE CELLULAIRE  
Mademoiselle Françoise DREYFUSS - Monsieur Jean-Louis GELLY - Madame Anne GERARD  
Madame Ketsia HESS - Monsieur Pierre TANKOSIC - Monsieur Hervé MEMBRE

-----

67ème section : BIOLOGIE DES POPULATIONS ET ÉCOLOGIE  
Madame Nadine MUSSE

-----

68ème section : BIOLOGIE DES ORGANISMES  
Madame Tao XU-JIANG

=====

MAÎTRES DE CONFÉRENCES ASSOCIÉS  
Médecine Générale  
Docteur Gilbert ALIN  
Docteur Louis FRANCO

=====

### PROFESSEURS ÉMÉRITES

Professeur Georges GRIGNON - Professeur Claude PERRIN  
Professeur Jean PREVOT - Professeur Michel MANCIAUX - Professeur Jean-Pierre GRILLIAT  
Professeur Michel PIERSON - Professeur Alain GAUCHER - Professeur Michel BOULANGE  
Professeur Alain LARCAN - Professeur Michel DUC - Professeur Michel WAYOFF

=====

### DOCTEURS HONORIS CAUSA

Professeur Norman SHUMWAY (1972) <i>Université de Stanford, Californie (U.S.A)</i>	Professeur Mashaki KASHIWARA (1996) <i>Research Institute for Mathematical Sciences de Kyoto (JAPON)</i>
Professeur Paul MICHIELSEN (1979) <i>Université Catholique, Louvain (Belgique)</i>	Professeur Ralph GRÄSBECK (1996) <i>Université d'Helsinki (FINLANDE)</i>
Professeur Charles A. BERRY (1982) <i>Université de Médecine Préventive, Houston (U.S.A)</i>	Professeur James STEICHEN (1997) <i>Université d'Indianapolis (U.S.A)</i>
Professeur Pierre-Marie GALETTI (1982) <i>Brown University, Providence (U.S.A)</i>	Professeur Duong Quang TRUNG (1997) <i>Centre Universitaire de Formation et de Perfectionnement des Professionnels de Santé d'Hô Chi Minh-Ville (VIËTNAM)</i>
Professeur Mamish Nisbet MUNRO (1982) <i>Massachusetts Institute of Technology (U.S.A)</i>	
Professeur Mildred T. STAHLMAN (1982) <i>Vanderbilt University, Nashville (U.S.A)</i>	
Professeur Harry J. BUNCKE (1989) <i>Université de Californie, San Francisco (U.S.A)</i>	
Professeur Théodore H. SCHIEBLER (1989) <i>Institut d'Anatomie de Würzburg (R.F.A)</i>	
Professeur Maria DELIVORIA-PAPADOPOULOS (1996) <i>Université de Pennsylvanie (U.S.A)</i>	

## **A NOTRE PRESIDENT DE THESE**

**Monsieur le Professeur J.M. HASCOËT :**

Professeur de pédiatrie .

Nous vous remercions vivement de nous avoir confié ce travail et de nous avoir guidé patiemment dans sa réalisation .

Nous vous sommes reconnaissant d' avoir pu bénéficier de la qualité de votre enseignement, de votre rigueur scientifique, et de votre très grande disponibilité assortie de conseils éclairés .

Veillez trouver dans ce travail l' expression de notre profond respect et de notre gratitude .

## **A NOTRE JUGE**

**Monsieur le Professeur P. VERT :**

Professeur de pédiatrie .

Officier dans l'ordre des Palmes Académiques .

Nous avons eu le privilège de pouvoir bénéficier de l'immensité de son érudition et de son incomparable expérience clinique .

Nous le prions de bien vouloir trouver dans ce travail, le témoignage de notre profond respect .

## **A NOTRE JUGE**

**Monsieur le Professeur MARCHAL**

Professeur de physiologie ( option clinique ) .

Qu' il veuille bien trouver ici l' expression de ma profonde reconnaissance pour avoir accepté de juger notre travail .

## **A NOTRE JUGE**

**Monsieur le Professeur D. LONGROIS :**

Professeur d' anesthésie - réanimation chirurgicale

( option clinique ) .

Qu' il trouve ici l' expression de nos plus vifs remerciements pour  
l' honneur qu' il nous a accordé en acceptant de juger notre travail .  
Ses précieux renseignements nous été de la plus grande utilité à  
la réalisation de ce travail .

**A Marie - Christine BUCHWEILLER**

Pour son aide précieuse, sa disponibilité et sa gentillesse .



**A mon mari, OLIVIER et à mon fils, PAUL - EDGAR :**

Ils sont mon soutien, mon réconfort permanent et font l'objet de toute ma fierté .

Cette thèse leur est dédiée avec tout mon amour et bien au - delà des mots . . .

**A mes parents :**

Que ce travail soit pour eux le témoignage de ma reconnaissance et de toute mon affection .

**A ma sœur, FANNY .**

**A ma grand - mère maternelle et à mon parrain .**

**A mes regrettés grands - parents paternels et grand - père maternel .**

**A mes beaux parents :**

Pour toute l' aide précieuse qu' ils savent m' apporter .

Avec toute ma tendresse .

**A MARIE :**

Qui m' a donné le goût d' étudier .

Pour sa présence dans les bons et les mauvais moments .

**A ma nièce et à mes neveux .**

**A MARIE - PIERRE et EMMANUEL .**

**A NATHALIE, la grand - mère de mon mari .**

**A toute ma famille .**

**A tous mes amis .**

## SERMENT

"Au moment d'être admise à exercer la médecine, je promets et je jure d'être fidèle aux lois de l'honneur et de la probité. Mon premier souci sera de rétablir, de préserver ou de promouvoir la santé dans tous ses éléments, physiques et mentaux, individuels et sociaux. Je respecterai toutes les personnes, leur autonomie et leur volonté, sans aucune discrimination selon leur état ou leurs convictions. J'interviendrai pour les protéger si elles sont affaiblies, vulnérables ou menacées dans leur intégrité ou leur dignité. Même sous la contrainte, je ne ferai pas usage de mes connaissances contre les lois de l'humanité. J'informerai les patients des décisions envisagées, de leurs raisons et de leurs conséquences. Je ne tromperai jamais leur confiance et n'exploiterai pas le pouvoir hérité des circonstances pour forcer les consciences. Je donnerai mes soins à l'indigent et à quiconque me les demandera. Je ne me laisserai pas influencer par la soif du gain ou la recherche de la gloire.

Admise dans l'intimité des personnes, je tairai les secrets qui me sont confiés. Reçue à l'intérieur des maisons, je respecterai les secrets des foyers et ma conduite ne servira pas à corrompre les mœurs. Je ferai tout pour soulager les souffrances. Je ne prolongerai pas abusivement les agonies. Je ne provoquerai jamais la mort délibérément.

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

J'apporterai mon aide à mes confrères ainsi qu'à leurs familles dans l'adversité. Que les hommes et mes confrères m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses ; que je sois déshonorée et méprisée si j'y manque".

TABLE DES MATIERES :

- 18 - INTRODUCTION .

- 20 - HISTORIQUE .

- 22 - BIOLOGIE, BIOCHIMIE, ROLE PHYSIOLOGIQUE DU MONOXYDE  
D' AZOTE :

1 ) BIOLOGIE .

2 ) BIOCHIMIE .

3 ) ROLE PHYSIOLOGIQUE DU MONOXYDE D' AZOTE .

- 36 - MONOXYDE D' AZOTE ET REGULATION DE LA CIRCULATION  
PULMONAIRE FCÆETALE ET NEONATALE :

1 ) CIRCULATION PULMONAIRE FCÆETALE .

2 ) CIRCULATION PULMONAIRE TRANSITIONNELLE .

- 42 - LE SYNDROME D' HYPERTENSION ARTERIELLE PULMONAIRE  
PERSISTANTE DU NOUVEAU - NE :

1 ) MECANISMES PHYSIOPATHOLOGIQUES .

2 ) MECANISMES BIOMOLECULAIRE .

3 ) LE MONOXYDE D' AZOTE INHALE DANS LE TRAITEMENT DU  
SYNDROME D' HTAPP .

- 50 - ANALYSE SYNTHETIQUE DE LA LITTERATURE :

- 1 ) ESSAIS CLINIQUES DE PHASE II .
- 2 ) ESSAIS CLINIQUES DE PHASE III .
- 3 ) EFFETS SECONDAIRES DU MONOXYDE D' AZOTE .

- 98 - ETUDE ACTUELLE :

- 1 ) OJECTIFS DE L' ETUDE .
- 2 ) PROTOCOLE .
- 3 ) ETUDES ANCILLAIRES OPTIONNELLES .
- 4 ) MISE AU POINT DE L' ETUDE .
- 5 ) ETAT D' AVANCEMENT DE L' ETUDE .

- 119 - CONCLUSION .

- 121 - PRINCIPALES ABREVIATIONS UTILISEES DANS LE TEXTE .

- 124 - BIBLIOGRAPHIE .

## INTRODUCTION :

Depuis la mise en évidence en 1980 par Furchgott et Zawadzki du facteur relaxant dérivé de l' endothélium ( EDRF ) ( 1 ) et de son identification en 1987 ( 2 ), le monoxyde d' azote a été reconnu comme un effecteur biologique important dans de multiples fonctions physiologiques .

En néonatalogie, l' utilisation du monoxyde d' azote inhalé ( NOi ) a permis d' améliorer significativement le pronostic de l' hypoxémie réfractaire chez le nouveau - né à terme .

L' utilisation chez les nouveau - nés prématurés semblent possible mais les conséquences de son utilisation sur le pronostic sont incertaines . Il nous a donc paru intéressant de réaliser en première partie de ce travail une analyse critique de de la littérature afin de conforter cette impression et de préciser les modalités d' utilisation du NO chez l' enfant de moins de 36 semaines d' âge gestationnel .

Par ailleurs, plusieurs études expérimentales et quelques études cliniques ont soulevé le problème d' effets délétères potentiels du NO endogène ( 3 ) .

Il existe donc un risque théorique de voir ces effets accrus en cas d' utilisation du NO inhalé . Aussi, une étude prospective, contrôlée, randomisée, ouverte semble pertinente pour étudier l' effet sur la

mortalité et la morbidité de l' administration du NOi chez des prématurés présentant une hypoxémie sévère .

Nous détaillerons donc en deuxième partie de ce travail, les objectifs et le protocole de cette étude multicentrique actuellement en cours .

## HISTORIQUE :

C'est en 1980 que Furchgott et Zawadski ont présenté dans " Nature " une observation montrant que les relaxations vasculaires médiées par l'acétylcholine nécessitaient la présence d'une substance labile d'origine endothéliale . Ils ont proposé alors de l'appeler *Endothelium Derived Relaxing Factor* ou EDRF ( 1 ) .

En 1987, Palmer a montré que l'activité EDRF était liée à un gaz produit par la cellule endothéliale : le monoxyde d'azote ( 2 ) .

En 1992, Roberts ( 4 ) avec une posologie de 80 ppm et Kinsella ( 5 ) avec une posologie de 10 à 20 ppm mettaient en évidence dans deux études pilotes l'efficacité du NOi chez des nouveau-nés ayant développé une hypertension artérielle pulmonaire .

A noter qu'en 1998 le prix Nobel de Médecine et de Physiologie était décerné conjointement aux scientifiques nord américains : Robert F. FURCHGOTT, Louis J. IGNARRO et Ferid MURAD pour leurs travaux montrant que :

- \* le NO est un transmetteur dans le système cardiovasculaire
- \* le NO, facteur dérivé de l'endothélium, provoque une vasodilatation locale



\* le NO protège le système vasculaire contre l'athérosclérose par des effets variés sur les leucocytes et la perméabilité vasculaire

\* le NO apparaît comme un transmetteur présent dans tout l'organisme et intervenant dans le processus de l'inflammation, l'apoptose et la neurotransmission .

\* la biochimie du NO est étroitement liée à la production de radicaux libres .

BIOLOGIE, BIOCHIMIE, ROLE PHYSIOLOGIQUE DU MONOXYDE D' AZOTE :

Nous proposons en préambule un rappel synthétique de la biologie et du rôle actuellement reconnu du NO endogène .

1 ) BIOLOGIE :

1.1 Un exemple de coopération cellulaire :

L' intégrité de la cellule endothéliale est un pré - requis nécessaire à l' efficacité de nombreux facteurs régulant la fonction de la cellule musculaire lisse et le tonus musculaire .

La cellule endothéliale se comporte comme un capteur et transmet l' information à la cellule musculaire lisse en synthétisant et en sécrétant différents médiateurs diffusibles paracrines de courte durée de vie .

Ces médiateurs sont de deux types :

\* médiateurs vasodilatateurs :

- la prostacycline ( PGI<sub>2</sub> )
- l' endothelium derived hyperpolarizing factor ( EDHF )
- le monoxyde d' azote ( NO )

\* médiateurs vasoconstricteurs :

- l' endothéline - 1 ( ET 1 )
- le thromboxane A<sub>2</sub> ( TX A<sub>2</sub> )
- l' endothelium derived contracting factor 2 ( EDCF 2 )

- le platelet derived growth factor ( PDGF )

Ces médiateurs agissent sur la cellule musculaire lisse via divers mécanismes modulant les concentrations calciques intracellulaires et finalement la contraction ou la relaxation vasculaire . Le NO par exemple agit en stimulant l' action de la guanylate cyclase soluble ce qui entraine une augmentation de la concentration intracellulaire de GMPc ( figure 1 ) .

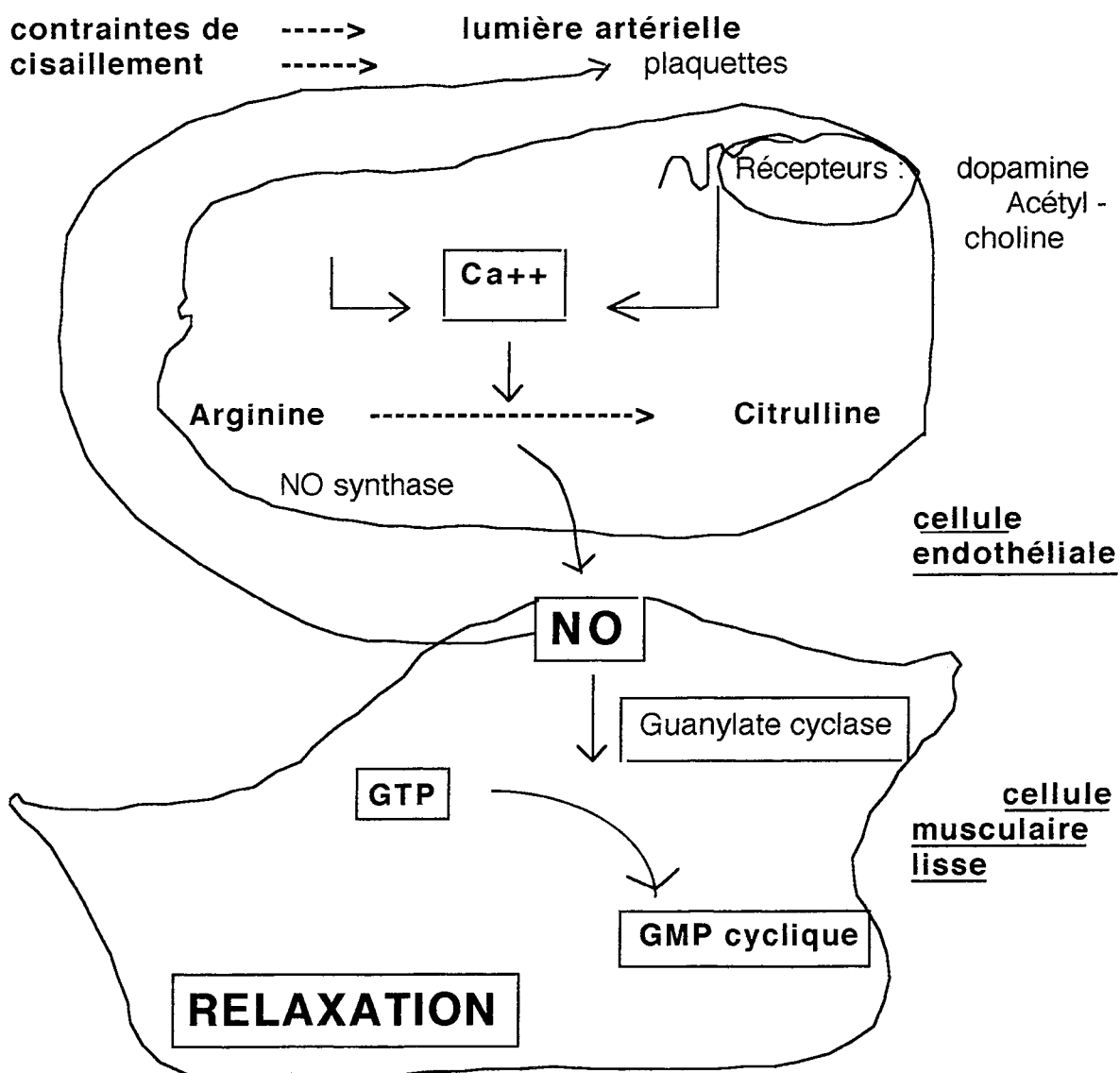


Figure 1 : Mécanismes de relaxation de la cellule musculaire lisse d' après AT DINH - XUAN

Il existe à l' état basal un équilibre dynamique entre les facteurs relaxants et contractants libérés par l' endothélium ( 6 ) Fig.2

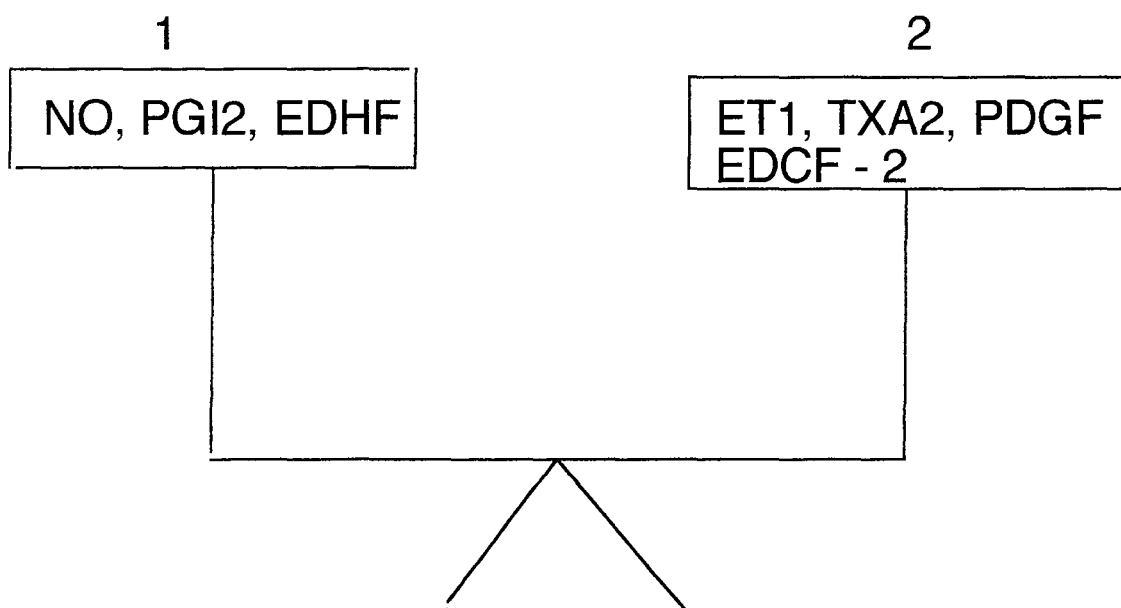


FIGURE 2 .

1) Facteurs vasodilatateurs, antiagrégants plaquettaires et antiprolifératifs :

Monoxyde d' azote ( NO ) ; Prostacycline ( PGI2 ) ;  
Endothelium - Derived Hyperpolarizing Factor ( EDHF )

2 ) Facteurs vasoconstricteurs, pro - agrégants plaquettaires et prolifératifs :

Endothéline 1 ( ET1 ) ; Thromboxane A2 ( TXA2 ) ;  
Endothelium - Derived Contracting Factor 2 ( EDCF - 2 ) ;  
Platelet Derived Growth Factor ( PDGF ) .

La fonction endothéliale est normale lorsque les facteurs endothéliaux relaxants ( 1 ) et contractants ( 2 ) sont en équilibre .

Il est aussi établi qu' il existe un tonus vasodilatateur physiologique de base qui semble être sous la dépendance d' une sécrétion continue de monoxyde d' azote . Ceci a pu être mis en évidence chez l' homme non seulement dans la circulation pulmonaire ( 7 ), mais aussi systémique ( 8 ).

En effet, l' injection d' inhibiteurs spécifiques de la NO - synthase provoque une augmentation rapide de la pression artérielle ( 8 ) .

### 1.2 Métabolisme du NO endogène :

Nombreux sont les facteurs capables de stimuler la libération de NO ; ils peuvent être classés en trois grands groupes :

\* le premier groupe est représenté par les contraintes mécaniques endothéliales : ce sont les forces de cisaillement qui s' exercent sur la paroi vasculaire en réponse à une augmentation du flux ou de la viscosité sanguine .

Ces facteurs mécaniques représentent probablement le plus puissant stimulus de la libération de NO . La libération débit - dépendant qu' ils induisent permet une adaptation vasculaire rapide en réponse aux variations soudaines de débit .

\* le deuxième groupe comporte les médiateurs pharmacologiques circulants et les neuromédiateurs tels que :

- l'acide arachidonique
- l'histamine
- l'arginine vasopressine
- la noradrénaline
- l'adrénaline
- les bradykinines .

\* le troisième groupe se compose des produits de l'agrégation plaquettaire ( ADP, sérotonine ) et de la thrombine .

L'endothélium vasculaire participe ainsi activement au contrôle local de l'hémostase puisque, en plus de son action antiagrégante, il induit une vasodilatation locale qui permet au flux sanguin d'emporter l'agrégat plaquettaire en voie de constitution .

Par contre, si l'endothélium vasculaire est lésé, l'action directe de ces mêmes substances ( sérotonine et ADP ) amplifie le phénomène d'agrégation et entraîne une vasoconstriction locale qui favorise la formation d'un thrombus .

## 2 ) BIOCHIMIE :

### 2.1 Les NO synthases :

Le monoxyde d' azote est synthétisé dans les cellules endothéliales à partir de l' un des deux atomes d' azote terminal du groupe guanidine de la L - arginine . L' oxygène moléculaire et le NADPH sont des cosubstrats .

La biosynthèse du NO est sous la dépendance d' une famille d' enzymes : les **NO synthases** ( NOS ) dont il existe au moins trois isoformes pour lesquelles les ADN complémentaires ont été clonés ( 9 ) .

Ces trois isoformes sont codées par trois gènes distincts localisés sur les chromosomes 7, 12 et 17 . Elles diffèrent entre elles par leurs fonctions, leurs localisations cellulaires et leurs caractéristiques biochimiques ( tableau I ) .

On distingue d' une part les NO synthases constitutives et d' autre part la NO synthase inductible macrophagique .

#### \* les **NO synthases constitutives** :

elles sont présentes dans les cellules endothéliales ( NOSe ) et dans les cellules nerveuses .

Elles sont normalement présentes à l' état physiologique .

Leur activité est régulée par la concentration intracellulaire de calcium elle - même modulée par des substances vaso -

actives telles que l'acétylcholine, la sérotonine ou les bradykinines ainsi que par les forces de cisaillement exercées par le flux sanguin .

L'expression de la NO synthase constitutive produit pendant une brève période des quantités picomolaires de NO .

Le NO synthétisé alors intervient en tant que médiateur paracrine de la relaxation musculaire lisse vasculaire et en tant que neurotransmetteur .

**\* la NO synthase inductible :**

elle ne se manifeste que dans les états pathologiques tels que le choc septique induit par des endotoxines bactériennes et la libération de cytokines ( 10 ) .

L'induction du gène codant pour la NO synthase inductible, normalement absente de la cellule, donne lieu à la synthèse de novo de cette protéine . Cette dernière devient continuellement active du fait de sa liaison irréversible à la calmoduline . Ceci explique la relative indépendance de cette isoforme par rapport au calcium intracellulaire .

Cette voie libère des quantités nanomolaires de NO ce qui rend compte notamment de l'insuffisance cardiaque, de la vasoplégie et de l'hypotension artérielle systémique du choc septique ( 11 ) .



Tableau I : LES TROIS ISOFORMES DES NO SYNTHASES .

<b>Isoformes</b>	<b>Endothéliale</b>	<b>Neuronale</b>	<b>Inductible</b>
localisation chromosomique du gène	7q35 - 36	12q24.2	17cen - q12
masse moléculaire de la protéine	135 kDa	150 kDa	130 kDa
activité	constitutive	constitutive	inductible
fonction du produit NO	vasodilatation	neurotransmission	bactéricidie tumoricidie
cofacteurs Ca 2+/ calmoduline	dépendante	dépendante	indépendante
effecteurs membranaires	acétylcholine bradykinine	acides aminés neuroexcitateurs	LPS, TNF alpha 1 IL - 1

Il existe une autre classification des NO synthases :

NO synthase endothéliale = NOS<sub>3</sub>

NO synthase neuronale = NOS<sub>1</sub>

NO synthase inductible = NOS<sub>2</sub>.

## 2.2 Cinétique de réaction du NO en phase gazeuse et liquide :

Le NO peut agir comme acide ou comme base en tant qu'agent réducteur ou oxydant .C' est une molécule paramagnétique qui a les caractéristiques d' un radical libre .

Trois grands types de réactions peuvent être observées avec le NO :

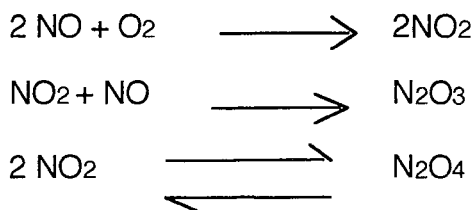
- l' auto - oxydation
- réaction avec les radicaux libres
- réaction avec les métaux de transition et nitrosylation des résidus tyrosine ( nitrotyrosilation ) .

L' importance de ces réactions permet de comprendre les propriétés biologiques du NO et ses implications biologiques potentielles .

### a ) l' auto - oxydation :

Le NO est très réactif vis à vis de l' oxygène en phase gazeuse ou aqueuse . Il existe des similitudes mais aussi des différences entre les réactions qui se produisent entre le NO et l' oxygène selon que la réaction a lieu en phase gazeuse ou aqueuse . La différence principale réside dans une stœchiométrie différente ( 12 ) .

\* en phase gazeuse :

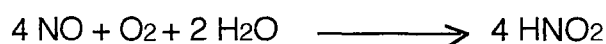


$N_2O_4$  et  $N_2O_3$  sont de puissants agents nitrosants . Ils sont hydrolysés en ions nitrites et nitrates . Ils réagissent également avec les groupes thiols pour former les dérivés S- Nitrosés . Les S- Nitrosothiols pourraient constituer un moyen de stockage et de transport de NO ainsi que de modulateurs de la concentration de NO libre et donc des effets toxiques de celui - ci .

Des nitrosamines et des nitrosaminoacides sont formés par réaction de  $N_2O_3$  et  $N_2O_4$  avec les composés aminés en phase gazeuse, en milieu lipidique et en solution aqueuse neutre ou alcaline .

\* en phase aqueuse :

en l' absence d' autres substrats, la réaction NO /  $O_2$  dans l' eau produit essentiellement des nitrites .



Par cette réaction, 4  $\text{HNO}_2$  sont produits alors que l' hydrolyse de  $\text{N}_2\text{O}_4$  obtenu en phase gazeuse donne un seul  $\text{HNO}_2$  selon la réaction suivante :



b ) réaction du NO avec les radicaux libres :

Le NO réagit avec l' ion superoxyde pour donner des peroxy - nitrites qui ont la faculté d' endommager l' ADN et de provoquer la peroxydation des lipides contribuant ainsi au dommage oxydatif survenant dans certaines conditions pathologiques ( 13 ) .

c ) réaction avec les métaux de transition :

Le NO a une très grande affinité pour les métaux de transition et forme des complexes avec les protéines hémiques et autres protéines contenant du fer ou du soufre . La formation de complexes NO - Fe peut avoir pour conséquence l' activation de la guanylate cyclase ou l' inactivation de certains enzymes impliqués dans la respiration, le cycle de Krebs et la synthèse de l' ADN ( 13 ) .

Le NO réagit avec les porphyrines ferriques conduisant à un complexe nitrosyle qui peut réagir directement avec un composé aminé en générant le composé nitrosyle ferreux .

Quatre vingt dix % des 300 composés N - nitrosé étudiés induisent des tumeurs dans une grande variété d' organes chez 40 espèces animales incluant le primate ( 13 ) .

Les nitrosamines après conversion métabolique en espèces actives alcoylantes peuvent par réaction avec les macromolécules cellulaires conduire à des mutations qui pourraient être des facteurs déterminants dans l' initiation du processus de cancérisation ( 13 ) .

### 3 ) ROLE PHYSIOLOGIQUE DU MONOXYDE D' AZOTE :

Une fois synthétisé, le monoxyde d' azote diffuse rapidement à l' extérieur de la cellule endothéliale et agit de manière paracrine .

La diffusion du NO vers **la face lumineuse** de l' endothélium puis la lumière vasculaire empêche l' agrégation et l' adhésion des plaquettes à la paroi vasculaire par le biais de la stimulation de la **guanylate cyclase plaquettaire** ( 14 ) .

En diffusant vers **le pôle basal** de l' endothélium le NO active la **guanylate cyclase soluble de la cellule musculaire lisse** et augmente la concentration intra - cellulaire d' un second messager : le **guanosine monophosphate cyclique** ( GMPc ) .

L' augmentation du GMPc dans le muscle lisse vasculaire active une série de protéines kinases, notamment les **protéines kinases G de type I** .

L' activation de ces protéines kinases induit :

- \* une phosphorylation de protéines cibles telles que le phospholamban impliqué dans les mouvements de recaptage et / ou d' extrusion du calcium entre le réticulum endoplasmique et le cytosol .

- \* l' ouverture des canaux potassiques - calcium dépendants et à " rectification retardée ", sensibles à l' oxygène entraînant

un flux extra cellulaire d' ions  $K^+$  et donc l' hyperpolarisation de la membrane cellulaire .

L' hyperpolarisation de la membrane cellulaire inactive les canaux calciques voltage dépendant et diminue les concentrations intra - cellulaires de calcium .

Cette diminution inhibe les interactions actine - chaînes légères de myosine et aboutit donc in vitro au relâchement des cellules musculaires lisses et in vivo à une vasodilatation artérielle et veineuse ( 15 ) .

A des concentrations beaucoup plus importantes, le NO peut inhiber les enzymes de la chaîne respiratoire mitochondriale ( 14 ) .

Dans le système nerveux central, le NO jouerait un rôle au niveau des acides aminés excitateurs .

Il serait un neurotransmetteur dans le système non adrénérique, non cholinergique innervant les muscles lisses gastro - intestinaux, pelviens et les voies aériennes ( 16 ) .

Le NO intervient dans les processus immunologiques inflammatoires et notamment lors de l' activation des macrophages .

Enfin le NO peut être une substance mutagène . Une fois sorti de la cellule endothéliale il est rapidement inactivé en se combinant à l' hémoglobine entraînant à fortes doses la production de méthémoglobine .

En présence d'oxygène, le NO entraîne une production rapide de vapeurs nitreuses (  $N_2O_4$ ,  $NO_2$  ), d'oxydes nitreux (  $NO_2^-$  ) et d'oxydes nitriques (  $NO_3^-$  ) ( 17 ) .

En présence d'ion superoxyde, le NO forme du peroxynitrite (  $ONOO^-$  ) capable de produire des lésions oxydatives en particulier sur l'endothélium pulmonaire ( 18 ) .

Tout ceci explique la courte durée de vie du monoxyde d'azote soit trois à six secondes, son action purement locale confinée au voisinage de son lieu de sécrétion mais aussi les possibles effets secondaires pulmonaires ou à distance en cas d'inhalation .

## MONOXYDE D' AZOTE ET REGULATION DE LA CIRCULATION

### PULMONAIRE FŒTALE ET NEONATALE :

#### 1 ) LA CIRCULATION PULMONAIRE FŒTALE :

La circulation pulmonaire fœtale est caractérisée par des résistances vasculaires pulmonaires élevées et un faible débit sanguin pulmonaire représentant moins de 10 % du débit cardiaque combiné .

La circulation pulmonaire fœtale comporte une autre caractéristique qui est de s' opposer à une vasodilatation induite, suggérant une capacité d' autorégulation . Certaines équipes ont étudié l' effet de vasodilatateurs comme l' oxygène, l' acétylcholine, la bradykinine, l' histamine, la tolazoline ou les prostaglandines . Ces différentes molécules entraînent chez le fœtus une vasodilatation pulmonaire transitoire bientôt suivie d' une vasoconstriction malgré la prolongation de la perfusion (19) .

**Ainsi la circulation pulmonaire fœtale est caractérisée par une tendance à la vasoconstriction capable de résister aux stimuli vasodilatateurs .**

Par contre les agents vasodilatateurs qui agissent directement sur le contenu en GMPc de la cellule musculaire lisse tels que le facteur atrial natriurétique, le 8 - bromo - GMP ou le NO inhalé induisent une vasodilatation prolongée ( 20 ) .

Les mécanismes de cette réponse vasoconstrictrice temps - dépendante pourrait donc correspondre à une libération insuffisante de NO



ou à une production accrue de vasoconstricteurs tels que l' endothéline I .

Malgré des résistances vasculaires pulmonaires élevées, l' activité NO endogène paraît moduler le tonus vasculaire pulmonaire très précocément au cours de la gestation ( 21 ) . En effet :

\* des études d' immunomarquage utilisant un anticorps spécifique de la NO synthase endothéliale de type III ont montré que cette NO synthase est présente dans les cellules endothéliales pulmonaires de fœtus d' agneau dès le début du deuxième tiers de la gestation ( 22 ) .

\* la perfusion d' analogues de l' arginine, qui sont connus comme diminuant la production de NO, entraîne une majoration de l' hypertension artérielle pulmonaire chez des fœtus d' agneaux ( 23 ) .

**Il est ainsi montré qu' une activité basale de la NO synthase endothéliale module les résistances vasculaires pulmonaires fœtales en fin du deuxième tiers de la gestation .**

\* la perfusion d' antagonistes des phosphodiésterases spécifiques du GMPc tels que le dipyridamole ou le zaniprast entraîne une vasodilatation pulmonaire chez le fœtus d' agneau (24 ) . Ces inhibiteurs agissent en empêchant la dégradation du GMPc et amplifient les effets de la production

basale de monoxyde d' azote .

**Ceci suggère qu' une activité anti phosphodiésté -  
rase spécifique du GMPc pourrait constituer un mé -  
canisme important pour limiter la vasodilatation du  
poumon foetal normal .**

Par ailleurs, l' endothéline I qui est à ce jour le plus puissant vaso -  
constricteur jamais isolé, semble participer à l' élévation des résistances  
vasculaires pulmonaires foetales . En effet, de l' ARNm de prépro - ET -1 a  
été retrouvé dans le poumon foetal de rat . Cette molécule est également  
retrouvée à des concentrations élevées dans le sang humain prélevé au  
cordon .

Toutefois, la perfusion d' ET - 1 dans l' artère pulmonaire foetale entraîne  
une vasodilatation pulmonaire transitoire à faibles posologies et une vaso -  
constriction marquée à fortes posologies ( 25 ) .

Cette vasodilatation pulmonaire paradoxale s' explique par la sti -  
mulation du récepteur B de l' ET - 1 . Ce récepteur est localisé sur la cellule  
endothéliale et sa stimulation libère du NO et de la PGI2 .

A l' inverse, la stimulation du récepteur A localisé sur la cellule  
musculaire lisse pourrait contribuer à l' élévation des résistances pulmo -  
naires . En effet, le blocage de ce récepteur entraîne une vasodilatation  
pulmonaire prolongée ( 26 ) .

Enfin des travaux ont été réalisés sur des cellules endothéliales en culture ( 27 ) :

\* dans un milieu riche en oxygène, l' expression de la NO synthase endothéliale est élevée et ce de façon inversement proportionnelle à celle de l' endothéline 1 .

\* dans un milieu pauvre en oxygène, l' expression de la NO synthase endothéliale est faible, celle de l' ET - 1 est élevée .

**La production d' endothéline 1 semble donc constituer un mécanisme de contre - régulation qui s' oppose à la vasodilatation du poumon foetal par l' activité NO endogène .**

## 2 ) LA CIRCULATION PULMONAIRE TRANSITIONNELLE :

A la naissance, la capacité résiduelle fonctionnelle s' établit, les résistances vasculaires pulmonaires diminuent progressivement et le débit sanguin pulmonaire augmente de huit à dix fois ce qui permet au poumon d' assurer sa fonction d' échange gazeux .

De multiples stimuli contribuent à la diminution normale des résistances vasculaires pulmonaires à la naissance tels que :

- \* la distension rythmique pulmonaire
- \* le drainage du liquide intrapulmonaire
- \* l' établissement d' une interface liquide - gaz

\* l' augmentation de l' oxygénation caractérisée par une augmentation de la PO<sub>2</sub> alvéolaire et artérielle ( 28 ) .

Une modification de la production des médiateurs vasoactifs paraît moduler ces stimuli :

\* les antagonistes des leucotriènes ou de l' endothéline 1 diminuent les résistances vasculaires pulmonaires chez le fœtus normal . On suppose donc qu' une diminution de leur production ou de leur action contribue à l' établissement d' une circulation pulmonaire transitionnelle normale .

\* le blocage de la synthèse des prostaglandines, notamment de la PGI<sub>2</sub> atténue la diminution des résistances vasculaires pulmonaires induite par la ventilation mais ne modifie pas les effets obtenus par l' oxygénation ( 29 ) .

Au contraire, les inhibiteurs de la NO synthase endothéliale atténuent grandement les effets vasodilatateurs obtenus par l' oxygénation ( 30 ) .

En résumé, **le stimulus prépondérant contribuant à la diminution des résistances vasculaires pulmonaires semble être la libération de NO endogène** . Cette libération est le résultat de l' activation de la NO synthase endothéliale et de la dépression de l' endothéline 1 observée par l' oxygénation de l' enfant et l' application des forces de cisaillement au niveau des cellules endothéliales ( 31 ) .

Néanmoins ce système se met en place lentement et l' augmentation du débit sanguin pulmonaire est rapide ce qui évoque également un

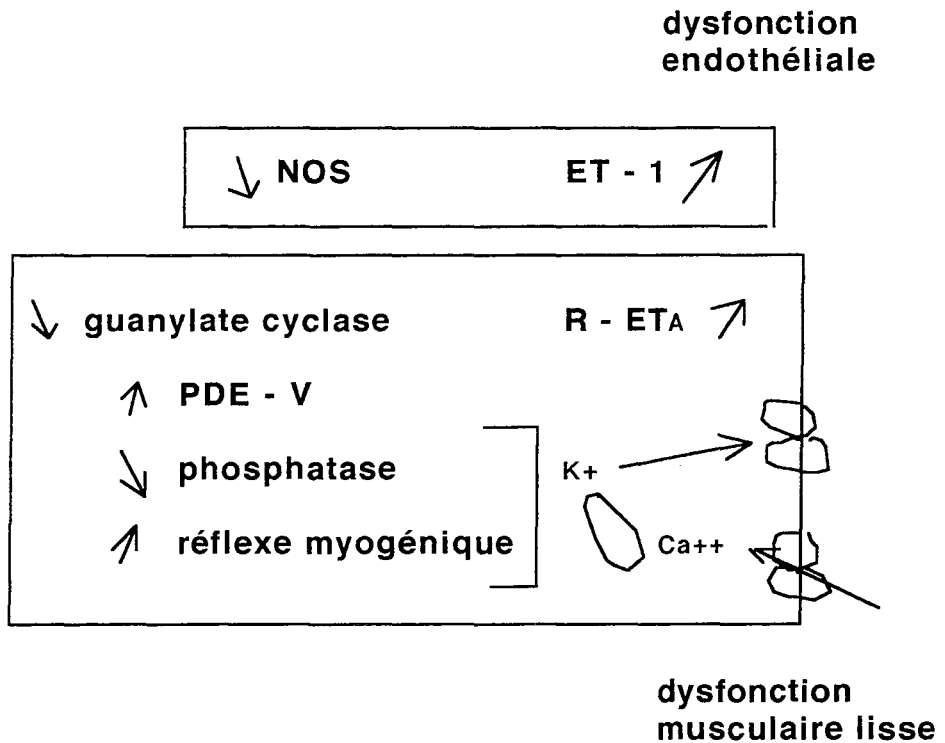
rôle prépondérant au niveau des cellules musculaires lisses des petits vaisseaux et des canaux potassiques sensibles à l'oxygène mais également modulés par le NO endogène ( 32 ) .

LE SYNDROME D' HYPERTENSION ARTERIELLE  
PULMONAIRE PERSISTANTE DU NOUVEAU - NE .

1 ) LES MECANISMES PHYSIOPATHOLOGIQUES :

Ils restent encore mal compris mais peuvent être résumés par la figure 3 : compréhension actuelle de la physiopathologie du syndrome d' HTAPPN .

d' après B Thébaud et JC Mercier ( 14 ) .



*Il peut s' agir d' une dysfonction pulmonaire endothéliale, avec libération diminuée de NO et accrue d' endothéline 1 ( ET -1 ) . Il s' y associe une dysfonction musculaire lisse avec diminution de la sensibilité de la guanylate cyclase au NO, hyperactivité des phosphodiesterases de type V ( PDE-V ), modification de la répartition et/ou de l' activité des canaux potassiques KCa et KDR, conduisant à l' augmentation du Ca++ cytosolique, diminution de la phosphatase découplant les ponts d' actine - myosine légère, responsable d' une exacerbation du réflexe myogénique .*

On a cependant beaucoup appris du modèle animal d' HTAP chronique par ligature ou compression partielle du canal artériel in utéro chez le fœtus d' agneau ( 33 ) . Dans ce modèle, les résistances vasculaires pulmonaires fœtales augmentent en quelques jours . Parallèlement, la réactivité pulmonaire fœtale aux vasodilatateurs endothélium - dépendants comme l' acétylcholine ou l' oxygène est perdue alors que celle aux vasodilatateurs endothélium - indépendants tels que le facteur atrial natriurétique est conservée .

**Cela suggère une dysfonction endothéliale pulmonaire ( 34 ) .**

Chez ces agneaux avec hypertension artérielle pulmonaire, le débit sanguin pulmonaire n' augmente que de deux ou trois fois en postnatal . Les résistances vasculaires pulmonaires restent élevées et un shunt droit - gauche massif à travers le canal artériel et ou le foramen ovale est responsable d' une hypoxémie sévère .

A l' autopsie on observe un épaissement des médias et des adventices des vaisseaux pulmonaires de même qu' une hypertrophie du ventricule droit .

Ces constatations sont similaires aux données humaines ( 35 ) .

Par ailleurs, dans ce modèle, la ventilation avec 100 % d' oxygène a peu d' effet sur les résistances vasculaires pulmonaires à la différence du NO inhalé qui améliore remarquablement l' oxygénation et la survie des animaux ( 36 ) .

## 2 ) LES MECANISMES BIOMOLECULAIRES :

Les mécanismes biomoléculaires sous - tendant le syndrome d' HTAPPN peuvent consister en :

- \* une diminution de l' expression de la NO synthase endothéliale ( 37, 38 )
- \* une sensibilité diminuée de la guanylate cyclase soluble au NO ( 39 )
- \* une augmentation de l' activité phosphodiésterasique V avec pour conséquence une concentration diminuée en GMPc intracellulaire ( 40 )
- \* une modification du nombre ou de l' activité des canaux Kca et KDR avec pour résultat une augmentation du calcium ionisé intracellulaire ( 41 )
- \* une diminution d' activité de la phosphatase musculaire qui découple les ponts d' actine - myosine légère ( 42 )
- \* un excès de médiateurs vasoconstricteurs comme le thromboxane A2 ou l' endothéline 1 et / ou une surexposition des récepteurs ETA aux dépens des récepteurs ETB ( 16 ) en partie responsables de la prolifération musculaire lisse et adventitielle .

## 3 ) LE NO INHALE DANS LE TRAITEMENT DU SYNDROME

D' HTAPPN :

### a) Modalités d' administration du NO inhalé : ( 16 )

Un débit continu de NO est délivré à partir d' un cylindre réservoir de 450 particules par million ( ppm ), ou de 225 ppm



en néonatalogie, de NO à l' aide d' un détendeur et d' un débit - litre de précision ( 0,1 à 1,5 l / mn ) .

Un ppm de NO correspond à une mole pour 10 puissance 6 mole de N<sub>2</sub> .

Ce gaz est insufflé directement en aval de l' humidificateur dans la branche inspiratoire du ventilateur néonatal à débit continu, soit conventionnel soit à oscillations à haute fréquence .

Des études sur la cinétique d' oxydation du NO en ses dérivés ont montré que le temps de contact entre NO et O<sub>2</sub> doit être suffisamment bref afin de limiter la formation de NO<sub>2</sub> (43) .

Ainsi le lieu d' administration doit être proche de la sonde d' intubation en sachant qu' une trop grande proximité expose à une concentration inhomogène du NO .

De même, afin d' assurer un lavage suffisant du circuit ventilatoire, il est conseillé d' utiliser un débit continu du ventilateur néonatal supérieur ou égal à 10 l / mn .

Du fait de la toxicité potentielle du NO, les concentrations de NO et NO<sub>2</sub> doivent être monitorées, au minimum de façon périodique, et après chaque changement des constantes ventilatoires grâce à une pièce en Y interposée le plus près possible du cobb sur le circuit inspiratoire .

Deux techniques de mesure de NO / NO<sub>2</sub> sont utilisables au lit du malade :

- la chimioluminescence ( méthode de référence )
- l' électrochimie, moins précise pour les faibles concentrations mais dix fois moins coûteuse et dont l' utilisation s' avère suffisante en pratique clinique .

Les tests d' administration du NO sur différents ventilateurs mettent en évidence plusieurs problèmes :

- le débit continu n' est pas toujours maintenu constant .
- l' utilisation du " soupir " en oscillation à hautes fréquences peut conduire à des taux transitoirement élevés de NO<sub>2</sub> et doit être évitée .
- le mode de fonctionnement en débit intermittent de certains ventilateurs rend les concentrations de NO / NO<sub>2</sub> imprévisibles .

Tout ceci renforce la nécessité d' un monitoring .

Enfin, certains plastiques réagissent avec le NO .

Aussi, l' utilisation de canalisations en polytétrafluoroéthylène apparaît plus sûre .

b ) Efficacité du NO inhalé :

Les molécules de NO sont très lipophiles . Aussi, après administration par voie inhalée, elles diffusent à travers les structures alvéolaires et atteignent leur cible moléculaire : la guanylate cyclase soluble musculaire lisse .

Les molécules de NO sont immédiatement inactivées par l' hémoglobine . L' hémoglobine nitrosylée est oxydée en méthémoglobine elle - même réduite par la méthémoglobine réductase libérant ainsi des nitrites et des nitrates .

**L' action vasodilatatrice du NO se limite donc strictement aux vaisseaux pulmonaires notamment capillaires et veinules ( 44 ) .**

L' inhalation de NO pose trois problèmes :

- \* son accessibilité aux vaisseaux pulmonaires nécessite des alvéoles bien ventilées,
- \* sa diffusion à travers l' adventice est nettement moindre que par voie endoluminale ce qui explique que les posologies puissent être largement supérieures aux concentrations physiologiques de NO endogène,
- \* comme le NO pourrait réguler négativement l' activité de la NO synthase endothéliale son sevrage doit être progressif afin d' éviter un rebond hypertensif

pulmonaire ( 45 ) .

Des observations préliminaires ont montré dans quelques études de phase I que le NO inhalé améliore l'oxygénation chez des nouveau-nés avec HTAPPN et en hypoxémie réfractaire .

\* Roberts et al montrèrent qu'une brève inhalation de 80 ppm pendant 30 minutes entraînait une amélioration de l'oxygénation chez des nouveaux-nés avec HTAPPN mais de façon transitoire . ( 4 )

\* Kinsella et al rapportèrent une rapide et durable amélioration de l'oxygénation lors de l'inhalation de 20 ppm de NO pendant 4 heures suivie d'une décroissance des doses à 6 ppm pendant une durée de 1 à 3 jours .

Cette stratégie leur a permis d'éviter le recours à l'ECMO chez la plupart de leurs patients ( 5 ) .

Plusieurs types de réponses peuvent être individualisés . Certains enfants répondent de façon immédiate dès la mise sous NO, d'autres de façon plus progressive avec une lente amélioration de l'oxygénation dans les heures qui suivent .

Enfin certains restent non répondeurs laissant présumer que d'autres mécanismes physiopathologiques sont parfois responsables de cette absence

d'adaptation à la vie extra - utérine ( 46, 47 ) .

**Il reste à prouver que les bénéfices immédiats de l' inhalation de NO se traduisent par un bénéfice à long terme avec une absence de toxicité .**

**Afin d' y répondre, de nombreuses études cliniques contrôlées ont été effectuées .**

Nous allons les aborder ultérieurement .

## ANALYSE SYNTHETIQUE DE LA LITTERATURE :

Parmi toute la bibliographie, nous avons sélectionné les études cliniques ou paracliniques qui ont abouti à reconnaître la nécessité d' établir un protocole d' étude concernant l' administration du NO par voie inhalée chez le prématuré .

### 1 ) ESSAIS CLINIQUES DE PHASE II :

En 1992, ROBERTS ( 4 ) a montré l' efficacité du NO inhalé dans une première étude pilote portant sur 6 enfants nés à terme . Ces enfants étaient en hypoxémie réfractaire . L' HTAPP était confirmée par l' échographie cardiaque .

Dans ce travail, le NO a été administré à la posologie de 80 ppm pendant 30 minutes .

L' efficacité du traitement a été suivie par une mesure de la PaO<sub>2</sub> post - ductale, de la saturation en oxygène pré et post ductale .

La tolérance du traitement a été appréciée par un suivi régulier de la tension artérielle, de la concentration en méthémoglobine, de la PaCO<sub>2</sub> et des gaz du sang .

Les résultats de l' étude sont les suivants :

\* après inhalation de 80 ppm de NO, la saturation artérielle en oxygène préductale, initialement basse, a augmenté très rapidement

Cette augmentation est liée à la vasodilatation pulmonaire induite par le monoxyde d' azote .

\* l' inhalation de 80 ppm de NO pendant 10 minutes a augmenté de façon statistiquement significative (  $p < 0,05$  ) la PaO<sub>2</sub> post - ductale . Par contre, une inhalation de 20 ou 40 ppm de NO n' a pas conduit à une amélioration de la PaO<sub>2</sub> post - ductale .

\* dans aucun des cas, l' inhalation de NO n' a entraîné d' hypotension systémique, de perturbation des gaz du sang artériel ou de la PaCO<sub>2</sub> . La méthémoglobinémie est toujours restée inférieure à 5 % .

Cette première étude a permis de montrer que le NO inhalé est efficace chez les nouveau - nés présentant une HTAP probablement en améliorant le rapport ventilation sur perfusion . Est apparue également dans ce travail la notion d' effet rebond de l' hypoxémie à l' arrêt du NO . En effet, après 30 minutes d' inhalation, l' administration du NO a été arrêtée . Un enfant sur six a continué à s' améliorer après l' arrêt du NO ; mais pour les cinq autres enfants, l' hypoxémie est réapparue en moins de cinq minutes après l' arrêt du NO .

Une deuxième étude pilote a été réalisée en 1992 par KINSELLA ( 5 ) chez 9 enfants présentant une HTAP confirmée par l' échographie

cardiaque . L' âge gestationnel moyen des enfants était de 39 semaines d' aménorrhée [ 35 à 42 SA ] et le poids de naissance moyen de 3295 grammes [ 2540 à 4610 grammes ] .

4 enfants présentaient une HTAP idiopathique et 5 une HTAP secondaire à une inhalation méconiale ou à un sepsis sévère . Ces 9 enfants étaient tous candidats à l' oxygénation extra - corporelle ( ECMO ) avec un index d' oxygénation ( IO ) supérieur à 40 .

Le NO a été administré à la posologie de 10 ppm durant les 15 premières minutes et de 20 ppm durant les 15 minutes suivantes .

Une échographie cardiaque a été réalisée avant l' administration de NO . Une étude des gaz du sang par un prélèvement post ductal, un dosage de la méthémoglobinémie et une prise de la tension artérielle ont été effectués avant la mise sous NO puis à 15, 30, 60 et 90 minutes ainsi qu' à 4, 12 et 24 heures .

3 enfants ont reçu du monoxyde d' azote pendant moins de 4 heures et ont ensuite bénéficié d' une oxygénation extra - corporelle .

6 enfants ont reçu du NO par voie inhalée pendant 24 heures aux posologies de 10 ppm pendant les 15 premières minutes puis 20 ppm pendant les 4 heures suivantes et ensuite 6 ppm et n' ont pas nécessité le recours à l' oxygénation extra - corporelle .

Cette étude montre l' efficacité du NO inhalé chez ces 6 derniers patients puisque l' index d' oxygénation diminue de 66 % après les 30 premières minutes d' exposition au NO . En effet l' oxygénation des



patients a augmenté progressivement avec 20 ppm de NO durant les 4 premières heures de l' étude, puis l' administration de 6 ppm de NO pendant 24 heures a permis de maintenir l' amélioration de l' oxygénation . Ces 6 patients n' ont donc pas eu besoin d' ECMO . Ils ont été sevrés de leur ventilation assistée et d' oxygénothérapie en moins d' un mois . Ils n' ont pas développé de dysplasie broncho-pulmonaire .

Par ailleurs, tous les enfants inclus dans l' étude ont présenté une tension artérielle stable au cours de l' inhalation de NO . Aucune augmentation significative de la méthémoglobinémie n' a été mise en évidence .

En 1993, KINSELLA ( 48 ) a réalisé une nouvelle étude de phase II chez 9 nouveau - nés à terme [ âge gestationnel de 38 + / - 1 SA, poids de naissance de 3221 grammes + / - 188 grammes ] en hypoxémie réfractaire avec indication d' ECMO .

Les critères d' ECMO étaient les suivants :

- \* poids de naissance > 2000 grammes
- \* âge gestationnel > 34 SA
- \* pas de cardiopathie congénitale ou d' atteinte du système nerveux central
- \* hypoxémie réfractaire caractérisée par un Index d' Oxygénation  
 $IO = Pression\ alvéolaire\ moyenne \times Fi\ O_2 \times 100 > 40 .$

PaO<sub>2</sub> sous - ductale

Tous les patients étaient donc en hypoxémie réfractaire et bénéficiaient

d' une ventilation " optimale " . Ils présentaient tous une HTAP confirmée par l' échographie cardiaque . Cette HTAP était secondaire à une inhalation méconiale dans 3 cas, un sepsis sévère dans 3 cas, une hernie diaphragmatique dans 2 cas et une hypoxie anténatale par rupture utérine dans 1 cas .

5 enfants étaient ventilés par oscillations hautes fréquences .

Le NO a été administré à la posologie de 20 ppm pendant 4 heures et à 6 ppm pendant les 20 heures suivantes . Le NO a été arrêté pour tous les patients à 24 heures .

La surveillance a comporté une mesure de la tension artérielle, de la méthémoglobinémie, de la PaO<sub>2</sub> et de l' index d' oxygénation avant la mise sous NO puis après 15, 30, 60 et 90 minutes ainsi qu' à la 4ème, 12ème et 24ème heure d' inhalation du monoxyde d' azote .

L' échographie cardiaque a été réalisée avant la mise sous NO et 24 heures après .

L' inhalation de NO aux posologies de 20 puis 6 ppm a entraîné une amélioration clinique significative de 60 % de l' oxygénation et a permis d' éviter le recours à l' ECMO pour 8 nouveau - nés sur 9 étudiés . En effet, un enfant a présenté, dans le cadre d' un état infectieux sévère, une défaillance cardiaque nécessitant le recours à l' oxygénation extra - corporelle .

La méthémoglobinémie est restée pour tous les enfants < à 1,5 % .

Cette étude montre donc une amélioration significative de l' oxy - génation des nouveau - nés avec HTAP permettant de diminuer les

besoins d'oxygénation extra - corporelle, grâce à l' inhalation de petites posologies de NO . Ce travail souligne également l' intérêt du NO dans la prise en charge de la hernie diaphragmatique congénitale : en pré - opératoire, il améliore l' oxygénation et en post - opératoire, il atténue l' instabilité des nouveau - nés .

En 1994, FINER ( 49 ) a étudié l' existence d' une relation dose - effet chez 23 nouveau - nés à terme avec un index d' oxygénation supérieur ou égal à 20 . Un tirage au sort était effectué pour administrer le NO pendant une courte période de 15 minutes à la posologie de 5, 10, 20, 40 et 80 ppm de façon aléatoire .

Tous les enfants ont bénéficié d' une échographie cardiaque avant l' entrée dans le protocole . Un monitoring continu de la satO<sub>2</sub>, de la TcPaO<sub>2</sub>, de la tension artérielle, de la fréquence cardiaque et de la température a été effectué pendant toute la durée de l' étude . La méthémoglobinémie a été mesurée toutes les huit heures .

L' efficacité du NO était définie par une augmentation de la PaO<sub>2</sub> de 10 mmHg au moins, au - dessus de la valeur initiale et / ou de la satO<sub>2</sub> de 10 % ou plus, après 15 minutes d' inhalation du NO .

Si l' IO devenait et restait < à 10 après l' arrêt du NO, l' enfant ne recevait pas de nouvelle inhalation .

Si l' enfant présentait une réponse à l' inhalation de NO selon les critères vu précédemment avec un IO compris entre 10 et 20, la concentration de NO alors administrée était diminuée de 5 ppm toutes les 15 minutes . Si la PaO<sub>2</sub> diminuait de 10 mmHg ou +, un retour à la posologie

antérieure était alors effectuée et l' enfant continuait à recevoir la plus petite dose de NO permettant l' amélioration . Si l' IO devenait  $< 10$ , le NO était alors arrêté .

Si l' enfant présentait une réponse à l' inhalation de NO mais que malgré tout l' IO restait  $> 20$ , une nouvelle randomisation était effectuée et une administration de NO à une autre posologie était alors réalisée avec un intervalle de 12 à 24 heures entre les inhalations . L' essai était reconduit au maximum pendant 3 jours .

Si l' enfant présentait une détérioration clinique majeure, il était alors orienté vers une oxygénation par technique extra - corporelle .

Les résultats de cette étude sont les suivants :

- \* 1 enfant a reçu une seule dose de NO à 80 ppm
- \* 5 enfants ont reçu 3 doses
- \* 17 enfants ont reçu 5 doses de NO soit 5, 10, 20, 40 et 80 ppm
- \* 13 enfants ont présenté une réponse à l' administration de NO :  
12 étaient des répondeurs précoces, 1 était répondeur tardif ( il a présenté une réponse significative à l' inhalation de NO après la 5ème dose ) .

Les répondeurs au NO ont nécessité une dose moyenne de 11 ppm

- \* 11 enfants ont bénéficié d' une oxygénation extra - corporelle .

Parmi ces 11 enfants, 7 avaient répondu initialement au NO mais 3 avaient toujours des critères d' ECMO et 4 se sont brutalement dégradés sur le plan clinique .

- \* 2 enfants sont décédés dans le cadre d' un choc septique à strep -

tocoque B .

\* 13 enfants sur 23 avaient des critères échographiques d' HTAP ( insuffisance tricuspide, dilatation ventriculaire droite, shunt droite - gauche ou bidirectionnel à travers le canal artériel ou le foramen ovale ) .

Parmi ces 13 enfants, 11 ont répondu à l' administration de NO .

Pour les 10 enfants ne présentant pas de signes échographiques d' HTAP seulement 3 ont répondu à l' inhalation de NO .

\* les taux de méhémoglobinémie sont toujours restés  $\leq 2\%$  .

Cette étude confirme donc les résultats des études précédentes :

**le NO est efficace chez l' enfant à terme en hypoxémie sévère .**

Parmi les 13 enfants répondeurs, 11 avaient des critères échographiques d' HTAP . Ce qui confirme que **le rôle principal du NO est la vasodilatation pulmonaire spécifique .**

Parmi les 2 enfants répondeurs qui ne présentaient pas d' HTAP, l' augmentation de la PaO<sub>2</sub> après inhalation de NO traduit **une amélioration du rapport ventilation sur perfusion par le NO** ce qui est en accord avec l' étude précédente de Kinsella ( 48 ) .

Parmi les enfants qui ont reçu les 5 différentes doses de NO, il n' y a pas de différence significative dans le changement de la PaO<sub>2</sub> .

**Il n' y a pas de relation effet - dose ce qui permet d' utiliser des posologies plus basses de NO .**

Toujours en 1994, ROZE ( 50 ) a pu émettre les mêmes conclusions que Finner en étudiant l' hémodynamique pulmonaire par échographie doppler pulsé chez 17 nouveau - nés en hypoxémie sévère .

L' âge gestationnel moyen des enfants était de 35 SA [ 27 à 41 SA ] . Le poids de naissance moyen était de 2300 grammes [ 810 à 3690 g ] .

Le critère d' inclusion dans l' étude était un IO > 25 avec une ventilation optimale par techniques conventionnelles ou par oscillations hautes fré - quences . 12 enfants ont reçu au préalable une dose de surfactant .

La PaO<sub>2</sub> était monitorée en permanence par voie transcutanée, une échographie doppler cardiaque était réalisée avant l' inhalation de 20 ppm de NO puis après 1 et 6 heures d' inhalation .

Les enfants ont été répartis en deux groupes :

- 9 enfants présentaient un shunt extra - pulmonaire droite - gauche significatif

- 8 enfants ne présentaient pas de shunt extra - pulmonaire .

Après une heure d' administration de NO, l' IO diminuait de façon statistiquement significative dans le groupe avec shunt extra - pulmonaire (  $p < 0,01$  ) et aussi dans le groupe sans shunt (  $p < 0,01$  ) .

La diminution de l' IO était significativement meilleure dans le groupe avec shunt extra - pulmonaire que dans le groupe sans shunt (  $p < 0,05$  ) .

Dans le groupe avec shunt extra - pulmonaire, l' inhalation de NO diminuait l' IO et augmentait de façon inversement proportionnelle le flux dans l' artère pulmonaire . **On peut donc dire que dans**

**ce groupe l' amélioration de l' oxygénation est liée à la vasodilatation pulmonaire .**

Cette conclusion n' est pas retrouvée dans le groupe sans shunt préalable . Dans ce groupe, l' amélioration de l' oxygénation est moins marquée ; l' augmentation du flux sanguin pulmonaire est faible ou absente .

**Le NO intervient donc en diminuant le shunt intra - pulmonaire, il améliore ainsi le rapport ventilation sur perfusion .**

En 1995, TURBOW ( 47 ) a montré qu' il existe en fait trois types de répondeurs à l' inhalation de NO : les répondeurs rapides, quasiment instantanés, les répondeurs intermédiaires et les répondeurs tardifs .

Il a étudié les effets du NO inhalé chez 13 nouveau - nés à terme eutrophiques dont l' âge gestationnel moyen était de 39 semaines d' aménorrhée [ 36 à 42 SA ] et le poids de naissance moyen de 3304 grammes [ 2512 à 3900 grammes ] .

8 enfants présentaient un syndrome d' inhalation méconiale . Parmi ces 8 enfants, 3 étaient également infectés et 2 avaient présenté une asphyxie aigue .

1 enfant présentait une asphyxie aigue .

4 enfants présentaient une HTAP idiopathique .

Tous ces enfants étaient en HTAP sévère selon des critères :  
- cliniques : histoire périnatale, saturation en oxygène pré et post - ductale, labilité de l' oxygénation .

- échographiques cardiaques : shunt droite - gauche ou bidirectionnel à travers le foramen ovale ou le canal artériel, insuffisance tricuspidiennne .

- gazométriques : index d' oxygénation  $> 35 - 40$ , gradient en oxygène alvéolo - artériel (  $AaDO_2$  )  $> 610$  mmHg .

Le NO a alors été administré à la posologie de 20 ppm pendant 4 à 12 heures puis à 6 ppm durant le reste du traitement .

Un monitoring régulier des gaz du sang et de la tension artérielle a été réalisé tout au long de l' étude . Tout traitement vasodilatateur ( tolazoline, PGE1 ) étaient arrêté avant l' inhalation de NO .

Une réponse positive au NO était définie comme une diminution de  $AaDO_2$  d' au moins 20 % et de l' IO d' au moins 40 % .

Le NO était arrêté si l' enfant se dégradait brutalement (  $PaO_2 < 50$  torr ) à deux prélèvements à 30 minutes d' intervalle ou s' il n' y avait pas de maintien de l' amélioration de l' oxygénation après 12 heures de NO .

Cette étude a permis de distinguer 3 catégories de répondeurs :

- les répondeurs rapides :

l' amélioration de l' oxygénation est survenue selon les critères vus précédemment dans les 30 minutes après le début de l' inhalation de NO . Ces nouveau - nés sont au nombre de 6 ; 4 présentaient une inhalation méconiale, 1 une HTAP idiopathique et 1 une asphyxie aigue .

- les répondeurs intermédiaires pour lesquels une réponse positive est survenue dans les 8 heures qui a suivi le début de l' inhalation . Ils



sont 3 ; 2 présentaient une HTAP idiopathique et 1 une inhalation méconiale .

- les répondeurs tardifs : la réponse au NO est survenue dans les 12 heures qui ont suivi l' inhalation . Ils sont 3 : 2 inhalations méconiales associées à un état infectieux et une HTAP idiopathique .

Un enfant a été classé comme non répondeur . Il est décédé après 12 heures d' inhalation de NO dans le cadre d' un choc septique à bacilles gram négatif .

**Il semble donc que l' efficacité du NO peut varier en fonction de l' étiologie de l' HTAP .**

L' effet vasodilatateur pulmonaire du NO semble émoussé par l' infection . Les symptômes du choc septique sont liés à une production endogène du NO ( 51 ) . Un traitement par NO inhalé semble donc contradictoire dans une telle pathologie .

Dans l' inhalation méconiale, les réponses au NOi surviennent de façon immédiate, intermédiaire ou retardée . Ceci est en relation avec la physiopathologie de l' inhalation méconiale . En effet, cette pathologie associe de façon variée :

- une obstruction trachéobronchique
- des bouchons bronchiques distaux responsables de surdistension pulmonaires voire d' épanchements gazeux intra - thoraciques avec des rapports ventilation sur perfusion très hétérogènes
- une inhibition du surfactant par le méconium

- une HTAP par remodelage vasculaire anténatal dans certaines étiologies . Cette dernière composante est directement accessible au NO inhalé . Ainsi, selon l' importance respective de ces différentes perturbations physiopathologiques le NO sera plus ou moins efficace .

Les enfants présentant une réponse retardée ou intermédiaire au NO sont des enfants qui présentent une pathologie nécessitant une thérapie multifactorielle . Par ce fait, les enfants qui ne montrent pas d' amélioration au delà de 12 heures d' inhalation de NO doivent être considérés comme non répondeurs . Par contre il faut parfois attendre au moins 30 minutes d' inhalation de NO pour voir apparaître l' efficacité du traitement .

En 1996, GOLDMAN ( 52 ) publiait une étude dans laquelle il a pu mettre en évidence 4 modèles de réponses à l' inhalation de NO dans le cadre de l' HTAP du nouveau - né . Il a étudié 25 enfants d' âge gestationnel supérieur à 35 semaines d' aménorrhée . Tous ces enfants étaient en HTAP confirmée par une échographie cardiaque selon les critères habituels : shunt droite - gauche ou bidirectionnel à travers le canal artériel ou le foramen ovale, insuffisance tricuspidiennne .

Ces enfants étaient en ventilation conventionnelle ou ventilés par oscillations hautes fréquences . Ils recevaient initialement 20 ppm de NO pendant 20 minutes . La réponse à l' inhalation de NO était considérée comme positive si la PaO<sub>2</sub> post - ductale augmentait d' au moins 20 % et si l' index

d'oxygénation diminuait en dessous de 40 . Le NO était alors poursuivi à la même posologie pendant 6 heures . Une diminution de 1 à 2 ppm toutes les 15 à 30 minutes était ensuite réalisée jusqu' à l' obtention d' une stabilité des paramètres ventilatoires . La plus petite dose de NO nécessaire pour maintenir la saturation en oxygène post - ductale entre 88 et 95 % était alors déterminée .

Si aucune réponse n' était observée après l' administration de 20 ppm de NO ou si la réponse observée était insuffisante selon les critères exposés précédemment, l' enfant recevait alors 70 ppm de NO pendant 10 minutes .

Un monitoring continu de la PaO<sub>2</sub> post - ductale, de la saturation en oxygène post - ductale et de la tension artérielle était effectué durant toute l' étude . La méthémoglobinémie était mesurée après 30 minutes et après 3 heures d' exposition au NO . Elle était ensuite mesurée toutes les 12 à 24 heures .

23 enfants sur 25 ont répondu à l' inhalation de NO :

- augmentation significative de la PaO<sub>2</sub> post - ductale sous une FiO<sub>2</sub> de 100 %

( de 33 + / - 3,4 mmHg avant NO à 93 + / - 8,2 mmHg après NO ;  $p < 0,0001$  )

- amélioration significative de l' index d' oxygénation

( de 86 + / - 16,6 avant l' inhalation de NO à 21 + / - 1,7 après inhalation ;  $p < 0,001$  )

- pH à 7,25 + / - 0,04 avant NO et à 7,32 + / - 0,3 après NO ;  $p < 0,05$  .

Aucune modification significative de la tension artérielle n' a été observée au cours de l' étude . Il n' y a pas de corrélation entre l' amélioration de la PaO<sub>2</sub> et l' âge gestationnel ou l' âge au début du traitement .

\* modèle 1 :

**Ce sont les non répondeurs .**

2 enfants n' ont pas du tout répondu à l' inhalation de 20 ppm de NO . Ils n' ont pas non plus répondu à 70 ppm . Un des deux enfants est décédé . L' examen anatomopathologique des poumons a objectivé des lésions de dysplasie broncho-pulmonaire sévère . Le deuxième enfant était en état de choc hypovolémique . Il a bénéficié d' une oxygénation extra - corporelle .

\* modèle 2 :

**Les enfants répondent initialement de façon positive à l' inhalation de NO mais cette réponse n' est pas maintenue au - delà de 36 heures avec une réaugmentation de l' IO .**

Ce groupe comporte 9 enfants :

- 2 hypoplasies pulmonaires dans le cadre d' une hernie diaphragmatique congénitale, 1 hypoplasie pulmonaire liée à une valve de l' urètre postérieur avec oligoamnios et hydronéphrose bilatérale de diagnostic anténatal .
- 4 HTAP idiopathiques avec hypoxémie réfractaire . ( 2 enfants ont finalement dû bénéficier d' une oxygénation extra - corporelle ) .
- 2 septicémies à streptocoque B .

\* modèle 3 :

**Les enfants répondent positivement à l' inhalation de NO .**

**La réponse reste positive durant toute l' administration du gaz .**

Les effets du NO sont maintenus après 5 jours d' arrêt .

11 enfants entrent dans ce modèle :

- 3 inhalations méconiales
- 1 hernie diaphragmatique congénitale
- 2 HTAP idiopathiques
- 3 syndromes de détresse respiratoire aigue d' étiologie non précisée par l' auteur
- 1 sepsis
- 1 omphalocèle .

\* modèle 4 :

**Les enfants restent dépendants du NO .** 3 nouveau - nés sont concernés . Un enfant a reçu jusqu' à 50 ppm de NO durant la première semaine d' administration du gaz . Les deux autres enfants ont reçu jusqu' à 40 ppm . Ces enfants ont d' emblée un IO > à 40 .

Ces trois enfants sont tous décédés . Ils ont bénéficié d' un traitement par NO pendant 3 à 6 semaines . L' étude anatomopathologique des poumons retrouve dans les trois cas des lésions pulmonaires sévères et fixées d' HTAP . Aucune autre anomalie n' a été retrouvée .

Le taux de méthémoglobémie s' est élevé pour un cas à 22 % . L' enfant recevait alors 70 ppm de NO . Le taux a diminué en - dessous de 4 % en moins de deux heures après l' administration intraveineuse de

bleu de méthylène et la diminution de la posologie de NO administré .

Cette étude confirme les résultats des études précédentes : **le NO inhalé améliore significativement l' oxygénation des enfants en HTAP .**

**Les effets bénéfiques de l' inhalation de NO peuvent ne pas être maintenus malgré le maintien de l' administration du gaz .**

**Les enfants avec hypoplasie pulmonaire et dysplasie broncho-pulmonaire ont une sensibilité diminuée au NO .**

Cette étude permet également d' identifier des enfants porteurs d' une HTAP sévère associée à un développement anormal du poumon et une non réponse à l' inhalation de NO . Ces enfants ont d' emblée un index d' oxygénation supérieur à 40 et requièrent des posologies élevées de NO pour observer une amélioration clinique qui reste discrète .

En 1997, SKIMMING ( 53 ) a publié pour la première fois une étude prospective réalisée chez 23 prématurés . L' âge gestationnel de ces nouveau - nés était en moyenne de 28 +/- 0,6 semaines d' aménorrhée . Le poids de naissance moyen était de 1176 +/- 130 grammes . Tous les enfants inclus dans l' étude étaient ventilés de façon conventionnelle avec une FiO<sub>2</sub> > à 50 % . Ils avaient tous reçu une dose de surfactant dans les deux heures qui ont précédé l' inhalation de NO .

Les enfants étaient randomisés en deux groupes . Le premier groupe a reçu 5 ppm de NO, le deuxième groupe 20 ppm de NO . L' administration a eu lieu par période de 15 minutes . Toutes les 15 minutes, une évaluation

de la PaO<sub>2</sub> par prélèvement sanguin, de la TcPO<sub>2</sub> et de la SatO<sub>2</sub> a été effectuée .

Dans les deux groupes le NO a augmenté significativement la PaO<sub>2</sub>, la SatO<sub>2</sub> et la TcPO<sub>2</sub> ( p < 0,01 ) .

**Cette étude a permis de démontrer que les nouveau - nés prématurés avaient la capacité de répondre à l' administration de NO inhalé .**

Ainsi, les études cliniques de phase II, présentées de façon synthétique dans les tableaux 2 et 3 permettent d' aboutir aux conclusions suivantes :

- le NO améliore cliniquement l' oxygénation des nouveau -nés en hypoxémie réfractaire et diminue les besoins en ECMO .
- le NO améliore le rapport ventilation sur perfusion .
- l' efficacité du NO est variable selon l' étiologie causale .
- les effets bénéfiques de l' inhalation de NO peuvent ne pas être maintenus .

TABLEAU 2 :

ETUDES CLINIQUES DE PHASE II : PROTOCOLES

Etude	Population étudiée	Mode d' utilisation du NO	Critères d' évaluation
Roberts ( 4 )	6 nouveau - nés à terme en hypoxémie réfractaire	80 ppm pendant 30 mn	PaO <sub>2</sub> post - ductale SatO <sub>2</sub> pré et post - ductale
Kinsella ( 5 )	9 nouveau - nés à terme candidats à l' ECMO ( IO > 40 )	10 ppm pendant 15 mn puis 20 ppm pendant 15 mn	gaz du sang post - ductal échographie cardiaque
Kinsella ( 48 )	9 nouveau - nés à terme candidats à l' ECMO : 3 IM, 3 IMF, 2HDC, 1 hypoxie anténatale par rupture utérine	20 ppm pendant 4 heures puis 6 ppm pendant 20 heures	PaO <sub>2</sub> , IO échographie cardiaque
Finer ( 49 )	23 nouveau - nés à terme IO > 20	randomisation pour 15 minutes de NO à la posologie de 5, 10, 20 , 40 ou 80 ppm	PaO <sub>2</sub> , SatO <sub>2</sub> , IO relation dose / effet
Rozé ( 50 )	17 nouveau - nés d' âge gestationnel moyen de 35 SA, IO > 25	20 ppm de NO	PaO <sub>2</sub> , IO hémodynamique pulmo - naire par écho Doppler à 1 et 6 H d' inhalation



ETUDES CLINIQUES DE PHASE II : PROTOCOLES ( SUITE )

<b>Etude</b>	<b>Population étudiée</b>	<b>Mode d' utilisation du NO</b>	<b>Critères d' évaluation</b>
Turbow ( 47 )	13 nouveau -nés à terme, IO >35 - 40, 8 IM dont 3 IMF, 4 HTAP idiopathique, 1 asphyxie aigue	20 ppm pendant 4 à 12 heures puis 6 ppm jusqu' au sevrage	IO et gradient en oxygène alvéolo - artériel
Goldman ( 52 )	25 nouveau - nés à terme, HTAP confirmée par l' échographie cardiaque	20 ppm pendant 20 mn puis pendant 6 heures si réponse sinon 70 ppm pendant 10 mn	PaO2 post ductale et IO
Skimming (53 )	23 prématurés d' AG de 28 + 0,6 SA	5 ou 20 ppm selon randomisation pendant 15 minutes	PaO2, TcPO2,

TABLEAU 3 :  
ETUDES CLINIQUES DE PHASE II : RESULTATS

<b>Etude</b>	<b>Résultats</b>	<b>Commentaires</b>
Roberts( 4 )	augmentation de la satO <sub>2</sub> préductale et de la PaO <sub>2</sub> post - ductale ( p < 0,05 )	amélioration clinique liée à une amélioration du rapport ventilation / perfusion
Kinsella ( 5 )	diminution de l' IO de 60 % après 30 minutes d' exposition 6 enfants sur 9 : pas d' ECMO	amélioration clinique et diminution des besoins d' ECMO
Kinsella ( 48 )	amélioration de l' oxygénation de 60 % à 4 heures 8 enfants sur 9 : pas d'ECMO	amélioration clinique et diminution des besoins d' ECMO
Finer ( 49 )	pas de différence doses / effets . 12 enfants sur 23 pas besoin d' ECMO	pas d' augmentation de l' efficacité si augmentation des doses . Diminution des besoins d' ECMO .
Rozé ( 50 )	amélioration très marquée de l' hémodynamique pulmonaire quand il existe un shunt extra - pulmonaire	amélioration de l' oxygénation en augmentant le débit pulmonaire si shunt extra - pulmonaire et en améliorant le rapport ventilation sur perfusion si pas de shunt extra - pulmonaire .

ETUDES CLINIQUES DE PHASE II : RESULTATS ( SUITE )

<b>Etude</b>	<b>Résultats</b>	<b>Commentaires</b>
Turbow ( 47 )	variabilité : 3 types de répondeurs : rapides, intermédiaires, lents	efficacité variable selon l' étiologie causale
Goldman ( 52 )	4 modèles de réponse : non répondeurs, répondeurs rapides et définitifs, répondeurs rapides mais transitoires, dépendants au NO	effets bénéfiques de l' inhalation de NO peuvent ne pas être maintenus hypoplasie et dysplasie diminuent la sensibilité au NO
Skimming ( 53 )	augmentation de l' oxygénation, pas d' effet / dose	efficacité sur l' oxygénation qu' en est - il des effets secondaires ?

IM : inhalation méconiale, IMF : infection materno - fœtale, HDC : hernie diaphragmatique congénitale, SA : semaines d' aménorrhée, AG : âge gestationnel, IO : index d' oxygénation

## 2 ) ESSAIS CLINIQUES DE PHASE III :

Le premier essai randomisé est celui de ROBERTS en 1997 ( 54 ) qui a comparé l' oxygénation et les indications d' ECMO chez 30 nouveau - nés à terme en hypoxémie sévère bénéficiant de NO à 28 témoins comparables .

Ces enfants bénéficiaient d' une ventilation mécanique conventionnelle avec une FiO<sub>2</sub> de 100 % . Ils avaient tous une HTAP confirmée par l' échographie cardiaque .

Ces 58 enfants ont été randomisés en deux groupes . Il n' y avait pas de différence statistiquement significative entre ces deux groupes pour l' âge gestationnel ( > à 37 SA ), le poids de naissance ( > à 2500 grammes ), le score d' Apgar et les pathologies associées à l' HTAP ( inhalation méconiale, infection materno - foétale ou pneumothorax drainé ) .

Le premier groupe comportait 30 enfants qui ont reçu du monoxyde d' azote à la posologie initiale de 80 ppm pendant 20 minutes .

Le deuxième groupe comportait 28 enfants " témoins " qui n' ont reçu que de l' oxygène .

Une réponse positive à l' inhalation de gaz était définie par :

- \* une augmentation de la PaO<sub>2</sub> au - dessus de 55 mmHg
- \* une diminution de l' index d' oxygénation en - dessous de 40
- \* un maintien de la tension artérielle systémique moyenne au - dessus de 40 mmHg .

Si aucune réponse n' était observée après 20 minutes d' étude, d' autres thérapeutiques telles que l' ECMO étaient proposées pour améliorer l' oxygénation de l' enfant .

Si la réponse était positive, une diminution progressive des gaz apportés était alors réalisée par palliers de 10 ppm pour le NO et de 10 % pour la FiO<sub>2</sub> jusqu' à stabilisation des constantes ventilatoires et de l' oxygénation . Si la PaO<sub>2</sub> diminuait de 15 % par rapport à la valeur de base ou devenait inférieure à 55 mmHg dans les dix minutes qui suivaient le changement de posologie de NO ou d' oxygène, un retour à la concentration précédente était alors réalisée .

L' inhalation de NO a permis d' augmenter l' oxygénation pour 16 enfants sur 30 . Dans le groupe témoin, l' oxygénation n' a été augmentée que pour 2 enfants sur 28 .

Le monoxyde d' azote a entraîné une augmentation significative de la PaO<sub>2</sub> post - ductale moyenne ( de 41 + / - 9 mmHg à 89 + / - 7 mmHg ;  $p < 0,001$  ) .

Il a également permis une diminution significative de l' index d' oxygénation ( de 43 + / - 17 à 27 + / - 14 ;  $p < 0,001$  ) .

Dans le groupe témoin il n' y a pas eu d' augmentation significative de la PaO<sub>2</sub> ni de diminution significative de l' index d' oxygénation .

L' amélioration clinique obtenue par l' inhalation de NO a été maintenue au long court pour 12 enfants sur 16 . Pour les 4 autres enfants, l' oxygénation a diminué dans les 12 heures qui ont suivi le début du traitement par NO . Ces 4 enfants ont tous bénéficié de l' ECMO .

Les besoins en ECMO ont été moins importants dans le groupe avec NO ( 12 / 30 ) par rapport au groupe sans NO ( 20 / 28 ) .

**Cette étude retrouve donc une amélioration significative de l' oxygénation grâce à l' inhalation de NO : 53 % contre 7 % pour les témoins, ainsi qu' une baisse significative des indications d' ECMO de 40 % contre 71 % pour les témoins .**

Ces résultats sont confirmés par l' essai multicentrique nord américain NINOS : Neonatal Inhaled Nitric Oxide Study ( 55 ) dont l' objectif était de démontrer que l' introduction plus précoce de NO inhalé peut réduire le nombre de décès et / ou d' enfants traités par ECMO .

Cet essai a porté sur 235 nouveau - nés d' âge gestationnel supérieur ou égal à 34 semaines d' aménorrhée, avec détresse respiratoire, hypoxiques, randomisés en aveugle entre gaz -témoin ( O<sub>2</sub> ) et O<sub>2</sub> + NO . 71 % d' entre eux ont reçu du surfactant et 55 % étaient ventilés en OHF . Le groupe des témoins comportait 121 enfants ; celui du groupe étude : 114 enfants recevant du NO . Il n' y avait pas de différence significative entre ces deux groupes pour l' âge gestationnel, le poids de naissance, le sexe, la race, le score d' Apgar, les pathologies associées à l' HTAP, l' âge d' entrée dans l' étude et l' index d' oxygénation ( témoins : 45,1 + / - 22,4 ; NO : 43 + / - 17,6 ) .

Le NO a été administré à la posologie de 20 ppm pendant 30 minutes . La réponse était considérée comme positive si la PaO<sub>2</sub> augmentait de plus de 20 mmHg et le traitement était alors poursuivi à

la même posologie .

La réponse était considérée comme partielle si la PaO<sub>2</sub> augmentait de 10 à 20 mmHg . Elle était négative si la PaO<sub>2</sub> augmentait de moins de 10 mmHg . Dans ces deux derniers cas, le traitement était arrêté pendant 15 minutes . Le NO était ensuite repris à 80 ppm pendant 30 minutes .

Si la réponse était alors positive selon les critères définis précédemment, le traitement était continué à la même posologie .

Si la réponse était partielle, le traitement était poursuivi avec la plus petite posologie produisant la meilleure amélioration .

Enfin, si la réponse était négative l' inhalation de NO était arrêtée .

Dans tous les cas, l' étude était stoppée si la saturation en oxygène diminuait de plus de 10 % .

Chaque enfant a bénéficié d' une échographie transfontanellaire avant randomisation et 24 heures après l' arrêt de l' étude .

Une échographie cardiaque était réalisée chez chaque enfant au début de l' étude .

Un dosage de la méthémoglobinémie était effectué 1, 3, 6 et 12 heures après le début de l' inhalation de NO puis toutes les 12 heures .

Le NO était arrêté si la méthémoglobinémie était supérieure à 10 % . Les posologies de NO étaient réduites si le taux de méthémoglobinémie était compris entre 5 et 10 % .

Le critère de jugement principal combinait décès et ECMO . Il était significativement différent entre les deux groupes : 64 % pour le groupe témoin et 46 % pour le groupe NO (  $p = 0,006$  ) .

Par contre le pourcentage de décès n'a pas été différent entre les deux groupes ( 16 % versus 14 % ) ; la différence observée ne porte donc que sur le nombre d' ECMO jugée nécessaire ( 55 % versus 39 % ;  $p < 0,014$  ) . En outre il n'a pas été observé de différence significative entre les deux groupes quant à la durée de ventilation (  $12 + / - 13$  versus  $12 + / - 7$  jours ), la durée d' hospitalisation et le nombre de dysplasie broncho - pulmonaire ( 12 % versus 15 % ) .

L' étude n' a dû être arrêtée pour aucun enfant relativement à des effets toxiques du NO . Le taux de dioxyde d' azote moyen était de  $0,8 + / - 1,2$  ppm et le taux moyen de méthémoglobinémie était de  $2,4 + / - 1,8$  % .

Il n' y a pas eu de différence significative dans les deux groupes quant à la sévérité des hémorragies intracrâniennes, l' apparition de leucomalacie périventriculaire, de crise convulsive ou d' hémorragie pulmonaire ou gastro - intestinale .

**Aussi pourrait - on dire que le NOi s' est substitué à l' ECMO ... mais il ne changerait ni la mortalité ni la morbidité des détresses respiratoires sévères ( 13 ) .**

En 1997, KINSELLA ( 56 ) a publié les résultats d' un essai multicentrique qui a permis de comparer deux stratégies thérapeutiques d' efficacité reconnue dans le traitement des détresses respiratoires néonatales sévères : ventilation mécanique + NOi versus OHF ( oscillations hautes



fréquences ) .

8 centres ont participé à cet essai coordonné par le *Children ' s Hospital de Denver* .

205 nouveau - nés ont été inclus dans l' étude . Leur âge gestationnel était supérieur ou égal à 34 semaines d' aménorrhée . Ils étaient tous en hypoxémie sévère caractérisée par un index d' oxygénation supérieur à 40 . Ils avaient tous des critères échographiques d' HTAP .

Les pathologies de ces 205 enfants étaient réparties en 70 maladies des membranes hyalines, 58 inhalations méconiales, 34 hernies diaphragmatiques congénitales et 43 " autres diagnostics " associant l' hypertension artérielle pulmonaire idiopathique et l' hypoplasie pulmonaire en dehors du contexte de hernie diaphragmatique congénitale .

Une randomisation a été effectuée . 98 enfants ont bénéficié d' une ventilation par oscillations hautes fréquences . 107 enfants ont reçu du monoxyde d' azote en association avec une ventilation mécanique conventionnelle . Le NO a été administré à la posologie de 20 ppm pendant 4 heures puis de 6 ppm .

Il n' y avait pas de différence statistiquement significative entre les deux groupes d' enfants quant à l' âge gestationnel, le sexe, la race, l' index d' oxygénation initial, l' administration de surfactant avant l' étude et l' existence d' un état infectieux .

En cas de non - réponse, un cross - over était proposé . En cas de non réponse au cross - over, les 2 techniques étaient associées .

Les résultats de l' étude sont exposés ci - joint . La réponse à la

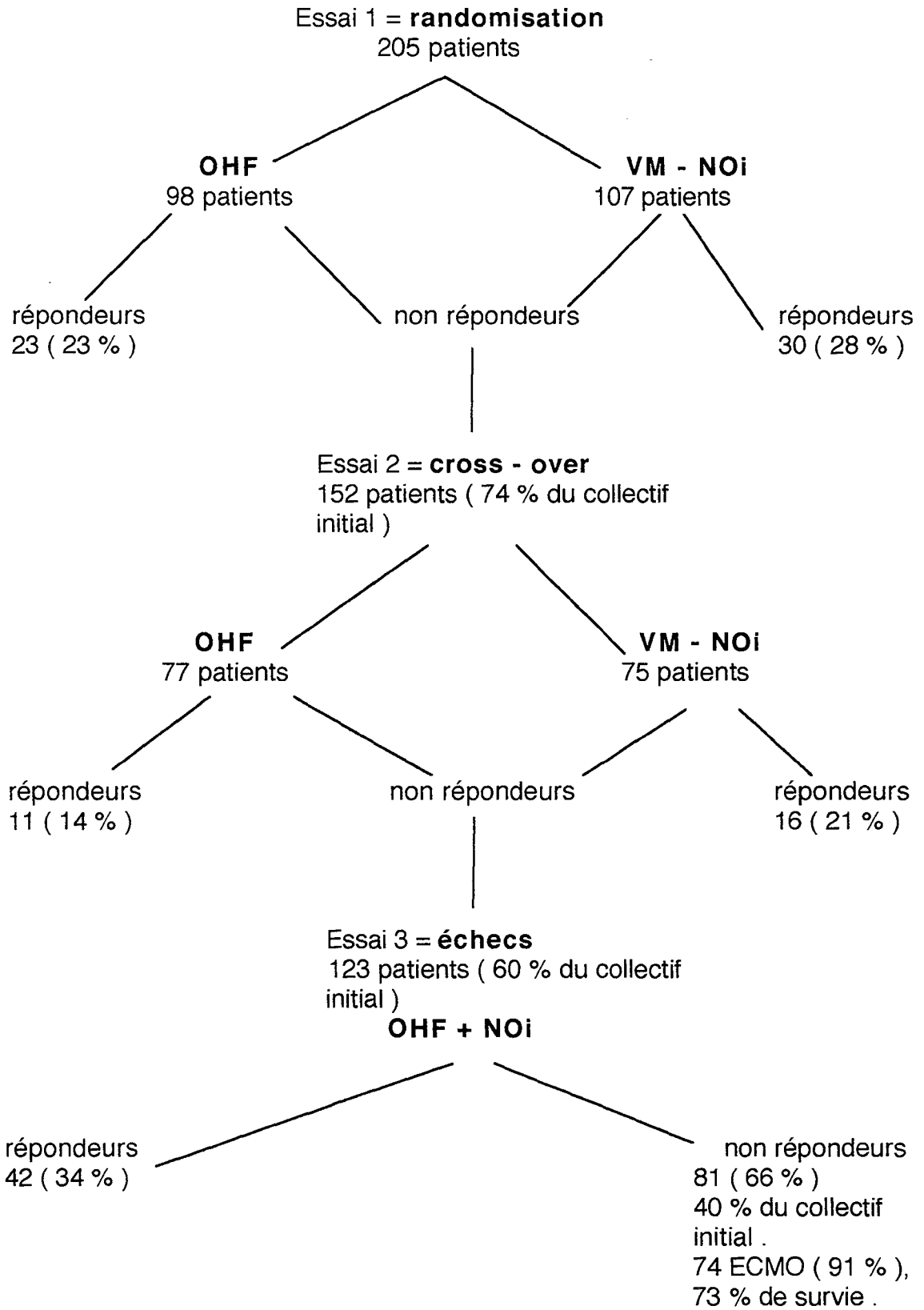
stratégie thérapeutique utilisée a été considérée comme positive lorsque la PaO<sub>2</sub> est devenue et est restée supérieure à 60 mmHg .

La réponse aux trois stratégies thérapeutiques proposées ( VM - NOi, OHF, OHF - NOi ) a dépendu de la pathologie sous jacente . En effet, l' amélioration de l' oxygénation sous OHF + NOi a été significativement meilleure dans le groupe " maladies des membranes hyalines " et dans le groupe " inhalation méconiale " par rapport à OHF seule ou NOi seul (  $p < 0,05$  ) .

Le pourcentage de réponses positives a été significativement meilleur dans le groupe " HTAP idiopathique et hypoplasie pulmonaire sans hernie diaphragmatique congénitale associée " avec le NOi seul ou associé à l' OHF versus l' OHF seule (  $p < 0,05$  ) .

OHF seul, NOi seul et OHF + NOi ont tous trois des résultats moyens sur l' oxygénation dans le cadre de la hernie diaphragmatique congénitale .

**Ainsi, la stratégie OHF + NOi apparaît régulièrement plus efficace que l' OHF seule ou la ventilation mécanique associée à l' inhalation de NO . Par ailleurs, la régression de l' HTAP et l' amélioration de l' oxygénation semblent dépendre de la pathologie sous - jacente et donc essentiellement du mécanisme physiopathologique .**



Ces résultats sont en accord avec les conclusions de la première étude française ( 46 ) à laquelle le centre nancéien a participé .

L' objectif de cette étude était de déterminer si l' introduction précoce du NOi, en plus d' une thérapeutique conventionnelle optimisée comprenant l' administration de surfactant exogène en cas de maladie des membranes hyalines, et une ventilation mécanique ou en OHF chez des nouveau - nés en hypoxémie réfractaire ( OI > 30 pour les nouveau - nés de moins de 32 SA, OI > 35 pour les nouveau - nés d' âge gestationnel compris entre 32 et 34 SA, OI > 40 pour ceux supérieur à 34 SA ) permettait d' éviter le décès ou un recours à l' ECMO .

Entre avril 1993 et décembre 1994, 150 nouveau - nés dont 29 prématurés avec hypoxémie réfractaire ont été traités par 20 ppm de NOi dans 16 centres français .

Les résultats principaux de cette étude sont les suivants :

- \* les prématurés ont bien répondu au NOi .
- \* la réponse au NOi a dépendu de la pathologie sous - jacente .

Après 30 minutes d' inhalation de NO, l' index d' oxygénation a significativement diminué (  $p < 0,0001$  ) chez les nouveau - nés avec syndrome de détresse respiratoire aigue, HTAP idiopathique, et sepsis .

L' amélioration de l' oxygénation était moins importante chez les nouveau - nés avec inhalation méconiale (  $p < 0,001$  ) et surtout avec hernie diaphragmatique congénitale (  $p < 0,01$  ) ;

dans ce cas, l' IO est resté supérieur à 40 .

\* la survie après NOi a été significativement associée à un âge gestationnel élevé, un index d' oxygénation à 30 minutes de traitement d' autant plus faible, un diagnostic associé autre que celui de hernie diaphragmatique congénitale .

En 1999, Kinsella ( 57 ) publiait une étude en double aveugle, randomisée, contrôlée et multicentrique étudiant les effets du NOi chez 80 nouveau - nés prématurés en hypoxémie sévère . Cette étude concernait 12 centres de néonatalogie .

Les critères d' inclusion étaient les suivants :

- AG  $\leq$  34 SA, la randomisation était stratifiée par groupe d' âge gestationnel en "  $\leq$  28 SA " et "  $>$  28 SA "
- enfants âgés de moins de 7 jours
- enfants en hypoxémie sévère caractérisée par un gradient artério - alvéolaire en oxygène  $<$  0,10 malgré une prise en charge optimale .

Les critères d' exclusion étaient les suivants :

- malformation congénitale
- cardiopathie congénitale à l' exception d' une communication inter - ventriculaire ou d' une communication inter - auriculaire .

Le critère d' évaluation principale était la survie sans séquelle .

Les auteurs étudiaient également le pourcentage et la sévérité

des hémorragies intra - ventriculaires et intra - pulmonaires ainsi que la durée de ventilation assistée et le pourcentage de dysplasie broncho - pulmonaire à 36 semaines d' âge corrigé .

48 enfants ont été inclus dans le groupe NO et ont reçu 5 ppm de NO pendant 7 jours . Une tentative de sevrage était ensuite réalisée . Si l' IO augmentait de 15 % ou plus, le NO était repris . Un sevrage était tenté tous les deux jours . Le NO était alors poursuivi au maximum pendant 14 jours .

32 enfants ont été inclus dans le groupe témoin .

Les deux groupes ne présentait pas de différence statistiquement significative pour l' administraton de corticoïdes en anténatal, la ventilation par oscillations hautes fréquences, l' origine raciale ou l' administration de corticoïdes en post - natal .

Les résultats de l' étude sont les suivants :

- le NO améliore de façon statistiquement significative la PaO<sub>2</sub> après 60 minutes d' inhalation par rapport au groupe témoin (  $p = 0,03$  ),
- la durée de ventilation assistée est statistiquement plus basse dans le groupe NO par rapport au groupe témoin (  $p = 0,046$  ),
- il n' y a pas de différence significative entre les deux groupes pour la survie sans séquelle, la dysplasie broncho - pulmonaire, l' incidence des hémorragies pulmonaires ou intra - craniennes .

Toujours en 1999, un groupe franco - belge ( 58 ) évaluait l' utilisation du NOi chez les enfants nés prématurément et les nouveau - nés à

terme . 26 centre français et 7 centres belges ont participé à cette étude qui concernait tous les nouveau - nés de moins de 7 jours en hypoxémie sévère .

Une randomisation stratifiée par âge gestationnel ( < 33 SA ou  $\geq$  33 SA ), type de pathologie ( maladie des membranes hyalines, HTAP idiopathique ou infection materno - fœtale ) et type de ventilation assistée ( ventilation conventionnelle ou OHF ) était réalisée .

Les critères d' inclusion étaient les suivants :

- IO compris entre 12,5 et 30 pour les nouveau - nés d' AG < 33 SA,
- IO compris entre 15 et 40 pour les nouveau - nés d' AG  $\geq$  33 SA .

Les critères d' exclusion étaient les suivants :

- hypoxémie réfractaire
- malformation congénitale
- cardiopathie congénitale
- persistance du canal artériel avec shunt droite - gauche marqué et augmentation du débit sanguin pulmonaire
- hernie diaphragmatique congénitale ou autres formes d' hypoplasie pulmonaire
- choc septique
- hémorragie intra - ventriculaire de grade 3 ou 4
- souffrance neurologique liée à une anoxie anténatale marquée .

L' étude a porté sur 192 enfants . 95 ont été inclus dans le groupe NO et 97 dans le groupe témoin .

Les gaz du sang et les paramètres ventilatoires étaient notés

initialement puis 30 minutes, 1 heure, 2, 6, 12 et 24 heures après le début de l' étude .

Le critère principal d' évaluation était l' index d' oxygénation à H2 .

Les critères secondaires étaient les suivants :

- nombre de jours de ventilation assistée et d' oxygénothérapie
- durée d' hospitalisation
- hémorragie intra- ventriculaire
- leucomalacie
- décès .

Le NO était administré pendant les deux premières heures à la posologie de 10 ppm puis :

- si la réponse était positive ( diminution de l' IO ), le NO était diminué à 5 ppm et un sevrage progressif était alors réalisé,
- si la réponse était négative ( augmentation de l' IO ), le NO était augmenté à 20 ppm .

Les résultats sont les suivants :

- l' amélioration de l' oxygénation est meilleure chez les enfants qui ont reçu du NO . Mais la différence avec le groupe témoin n' est statistiquement significative que dans le groupe d' enfants d' AG  $\geq$  33 SA (  $p = 0,03$  ),
- le NO diminue la durée de ventilation assistée et d' hospitalisation en Unité de Soins Intensifs . Mais la différence avec le groupe témoin n' est statistiquement significative que pour les enfants d' AG  $\geq$  33 SA (  $p = 0,05$  et  $p = 0,02$  respectivement ) .



- il n' y a pas de différence statistiquement significative entre les deux groupes en ce qui concerne la survenue d' hémorragie intra - ventriculaire, de leucomalacie ou de décès .

D' une manière générale, l' administration précoce de petites doses de NOi dans la prise en charge de la détresse respiratoire néonatale améliore l' oxygénation et raccourcit la durée d' hospitalisation en Unité de Soins Intensifs . Mais le NOi n' apporte pas de bénéfices significatifs dans la prise en charge des prématurés .

En 2000, HOEHN publiait une méta - analyse concernant l' adminis - tration du NOi chez les prématurés ( 59 ) . Il reprenait, entre autre, les études de Kinsella ( 57 ) et du groupe franco - belge ( 58 ) développées précédemment . Il aboutissait aux conclusions déjà évoquées :

- le NOi améliore l' oxygénation des prématurés en hypoxémie sévère,
- le NOi ne modifie pas la survie de cette population .

Ainsi, les études cliniques de phase III présentées de façon synthétique dans les tableaux 4 et 5 permettent d' aboutir aux conclusions suivantes :

- le NO améliore significativement l' oxygénation par rapport aux témoins,
- le traitement NOi + OHF est plus efficace que l' un ou l' autre,
- le NOi n' intervient pas sur la survie, la dysplasie broncho - pulmonaire ou l' incidence des hémorragies intra - ventriculaires et

pulmonaires .

- par contre, deux études s'opposent quant au bénéfice apporté par l'inhalation de NO chez les prématurés, d'où l'intérêt d'effectuer des études supplémentaires afin d'établir le rôle du NOi dans la prise en charge des détresses respiratoires chez le nouveau - né prématuré .

TABLEAU 4 :

ETUDES CLINIQUES DE PHASE III : PROTOCOLES

Etude	Population étudiée	Mode d' utilisation	Critères d' évaluation
Roberts ( 54 )	30 nouveau - nés à terme IO = 46 28 témoins nés à terme IO = 43	80 ppm versus 100% O2 pendant 20 minutes puis diminution à 10 ppm 2 fois / jour	PaO2 > 55 mmHg et IO < 40 ECMO si pas de réponse après 20 mn .
NINOS ( 55 )	114 ( IO = 43 ) versus 121 témoins ( IO = 45 ) AG > 34 SA HTAP confirmée à l' échocardiographie Doppler	20 ppm versus 100 % O2 pendant 30 mn puis augmentation à 80 ppm si échec ou sevrage sur 7 jours au plus .	décès ou ECMO augmentation PaO2 de plus de 20 mmHg par rapport à PaO2 initiale
Kinsella ( 56 )	205 enfants d' AG > 34 SA randomisation selon pathologie 107 NOi + VC 98 OHF seule HTAP confirmée à l' échocardiographie Doppler	20 ppm pendant 4 heures puis 6 ppm jusqu' au sevrage cross - over	PaO2 qui augmente au - delà de 60 mmHg effet versus OHF effet selon pathologie causale
Etude Française ( 46 )	150 nouveau - nés ( 29 préma - turés, 121 nouveau - nés à terme ) en hypo - xémie réfractaire	10 ppm versus 100 % O2	diminution significative IO après 2 H VC + NOi ver - sus OHF, VC + NOi ver - sus OHF + NOi

ETUDES CLINIQUES DE PHASE III : PROTOCOLES ( SUITE )

Etude	Population étudiée	Mode d' utilisation	Critères d' évaluation
Kinsella ( 57 )	80 nouveau -nés < 34 SA répartis en ≤ 28 SA et > 28 SA hypoxémie sévère, gradient artério - alvéolaire < 0,10	5 ppm de NO pendant 7 jours minimum et 14 jours maximum versus témoin ( prise en charge optimale sans NO )	IO survie sans séquelle
Groupe franco- belge ( 58 )	192 nouveau - nés randomisation stratifiée : AG < 33 SA, AG ≥ 33 SA, type de pathologie, type de ventilation Hypoxémie sévère : IO entre 12,5 et 30 pour AG < 33 SA IO entre 15 et 40 pour AG ≥ 33 SA	10 ppm pendant 2 H augmentation à 20 ppm si pas de réponse ou diminution à 5 ppm si réponse +	IO à H2 survie sans séquelle

TABLEAU 5 :  
ETUDES CLINIQUES DE PHASE III : RESULTATS

Etude	Résultats	Commentaires
Roberts ( 54 )	augmentation de l' oxygé - nation de 53 % groupe NO versus 7 % groupe témoin ECMO : 40 % versus 71 % groupe témoin	amélioration significative et maintenue de l' oxygé - nation . diminution des besoins en ECMO
NINOS ( 55 )	décès : 14 % groupe NO versus 16 % groupe témoin ( non significatif ) ECMO : 55 % groupe témoin versus 36 % groupe NO ( significatif $p < 0,014$ )	NOi diminue les besoins en ECMO NOi ne diminue pas la mortalité
Kinsella (56 )	amélioration oxygénation : 28 % NOi versus 23 % OHF et 32 % après échec si NOi + OHF NOi + OHF : statistiquement meilleur pour MMH et IM que OHF ou NOi seuls NOi + ou - OHF statistique - ment meilleur si HTAP idio - pathique ou hypoplasie pulmonaire sans HDC	traitement avec NOi + OHF est plus efficace que l' un ou l' autre différences significative selon pathologies
Etude française ( 46 )	diminution significative IO si MMH ou HTAP idiopathi - que ou sepsis amélioration moins signifi - cative IO si inhalation méconiale ou HDC	réponse des prématurés au NOi réponse au NOi dépend de la pathologie sous - jacente

ETUDES CLINIQUES DE PHASE III : RESULTATS ( SUITE )

Etude	Résultats	Commentaires
Kinsella ( 57 )	augmentation significative de la PaO <sub>2</sub> après 60 mn de NO <sub>i</sub> ( p = 0,03 ) diminution de la durée de ventilation assistée dans le groupe NO ( p = 0,046 )	le NO améliore significativement l'oxygénation des prématurés et diminue la durée de ventilation pas d'intervention du NO <sub>i</sub> sur la survie, la dysplasie broncho-pulmonaire, l'incidence des hémorragies pulmonaires ou intra-ventriculaires
Groupe franco-belge ( 58 )	augmentation de l'IO dans le groupe NO mais différence statistiquement significative uniquement pour enfants d'AG > 33 SA ( p = 0,03 ) diminution de la durée de ventilation assistée et d'hospitalisation en Unité de Soins Intensifs dans le groupe NO mais statistiquement significatif uniquement chez les enfants d'AG > 33 SA ( p = 0,05, p = 0,02 )	administration de petites posologies de NO <sub>i</sub> améliore significativement l'oxygénation et diminue la durée de ventilation et d'hospitalisation pour les enfants d'AG > 33 SA par contre le NO <sub>i</sub> n'apporte pas de bénéfice significatif chez les prématurés

AG : âge gestationnel, IO : index d'oxygénation, NO<sub>i</sub> : NO inhalé, OHF : oscillations hautes fréquences, VC : ventilation conventionnelle, MMH : maladie des membranes hyalines, HDC : hernie diaphragmatique congénitale, IM : inhalation méconiale, SA : semaines d'aménorrhée .

En synthèse, dans l'état actuel des connaissances et des données publiées, le monoxyde d'azote inhalé apparaît efficace chez les nouveau-nés à terme avec hypoxémie réfractaire. Il permet une diminution significative des besoins en ECMO et de la morbidité des enfants mais sans qu'aucun effet significatif sur la mortalité n'ait encore pu être démontré. De plus, le NO ne constitue pas pour autant le traitement de toutes les hypoxémies réfractaires. En effet, la vasoconstriction artérielle pulmonaire n'est qu'un des facteurs physiopathologiques de l'hypoxémie réfractaire. Il convient donc d'analyser dans ce syndrome complexe qu'est l'HTAP la part respective qui revient au parenchyme pulmonaire d'une part par la radiographie pulmonaire, au lit vasculaire pulmonaire et au système cardiovasculaire d'autre part par l'échocardiographie Doppler. En effet, l'efficacité du NOi est meilleure comme nous l'avons vu précédemment s'il existe une HTAP diagnostiquée par l'échodoppler pulsé.

La correction de l'hypoxémie est généralement spectaculaire chez les nouveau-nés ayant une pathologie pulmonaire alvéolaire associée telle qu'une maladie des membranes hyalines, ou vasculaire isolée observée dans l'HTAP idiopathique. Dans ce cas, le NOi augmente l'oxygénation en diminuant sélectivement les résistances vasculaires pulmonaires et en dilatant de façon également sélective les vaisseaux satellites des alvéoles bien ventilés, améliorant le rapport ventilation / perfusion ( 50 ) .

Le sepsis associé à des degrés divers une alvéolite infectieuse, une vasoconstriction pulmonaire prédominante et un état de choc associé

ou non à des défaillances d'organe diverses. Les deux premiers mécanismes répondent bien à l'inhalation de NO. Le troisième mécanisme n'est pas accessible au NOi ce qui souligne l'importance de la défaillance cardiaque et surtout ventriculaire droite dans les HTAP sévères ;

De même, la physiopathologie de l'inhalation méconiale comprend plusieurs aspects accessibles ou non à l'inhalation de NO :

- \* l'obstruction trachéobronchique qui impose une aspiration correcte du méconium intratrachéal à la naissance .
- \* la présence de bouchons bronchiques distaux entraînant une surdistension pulmonaire et donc des rapports ventilation sur perfusion très hétérogènes d'où l'intérêt d'un mode de ventilation le moins barotraumatique possible .
- \* l'inhibition du surfactant par le méconium d'où l'utilité d'un surfactant exogène .
- \* l'HTAP par remodelage vasculaire anténatal souvent accessible pour sa part au NOi .

L'effet du NO est synergique à une amélioration de la ventilation alvéolaire et nous pouvons souligner ici l'intérêt de l'utilisation concomitante de l'OHF dont les objectifs sont doubles :

- \* obtenir un recrutement alvéolaire adéquat .
- \* réduire le volotraumatisme par le réglage du pic à pic au minimum nécessaire pour obtenir une vibration thoracique visible .



Comme nous venons de le voir, la compréhension des échecs du traitement par le NOi est importante pour progresser dans son utilisation . Une première raison des échecs réside dans un accès insuffisant des molécules de NOi au niveau de leur cible moléculaire : la guanylate cyclase soluble du muscle vasculaire lisse d' où l' importance d' un recrutement alvéolaire homogène suffisant .

Une deuxième raison pourrait être une insensibilité relative de la guanylate cyclase soluble au NOi ou une activité excessive des phosphodiestérases 5 laissant espérer des traitements synergiques par des inhibiteurs du type " dipyridamole " ( 60 ) .

Une troisième raison d' échec est un remodelage vasculaire important qui peut gêner la diffusion du NO ou surtout contribuer au caractère fixé de l' HTAP . La mise en évidence dans le modèle de l' hypertension artérielle pulmonaire persistante du nouveau - né d' une efficacité des antagonistes des récepteurs à l' endothéline A, sur le remodelage vasculaire pulmonaire ( 61 ) ouvrent des perspectives intéressantes de traitement anténatal dans les situations à risques d' HTAP réfractaire à un simple traitement par le NOi telles que la hernie diaphragmatique congénitale ou les hypoplasies pulmonaires .

#### Cas particulier de la hernie diaphragmatique congénitale :

Les nouveau - nés avec hernie diaphragmatique congénitale ne répondent que de façon inconstante au NOi . Ceci s' explique probablement par le degré d' hypoplasie pulmonaire associée . De plus, dans les cas les plus

sévères, outre une HTAP réactive, l'augmentation des résistances vasculaires pulmonaires est probablement liée à une réduction anatomique du lit vasculaire pulmonaire responsable d'une HTAP fixée ( 62 ) . Si la première composante peut réagir au NOi, la deuxième probablement pas . Par ailleurs, une diminution de la masse ventriculaire gauche a été mise en évidence chez les non survivants à l' ECMO ( 63 ) . Une altération associée de la fonction cardiaque explique probablement le caractère réfractaire de l'HTAP au NOi et fait discuter le recours à l' ECMO .

### 3 ) EFFETS SECONDAIRES DU MONOXYDE D' AZOTE :

Le monoxyde d' azote inhalé constitue une avancée thérapeutique majeure dans le traitement des détresses respiratoires néonatales sévères . Néanmoins cet enthousiasme est tempéré par des études expérimentales in vivo, in vitro et quelques études cliniques qui ont fait état d' effets secondaires délétères potentiels du NO et du risque de voir ces effets accrus en cas d' utilisation du NO inhalé .

Le NO est un oxydant puissant . En présence d' oxygène, le NO est rapidement transformé en dioxyde d' azote : le NO<sub>2</sub> qui inhalé à des concentrations supérieures à 2 - 5 ppm expose à une broncho - constriction et à un œdème pulmonaire lésionnel ( 64 ) . Le monitoring des concentrations inspirées de NO et de NO<sub>2</sub> par chimiluminescence ou à défaut par cellules électrochimiques est obligatoire au cours du traitement par NOi . Le NO peut également se combiner à l' ion superoxyde pour former des

radicaux libres toxiques : peroxy-nitrite et hydroxyl ( 18 ) .

Le NO oxyde également l' hémoglobine en méthémoglobine . Sa concentration sanguine dépend de l' activité méthémoglobine réductase qui peut être diminuée chez le prématuré ou dans de rares cas de déficits congénitaux . Les taux observés dans toutes les études que nous avons citées précédemment sont toujours restés inférieurs à 2 - 3 % pour des posologies de NOi inférieures à 40 ppm . Néanmoins, la surveillance régulière de la méthémoglobinémie est obligatoire au cours de tout traitement par le NOi .

Chez l' adulte, le NOi inhibe l' agrégation plaquettaire et pourrait allonger le temps de saignement mais il n' est pas évident que ceci expose à un risque hémorragique significatif ( 65 ) . Une étude récente ( 66 ) réalisée chez 8 nouveau - nés à terme et un nouveau - né prématuré exposés à une inhalation de 40 ppm de NO dans le cadre d' une HTAP n' a pas montré de différence significative entre le taux de plaquettes et l' adhésion plaquettaire avant et 24 heures après l' inhalation de NO . Par contre, le temps de saignement est deux fois plus long au cours de l' inhalation de NO que 24 heures après l' arrêt de NO .

A de fortes doses, le NO modifierait la réponse inflammatoire des macrophages alvéolaires . Pour des expositions prolongées, certaines protéines telles que l' albumine pourraient constituer une forme de transport du NO ou de ses dérivés nitrosothiols et être aussi à l' origine d' une toxicité sur le cerveau en voie de maturation ( 64 ) .

Enfin, une inquiétude persiste quant à une mutagénicité potentielle, conséquence de la nitrosylation des protéines notamment au niveau des résidus tyrosine ( 67 ) . Par souci de pharmacovigilance, il est recommandé que tout traitement par NOi soit mentionné dans le carnet de santé . Mais la toxicité potentielle du NOi doit être fortement tempérée par la démonstration récente que des concentrations significatives de NO ( 200 à 300 ppm ) sont en permanence produites au niveau des fosses nasales y compris chez le nouveau - né ( 68 ) . L' exposition au NO secondaire à la pollution automobile ou à la fumée de cigarettes ( environ 800 ppm ) est à fortiori largement supérieure à celle d' un traitement ponctuel par le NOi .

Dans l' état actuel de nos connaissances, qu' en est - il du nouveau - né prématuré aux systèmes anti - oxydants immatures et soumis à des agressions oxydatives importantes . L' ajout du NOi pourrait décompenser un équilibre oxydatif déjà précaire . Ainsi plusieurs travaux ont montré une amélioration du pronostic cérébral après hypoxie - reperfusion chez des animaux dont la NO synthase avait été bloquée ( 69, 70, 71 ) .

On peut donc craindre un effet du NOi chez des enfants nés à terme ou surtout prématurément et qui sont souvent dans une situation post - asphyxique .

De même l' utilisation de NOi susceptible d' altérer les fonctions plaquet - taires est préoccupante chez des enfants nés prématurément et déjà plus particulièrement à risque d' hémorragie en particulier intracérébrale ( 72, 73 ) .

Enfin, si le NO a un rôle mineur dans la dilatation du canal artériel chez les

rats nés à terme, il a un rôle majeur dans la persistance du canal artériel chez des rats nés prématurément comme le démontre Kazuo Momma dans une récente étude ( 74 ) .

Tous ces problèmes et incertitudes justifient donc une étude approfondie dévolue au traitement du nouveau - né prématuré et étudiant l' équilibre entre efficacité probable et effets secondaires potentiels d' une stratégie proposant le NOi en cas d' hypoxémie sévère dans cette population . Nous détaillerons dans la troisième partie de ce travail l' étude mise au point pour répondre à toutes ces interrogations .

## ETUDE ACTUELLE

### 1 ) OBJECTIFS DE L' ETUDE :

comme nous l' avons vu le NOi permet d' améliorer significativement le pronostic des nouveau - nés à terme ayant une hypoxémie réfractaire . Plusieurs études suggèrent qu' il peut être aussi bénéfique dès le stade de l' hypoxémie sévère ( 57, 58 ) .

L' utilisation chez les nouveau - nés prématurés semble possible mais il existe un risque théorique de voir les effets délétères du NO endogène augmenter en cas d' utilisation du NO inhalé . Ce risque peut être considéré comme acceptable en cas d' hypoxémie réfractaire, lorsque le pronostic vital est engagé . Mais il est alors difficile, en cas d' échec, de faire la part entre la pathologie et d' éventuels effets secondaires du NO, en particulier en cas d' hémorragie intra - cérébrale fréquente dans ces circonstances .

Les objectifs de cette étude sont d' étudier l' effet de l' administration du NO inhalé sur la mortalité et la morbidité des prématurés présentant une hypoxémie sévère .

Ce travail propose donc d' évaluer de façon prospective une cohorte de prématurés de moins de 32 semaines d' âge gestationnel à laquelle le NO est proposé de façon précoce, après une phase de stabilisation postnatale de 6 heures, lorsque ces nouveau - nés nécessitent une ventilation assistée et présentent une hypoxémie sévère suggérant l' existence d' une

hypertension artérielle pulmonaire persistante .

Le **critère d' évaluation principal** est la survie à 28 jours, sans assistance ventilatoire y compris VS - PEP, sans oxygène, sans lésion cérébrale supérieure à une hémorragie intraventriculaire de grade I ( classification de Papile ), et n' ayant pas présenté d' hypoxémie réfractaire .

Les **critères d' évaluation secondaires** sont les paramètres pouvant être altérés par une agression oxydative éventuellement surajoutée par le NOi :

- incidence des dysplasies pulmonaires et ou des traitements corticoïdes au cours des 28 premiers jours de vie pour raison pulmonaire ;
- incidence et chronologie des hémorragies pulmonaires ;
- incidence de persistance du canal artériel nécessitant traitement ;
- incidence et gravité des lésions cérébrales hémorragiques ou des leucomalacies au cours des 28 premiers jours de vie ;
- incidence des entéro - colites ulcéronécrosantes ;
- incidence des infections nosocomiales .

## 2 ) PROTOCOLE :

### 2.1 ) Population étudiée :

#### \* critères d' inclusion :

- tout nouveau - né d' âge gestationnel strictement inférieur à 32 semaines d' aménorrhée hospitalisé pendant la durée de l' étude,
- âgé de moins de 24 heures à l' entrée en hospitalisation,
- après obtention du consentement éclairé des parents .

#### \* critères d' exclusion :

- utilisation du NO avant 6 heures de vie,
- thrombopénie < 50000 plaquettes / millimètre cube dans les 48 premières heures de vie,
- cardiopathie congénitale grave à l' exception d' un canal artériel persistant, du foramen ovale ou d' une communication interventriculaire,
- anasarque foëto - placentaire,
- hernie diaphragmatique,
- anomalie chromosomique suspectée ou documentée,
- autre anomalie mettant en jeu le pronostic vital .



**\* nombre de sujets de l' étude :**

une enquête réalisée en 1997 sur plus de 850 nouveau - nés de même âge gestationnel dans la région Nord - Est a permis de mettre en évidence une survie sans séquelle de l' ordre de 50 % . Une évaluation rétrospective effectuée selon les critères retenus pour cette étude permet d' évaluer le nombre d' enfants présentant une hypoxémie sévère de 16 à 20 % de la population considérée . L' hypoxémie sévère est définie par un rapport  $aAO_2 < 0,22$

(  $aAO_2 = PaO_2 / [( FiO_2 \times 713 ) - PaCO_2 ]$  ) ainsi que des besoins en oxygène supérieurs ou égaux à 40 % .

Pour mettre en évidence une amélioration de la survie sans séquelle de **50 à 60 %** avec un **test bilatéral**, un risque  $\alpha = 0,05$  et une **puissance de 80 %**, le nombre de sujets nécessaire est au minimum de **407** par groupe étudié ( soit **814** au total ) . Afin d' éviter une sous - évaluation due aux aléas et fluctuations des pathologies pouvant modifier l' incidence de l' hypoxie sévère dans notre population, un minimum de **75 sujets** remplissant les critères de mise sous NO sera exigé dans chaque groupe ( calculs réalisés par le département d' informatique médicale de la Maternité Régionale de Nancy ) .

2.2 ) Type de l' étude :

- prospective,
- contrôlée,
- randomisée,
- ouverte,
- multicentrique :

centre promoteur et investigateur principal :

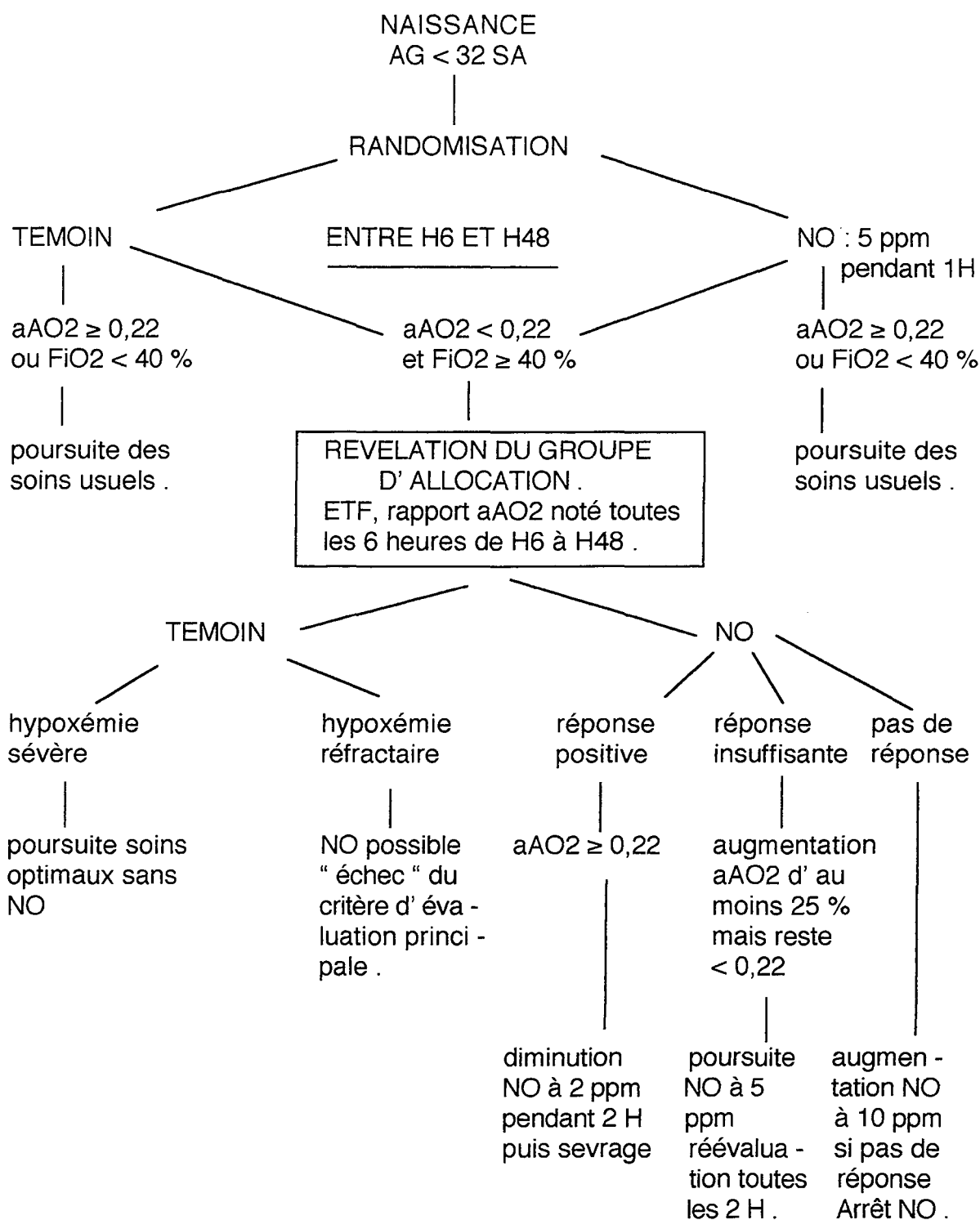
Maternité Régionale de Nancy .

Autres centres investigateurs : Amiens, Arras, Besançon,  
Liège, Lille, Lyon, Reims, Tours Réanimation néonatale et  
pédiatrique, Tours Néonatalogie .

Partenaire : Air Liquide Santé International .

2.3 ) Protocole :

Il est résumé par le schéma récapitulatif suivant :



J28  
pour les deux groupes :  
ETF, paramètres ventilatoires et oxymétriques  
RP, critères d' évaluation secondaires

**\* randomisation :**

Elle se fait dès l' hospitalisation, en 2 groupes :

groupe témoin ( T ) et groupe monoxyde d' azote ( NO ) .

Le tirage au sort est centralisé et enregistré dans le centre coordinateur, après appel téléphonique .

La randomisation est stratifiée par centre et par groupe d' âge gestationnel en " inférieur strict à 28 SA " et " supérieur ou égal à 28 SA " .

Afin de pas influencer les autres thérapeutiques utilisées en fonction du groupe d' allocation, celui - ci ne sera révélé que si l' enfant requiert une ventilation assistée et présente entre H6 et H48 une hypoxémie sévère .

**\* procédure :**

- soit l' enfant n' est pas intubé, le rapport aAO2 est supérieur ou égal à 0,22 ou la FiO2 < 40 %, alors les traitements usuels sont poursuivis et les valeurs des paramètres d' oxygénation sont évaluées et notées toutes les 6 heures jusqu' à 48 heures .

- soit l' enfant est intubé **et** la FiO2  $\geq$  40 % **et** le rapport aAO2 devient < 0,22 entre H6 et H48 ; l' heure est notée et le groupe d' allocation est révélé lors d' un second appel au centre coordinateur .

- groupe T :

groupe témoin avec soins usuels optimaux, à l'exception du NO, sauf en cas d'hypoxémie réfractaire définie par : PaO<sub>2</sub> et PaCO<sub>2</sub> < 50 torr, mesurées par voie sanglante ou transcutanée, en post-ductal, pour une FiO<sub>2</sub> = 1, et une assistance ventilatoire "optimale" selon les critères du service .

Le rapport aAO<sub>2</sub> est alors  $\leq 0,075$  . Dans ce cas, le nouveau-né peut recevoir du NO de façon libre, et sera comptabilisé comme "échec" du critère d'évaluation principal .

Le rapport aAO<sub>2</sub> et la FiO<sub>2</sub> seront notés de la façon suivante :

- une première fois à **H6** ou à l'entrée dans le service pour les enfants nés à l'extérieur ( outborn ) et transférés après H6 et avant H24 ;

- il sera ensuite évalué et noté toutes les 6 heures jusqu' à H48 et la valeur la plus basse sera enregistrée avec le plus grand soin ;

- enfin, le rapport aAO<sub>2</sub> et la FiO<sub>2</sub> seront notés à H48 .

Dans le cas du passage en hypoxémie réfractaire, le rapport concomitant à la sortie du protocole sera noté .

- groupe NO :

soins usuels optimaux jusqu' à **H6** où le rapport aAO2 et la FiO2 sont notés puis évalués et notés selon la même procédure que pour le groupe T jusqu' à H48 .

**Si le rapport aAO2 devient  $< 0,22$  entre H6 et H48 :**

**DEBUT DE LA PROCEDURE DE MISE SOUS NO :**

\* réalisation d' une échographie cérébrale

\* INTRODUCTION DU NO A LA POSOLOGIE DE 5 PPM PENDANT UNE HEURE : TRAITEMENT D' ATTAQUE .

- réponse : aAO2  $\geq 0,22$  ; alors diminution à 2 ppm pendant 2 heures puis sevrage en fonction de l' évolution ( FiO2  $< 0,25$  ou extubation ) .

- réponse insuffisante : augmentation du rapport aAO2 d' au moins 25 % du rapport initial mais restant  $< 0,22$  ; maintien à 5 ppm et réévaluation toutes les deux heures . Quand la réponse est obtenue, on réalise un sevrage progressif en fonction de l' évolution ( comme expliqué ci - dessus ) .

- non réponse : on augmente alors à 10 ppm pendant 2 heures : soit on obtient une réponse et on adapte comme plus haut, soit il n' y a pas de réponse alors on réalise un sevrage progressif et un arrêt sur une heure .

\* **suivi clinique et paraclinique des enfants :**

- dans le groupe témoin et dans le groupe NO : réalisation

d' une échographie cérébrale **avant J3** ( avant si NO indiqué ), et une seconde **entre J7 et J10** .

- à **J28** ( le jour de naissance est J0 ) :

- \* recueil des paramètres ventilatoires et oxymétriques dans les deux groupes ;
- \* radiographie de thorax ;
- \* échographie cérébrale réalisée à J28 + / - 2 ;
- \* recueil des paramètres définissant les critères d' évaluation secondaires définis précédemment .

### 3 ) ETUDES ANCILLAIRES OPTIONNELLES :

Deux études ancillaires ont été proposées en parallèle à cette étude afin de bénéficier de ce recrutement pour améliorer les connaissances physiopathologiques et la pertinence de l' interprétation des résultats cliniques observés .

Ces deux études sont une évaluation hémodynamique échocardiographique Doppler et une étude biochimique .

#### 3.1 ) Etude échocardiographique :

Comme nous l' avons signalé dans la deuxième partie de notre travail, les études en échographie Doppler Pulsé ont montré que l' efficacité du NO est plus importante quand il existe une hypertension artérielle pulmonaire . Toutefois, le NO semble aussi être efficace en l' absence de signes échographiques d' hypertension,

probablement par amélioration du rapport ventilation sur perfusion ( 50, 55 ) .

Ces études suggèrent que l' hypoxémie sévère peut être un symptôme suffisant pour justifier l' indication du NO .

En pratique clinique, les centres qui ne disposent pas d' une échographie Doppler 24 heures sur 24, retiennent ce symptôme pour indiquer le NO . Toutefois, sa pertinence n' est pas formellement démontrée .

**Les objectifs** de cette étude ancillaire sont d' évaluer la validité de l' hypoxémie sévère, non réfractaire, comme indicateur de mise sous NO . Elle permettra également d' apprécier les effets hémodynamiques du NO en fonction de la situation initiale et l' incidence des échec pour des raisons hémodynamiques .

**Méthode** : trois centres participent à cette étude : Reims, Tours et Nancy . Une évaluation échocardiographique Doppler sera réalisée avant et juste après mise sous NO ainsi qu' avant l' arrêt du NO pour évaluer son effet hémodynamique pulmonaire dans cette situation . La procédure consistera à évaluer la vitesse moyenne du flux dans l' artère pulmonaire gauche, la présence d' un canal artériel persistant, le sens du shunt par le canal artériel et le gradient transductal .

Les résultats de l' échocardiographie ne modifieront pas l' indication de NO .

L' analyse évaluera la pertinence du diagnostic clinique d' HTAP par



l' hypoxémie sévère dans les deux groupes étudiés ; elle déterminera les effets du NO sur l' hémodynamique et leur correspondance avec la clinique ; elle comparera l' évolution du canal artériel en fonction des groupes d' allocation .

3.2 ) Evaluations des paramètres biochimiques pouvant être altérés par le NO inhalé :

**Le but** de cette étude ancillaire est d' analyser l' éventuelle toxicité biologique du NO inhalé chez des enfants prématurés de moins de 32 SA . Il s' agit d' évaluer la mise en évidence d' une altération de la production de NO endogène chez ces enfants et d' étudier l' éventuelle toxicité de NO via la formation de peroxy-nitrites .

#### **Méthodes :**

La détermination de la production de NO chez les témoins comme chez les enfants ventilés au NO sera faite à l' aide de méthodes indirectes telles que :

- \* le dosage de l' arginine, la citrulline et l' ornithine par HPLC couplée à une détection fluorimétrique
- \* le dosage de l' urée selon une technique enzymatique ( uréase )
- \* le dosage des nitrites et des nitrates par méthode colorimétrique
- \* la détermination du taux de méthémoglobine par une technique spectrophotométrique .

La toxicité potentielle du NO via la formation de peroxy-nitrites sera étudiée de manière indirecte en mesurant différents systèmes antiradicalaires comme la voie du glutathion ( glutathion total, activité de la glutathion réductase plasmatique et globulaire, activité de la glutathion peroxydase plasmatique et globulaire ) ou la formation de produits de peroxydation lipidique comme le malodialdéhyde ( MDA ) au niveau sanguin et pulmonaire .

### **Protocole expérimental :**

C' est un travail monocentrique .

Tous les enfants inclus à Nancy dans le cadre de l' étude multicentrique décrite précédemment, soit environ 150 enfants, seront évalués sur le plan biochimique . Les dosages seront faits aussi bien chez les témoins que chez les enfants recevant du NO . Les paramètres définis ci - dessus seront analysés dans les conditions suivantes :

\* deux échantillons sanguins seront prélevés en même temps que les prélèvements habituellement nécessités pour les soins de l' enfant, et un recueil de l' aspiration trachéale sera réalisé simultanément chez les enfants ventilés

#### Bilan n° 1 :

- soit, entre H24 et H48 lorsque le rapport aAO2 reste  $\geq 0,22$  dans les deux groupes,

- soit, avant l' introduction du NO lorsqu' il est indiqué ( groupe NO )  
entre H6 et H48,

- soit, lorsque le rapport aAO2 devient  $< 0,22$  chez les témoins entre  
H6 et H48 .

Bilan n° 2 :

dans les 24 heures suivant le premier bilan dans les deux groupes .

\* à chaque prélèvement sanguin, 4 microtubes permettront de  
doser les paramètres suivants :

- arginine, citrulline, ornithine : 1 microtube hépariné ( 200  $\mu$ l  
de sang minimum )

- urée : 1 microtube hépariné ( 200  $\mu$ l de sang minimum )

- glutathion total : 1 tube microtainer hépariné ( 400  $\mu$ l de  
sang minimum )

- nitrites + nitrates, MDA, glutathion peroxydase et réductase :  
1 tube microtainer hépariné ( 600  $\mu$ l de sang minimum )

Soit 1,4 ml de sang par prélèvement et par enfant ( au total,  
2,8 ml pour toute l' étude ) .

\* les prélèvements trachéaux seront congelés et les mêmes  
paramètres qu' au niveau sanguin seront ensuite analysés .

#### 4 ) MISE AU POINT DE L' ETUDE :

##### 4.1 ) procédure suivie :

L' étude qui nous intéresse actuellement a été mise au point selon les principes légaux définis par la loi *relative à la protection des personnes qui se prêtent à des recherches biomédicales* du 25 juillet 1994 dite " loi HURIET " .

Cette procédure a été la suivante :

\* L' investigateur de l' étude a commencé à bâtir le projet dès 1998 .

Il a pris contact avec les responsables des différents centres intéressés . Un premier problème est soulevé dans le choix des centres . En effet, un maximum de centres doit être choisi pour permettre un recrutement suffisant d' enfants sur un an, pour que les modalités de prise en charge des enfants ne varient pas entre le début et la fin de l' étude ; mais le nombre de centres ne doit pas être trop important afin de diminuer la variabilité de prise en charge des enfants d' un centre à l' autre .

En pratique, 16 centres ont été contactés au total . Ils étaient tous intéressés mais plusieurs ont dû renoncer à l' étude principalement car ils avaient d' autres projets de recherche clinique en cours . Or il existe une nécessité légale d' une seule recherche par enfant . Dix centres ont finalement accepté de s' associer. Deux autres centres étaient très intéressés : Strasbourg et Dijon . Ils ne pourront pas participer à l' étude mais ils vont former le Comité de Surveillance .

\* L'investigateur de l'étude a également contacté un statisticien pour définir, à priori, le nombre de sujets à inclure, établir la randomisation des enfants et le suivi méthodologique de l'étude .

\* Un cahier d'observation a été rédigé de manière consensuelle par les différents centres . Plusieurs réunions se sont avérées nécessaires . Le cahier d'observation a été critiqué à plusieurs reprises avant d'aboutir à la version définitive .

\* L'investigateur a alors soumis le projet au CCPRB ( Comité Consultatif de Protection des personnes dans la Recherche Biomédicale ) . Nous avons essuyé initialement un refus du projet car celui - ci était adressé au CCPRB de " Meurthe- et - Moselle " alors qu'il fallait l'adresser au CCPRB de Lorraine ( ! ) Le changement de nom étant survenu dans les semaines précédant le dépôt du dossier .

Après rectification de l'erreur, l'acceptation du projet a alors été obtenue dans un délai de 6 semaines .

Le projet a aussi été transmis par l'investigateur au promoteur qui déclare l'essai clinique à l'Agence du Médicament .

\* L'assurance doit être contractée par le promoteur de l'étude .

Or, l'assurance contractée initialement par la Maternité Régionale de Nancy ne prenait pas en charge le centre Belge de Liège . Ce centre a dû demander à son propre CCPRB l'autorisation de participer à l'étude .

Le délai d' obtention d' un contrat d' assurance définitif s' est donc vu allongé .

\* Parallèlement, un programme informatique a été établi pour la saisie et le traitement des données . Une demande de traitement de ces données pour la recherche biomédicale doit être déposée au Comité Consultatif sur le Traitement de l' Information . Une fois l' avis favorable obtenu, le dossier est déposé à la Commission Nationale de l' Information et des Libertés ( CNIL ) qui donne l' autorisation de traitement des données .

\* L' investigateur de l' étude transmet au Comité de surveillance, par fax, tous les événements indésirables graves, définis comme tel au début de l' étude . Si la survenue d' événement indésirables graves peut être attribuée à l' administration du produit testé dans le cadre de l' étude, en l' occurrence le NO, l' information est transmise à l' Agence du Médicament qui peut décider d' arrêter l' étude .

#### 4.2 ) organisation pratique du suivi :

En pratique, le suivi d' une telle étude demande une très grande disponibilité du centre promoteur et investigateur .

Tous les centres ont reçu une visite sur site pour l' explication et la mise en place du protocole . Une visite intermédiaire " de contrôle de qualité " est prévue pour chaque centre ainsi qu' une visite de fin d' étude .

Il convient d' une part de veiller au bon déroulement du protocole et de pouvoir répondre en permanence aux questions posées par les autres centres . D' autre part, il faut maintenir la motivation des centres et obtenir

une bonne compliance des protagonistes . Aussi, l' investigateur de l' étude envoie mensuellement à chaque centre un compte rendu sur l' état d' avancement de l' étude et les points à régler .

Parallèlement, l' assistante de recherche clinique du centre promoteur envoie tous les mois d' une part un histogramme détaillant pour chaque centre le nombre d' enfants inclus dans l' étude et le nombre d' hypoxémie sévère et d' autre part, un bilan récapitulatif de la transmission des données du centre coordinateur pour les enfants âgés de plus de 28 jours et qui n' ont pas présenté d' hypoxémie sévère .

Enfin, à chaque enfant inclu dans l' étude est attribué un cahier d' observation où sont colligées toutes les données nécessaires à l' étude et qui seront ensuite analysées . Chaque cahier est revu par l' assistante de recherche clinique du centre promoteur . Une fiche de correction des données est établie et renvoyée au centre d' origine . Les données sont alors validées et la saisie peut être effectuée .

La collection des données est actuellement faite . Une saisie de ces données doit maintenant être réalisée avec une relecture de contrôle . Nous participons activement à la validation médicale des observations, à la saisie et au contrôle de la saisie .

#### 4.3 ) principales difficultés rencontrées :

A tous les niveaux de l' étude, diverses difficultés ont été rencontrées . Quelques une ont déjà été évoquées précédemment .

\* Il convient surtout de souligner la disponibilité considérable

demandée pour l' établissement d' une telle étude .

\* Le recrutement des centres est également une difficulté majeure .  
En effet, ce recrutement peut être biaisé en fonction des préjugés scientifiques de chacun . Certains pensent que le NO est dangereux, d' autres pensent qu' il est utile . Aussi, pour contourner ce biais, tous les prématurés de moins de 32 SA entrent dans l' étude et sont ensuite randomisés . L' attribution groupe témoin ou NO n' est connue qu' ultérieurement si l' enfant entre en hypoxémie sévère pour ne pas influencer la prise en charge initiale selon les convictions de chacun .

\* La randomisation pourrait entraîner un déséquilibre secondaire du nombre d' enfant dans chaque groupe . Ce problème a été pris en compte par le statisticien qui vérifie mensuellement l' équilibre du tirage au sort .

\* Dans une telle étude qui s' étale sur 12 à 18 mois, nous pouvons également observer une modification de la constitution de la population . En effet, en anténatal et en postnatal, la prise en charge évolue actuellement rapidement et peut être différente pour les enfants du début de l' étude et de la fin de l' étude .

Par ailleurs, il existe également une variabilité de prise en charge des enfants d' un centre à l' autre .

\* D' un point de vue administratif, de nombreux et volumineux dossiers doivent être remplis pour l' assureur, le CCPRB et la CNIL, ce qui représente d' une part une charge de travail importante . D' autre part les réponses de ces différents organismes sont données après plusieurs



semaines . La lenteur administrative transparait dans toutes les étapes d' une telle étude . Dans le cas présent, le projet est ébauché depuis 1998, l' inclusion du premier enfant dans l' étude est réalisée en juin 1999 .

\* Un problème matériel d' approvisionnement du NO s' est posé pour un des centres qui n' avait pas les bouteilles homologuées pour l' étude soit des bouteilles contenant 225 ppm de NO . Ce centre possédait des bouteilles contenant 450 ppm de NO . Air Liquide Santé a dû fournir les bouteilles adéquates à ce centre ce qui a retardé sont entrée dans l' étude .

\* Enfin, à notre niveau, la participation à un projet de cette envergure est tout à fait passionnante mais demande beaucoup de temps pour la compréhension des différentes étapes, la participation à la saisie et la validation des données recueillies . D' autant que l' activité clinique hospitalière d' un interne est un activité à plein temps qui laisse peu de loisir pour mener parallèlement le suivi d' une étude de recherche . Ceci souligne l' importance d' un travail d' équipe bien coordonné pour mener à bien un tel projet .

5 ) ETAT D' AVANCEMENT DE L' ETUDE :

**Au 1er mars 2000, 347 enfants ont été inclus dans l' étude .**

- 112 pour Nancy
- 22 pour Amiens
- 32 pour Besançon
- 16 pour Lille
- 45 pour Lyon
- 49 pour Reims
- 36 pour Tours Réanimation
- 17 pour Liège
- 18 pour Arras .

Parmi ces 347 enfants, **52 ont présenté une hypoxémie sévère** . Comme nous l' avons vu précédemment, l' étude se terminera quand nous aurons 150 enfants en hypoxémie sévère . Ce chiffre sera très probablement atteint à la fin de l' année 2000 .

## CONCLUSION :

Le monoxyde d' azote inhalé est une thérapeutique prometteuse dans la prise en charge des détresses respiratoires néonatales sévères grâce à ses propriétés vasodilatatrices pulmonaires sélectives . Il améliore en effet sans ambiguïté l' oxygénation des nouveau - nés à terme avec hypoxémie réfractaire . Son efficacité est meilleure s' il existe une HTAP diagnostiquée par l' échocardiographie doppler .

La généralisation de l' utilisation du NO depuis 1993 - 1994 a contribué à diminuer significativement les besoins en ECMO ( 14 ) ; le nombre de nouveau - nés enregistrés par l' Extracorporeal Life Support Organization a diminué de moitié en 1994 et 1995 et celui de ceux traités en France d' au moins 3 / 4 entre 1992 et 1995 .

Par ailleurs, le monoxyde d' azote a une action synergique avec l' amélioration de la ventilation alvéolaire ce qui souligne l' importance des techniques de réanimation associées telles que l' administration de surfactant ou encore la ventilation par oscillations hautes fréquences .

L' objectif actuel des essais cliniques n' est plus tant la survie des enfants que la façon la plus physiologique et la plus économique d' y parvenir . Aussi, seule une bonne connaissance de la physiopathologie de la détresse respiratoire néonatale permet de choisir la meilleure stratégie thérapeutique .

Si l' inhalation de NO a un intérêt majeur dans l' arsenal thérapeutique du nouveau né à terme en hypoxémie réfractaire,

qu' en - est - il des nouveau - nés en hypoxémie sévère ?

Et qu' en - est - il des prématurés aux systèmes antioxydants immatures ?

Ces interrogations justifient une étude approfondie dévolue au nouveau - né prématuré et étudiant l' équilibre entre efficacité probable et effets secondaires potentiels d' une stratégie proposant le NOi en cas d' hypoxémie sévère dans cette population .

La mise au point d' une telle étude entraîne de nombreuses difficultés qu' il est important de surmonter et demande également une très grande disponibilité . Néanmoins, l' intérêt médical est majeur puisque l' objectif de ce travail est d' améliorer le pronostic des nouveau - nés prématurés en hypoxémie sévère afin qu' ils deviennent de “ beaux enfants “ .

PRINCIPALES ABREVIATIONS UTILISEES

DANS LE TEXTE :

AaDO<sub>2</sub> : gradient alvéolo - artériel en oxygène

AC : acétylcholine

ADN : acide désoxyribonucléique

ADP : adénosine 5' diphosphate

AG : âge gestationnel

ARNm : acide ribonucléique messenger

CCPRB : comité consultatif de protection des personnes dans la recherche biomédicale

CNIL : commission nationale de l'information et des libertés

ECMO : oxygénation extra - corporelle

EDCF : endothelium derived contracting factor

EDHF : endothelium derived hyperpolarizing factor

ET1 : endothéline 1

FiO<sub>2</sub> : fraction inspirée en oxygène

GMPc : guanosine monophosphate cyclique

GTP : guanosine triphosphate

HDC : hernie diaphragmatique congénitale

HTAP : hypertension artérielle pulmonaire

HTAPPN : hypertension artérielle pulmonaire persistante du nouveau - né

IL : interleukine

IM : inhalation méconiale

IMF : infection materno - fœtale

IO : index d' oxygénation

LPS : lipopolysaccharide

MMH : maladie des membranes hyalines

NADPH : nicotinamide adénine dinucléotide phosphate réduit

NO : monoxyde d' azote

NO<sub>2</sub> : dioxyde d' azote

NO<sub>2</sub>- : oxyde nitreux

NO<sub>3</sub>- : oxyde nitrique

NO<sub>i</sub> : monoxyde d' azote inhalé

O<sub>2</sub> : oxygène

OHF : oscillations hautes fréquences

ONOO- : peroxydinitrite

PaCO<sub>2</sub> : pression partielle artérielle en dioxyde de carbone

PaO<sub>2</sub> : pression partielle artérielle en oxygène

PDE : phosphodiesterase

PDGF : platelet derived growth factor

PGI<sub>2</sub> : prostacycline

PPM : particules par million

SA : semaines d' aménorrhée

SatO<sub>2</sub> : saturation en oxygène

TcPaO<sub>2</sub> : pression partielle artérielle en oxygène par mesure trans -  
cutanée

TNF : tumor necrosis factor

TXA2 : thromboxane A2

VM : ventilation mécanique .

BIBLIOGRAPHIE :

- 1 - FURCHGOTT RF, ZAWADZKI JV .

The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine .

Nature 1980 ; 299 : 373 - 6 .

- 2 - PALMER RMJ, FERRIGE AG; MONCADA S .

Nitric oxide release accounts for the biological activity of endothelium derived relaxing factor .

Nature 1987 ; 327 : 524 - 6 .

- 3 - PITTSCHIELER K.

No fear of NO ?

Acta Pædiatr 1999 ; 88 : 484 - 6 .

- 4 - ROBERTS JD, POLANER DM, LANG P, ZAPOL WM .

Inhaled nitric oxide in persistent pulmonary hypertension of the newborn .

Lancet 1992 ; 340 : 818 - 9 .

- 5 - KINSELLA JP, NEISH SR, SHAFER E, ABMAN SH.

Low - dose inhalational nitric oxide in persistent pulmonary hypertension of the newborn .

Lancet 1992 ; 340 : 819 - 20 .

- 6 - TIRITILLI A.

Le monoxyde d' azote ( NO ), facteur de protection vasculaire .

Presse Med 1998 ; 27 : 1059 - 72 .



- 7 - DINH - XUAN AT .

Endothelial modulation of pulmonary vascular tone .

Eur Respir J 1992 ; 5 : 757 - 62 .

- 8 - VALLANCE P, COLLIER J, MONCADA S .

Effects of endothelium - derived nitric oxide on peripheral arteriolar tone in man .

Lancet 1989 ; ii : 997 - 1000 .

- 9 - MONCADA S, HIGGS EA .

The L - arginine - nitric oxide pathway .

N Engl J Med 1993 ; 329 : 2002 - 12 .

- 10 - SZABO C .

Alterations in nitric oxide production in various forms of circulatory shock .

New Horizons 1995 ; 3 : 2 - 32 .

- 11 - EVANS T, CARPENTER A, KINDERMAN H et al .

Evidence of increased nitric oxide production in patients with sepsis syndrome .

Circ Shock 1993 ; 42 : 77 - 81 .

- 12 - M. FEELISCH, J. STAMLER .

Methods in nitric oxide research .

Chichester : J . WILEY , 1996 : 3 - 17 .

- 13 - PREMIER FORUM PLURIDISCIPLINAIRE DU CLUB NO .

Chimie et physiopathologie du monoxyde d' azote

Paris : C. DUCROCQ, 1993 : 6 - 7 .

- 14 - THEBAUD B, MERCIER JC .

Le monoxyde d' azote inhalé : un traitement plus physiologique de l' hypertension artérielle pulmonaire persistante du nouveau - né .

Arch Pediatr 1997 ; 4 : 988 - 1003 .

- 15 - WEIR EK, ARCHER SL .

The mechanism of acute hypoxic pulmonary vasoconstriction : the tale of two channels .

FASEB 1995 ; 9 : 183 - 9 .

- 16 - DESFRERE L, FARHAT M, JARREAU PH, MOHANNA O, MORIETTE G .

Monoxyde d' azote en réanimation néonatale .

Ann Pédiatr ( Paris ) 1997 ; 44 : 405 - 11 .

- 17 - GASTON B, DRAZEN JM, LOSCALZO J, STAMLER JS .

The biology of nitrogen oxides in the airways .

Am J Respir Crit Care Med 1994 ; 149 : 538 - 51 .

- 18 - BECKMAN JS, BECKMAN TW, MARSHALL PA .

Apparent hydroxyl radical production by peroxynitrite : implications for endothelial injury from nitric oxide and superoxide .

Proc Natl Acad Sci USA 1990 ; 87 : 1620 - 24 .

- 19 - ACCURSO FJ, WILKENING RB .

Temporal response of the fetal pulmonary circulation to pharmacologic vasodilators .

Proc Soc Exp Biol Med 1988 ; 187 : 89 - 98 .

- 20 - ABMAN SH, ACCURSO FJ .

Sustained fetal pulmonary vasodilatation with prolonged atrial natriuretic factor and GMP infusions .

Am J Physiol 1991 ; 260 : H 183 - 92 .

- 21 - MERCIER JC, THEBAUD B, de LAGAUSIE P, TUAN DINH - XUAN A

et le groupe français pédiatrique d' étude du NO inhalé .

Monoxyde d' azote et régulation de la circulation pulmonaire fœtale et néonatale .

Arch Pédiatr 1996 ; 3 (suppl 1 ) : 280s - 83 s .

- 22 - HALBOWER AC, TUDER RM, FRANKLIN WA et al .

Maturation - related changes in endothelial nitric oxide synthase immunolocalization in developing ovine lung .

Am J Physiol 1994 ; 267 : L 585 - 91 .

- 23 - FINEMAN JR, HEYMANN MA, SOIFER SJ .

N - nitro - L - arginine attenuates endothelium - dependent pulmonary vasodilatation in lambs .

Am J Physiol 1991 ; 260 : H 1299 - 306 .

- 24 - ZIEGLER JW, IVY DD, KINSELLA JP et al .

Dipyridamole, a cGMP phosphodiesterase inhibitor, causes pulmonary vasodilatation in ovine fetus .

Am J Physiol 1995 ; 269 : H 473 - 9 .

- 25 - CASSIN S, KRISTOVA V, DAVIS T et al .

Tone - dependent responses to endothelin in the isolated perfused fetal sheep pulmonary circulation in situ .

J Appl Physiol 1991 ; 70 : 1228 - 34 .

- 26 - IVY DD, KINSELLA JP, ABMAN SH .

Physiologic characterization of endothelin A and B receptor activity in the ovine fetal pulmonary circulation .

J Clin Invest 1994 ; 93 : 2141 - 8 .

- 27 - KOUREMBANAS S, MC QUILLAN LP, LEUNG GK, FALLER DV .

Nitric oxide regulates the expression of vasoconstrictors and growth factors by vascular endothelium under both normoxia and hypoxia .

J Clin Invest 1993 ; 92 : 99 -104 .

- 28 - TEITEL DF, IWAMOTO HS, RUDOLPH AM .

Effects of birth - related events on central blood flow patterns .

Pediatr Res 1987 ; 22 : 557 - 66 .

- 29 - VELVIS H, MOORE P, HEYMANN MA .

Prostaglandin inhibition prevents the fall in pulmonary vascular resistance as a result of rhythmic distension of the lungs in fetal lambs .

Pediatr Res 1991 ; 30 : 62 - 8 .

- 30 - MOORE P, VELVIS H, FINEMAN JR, SOIFER SJ, HEYMANN MA .  
EDRF inhibition attenuates the increase in pulmonary blood flow due to oxygen ventilation in fetal lamb .  
J Appl Physiol 1992 ; 73 : 2151 - 7 .
- 31 - RANJAN V, XIAO Z, DIAMOND SL .  
Constitutive NOS expression in cultured endothelial cells is elevated by fluid shear stress .  
Am J Physiol 1995 ; 269 : H 550 - 5 .
- 32 - CORNFIELD DN, STEVENS T, MCMURTRY IF, ABMAN SH, RODMAN DM .  
Acute hypoxia causes membrane depolarization and calcium influx in fetal pulmonary artery smooth muscle cells .  
Am J Physiol 1994 ; 266 : L 469 - 75 .
- 33 - ABMAN SH, SHANLEY PF, ACCURSO FJ .  
Failure of postnatal adaptation of the pulmonary circulation after chronic intrauterine pulmonary hypertension in fetal lambs .  
J Clin Invest 1989 ; 83 : 1849 - 58 .
- 34 - MCQUESTON JA, KINSELLA JP, IVY DD, MCMURTRY IF, ABMAN SH .  
Chronic pulmonary hypertension in utero impairs endothelium dependent vasodilatation .  
Am J Physiol 1995 ; 268 : H 288 - 94 .

- 35 - MORIN FC III .

Ligating the ductus arteriosus before birth remodels the pulmonary vasculature of the lamb .

Pediatr Res 1989 ; 25 : 251 - 7 .

- 36 - ZAYEK M, WILD L, ROBERTS JD, MORIN FC III .

Effect of nitric oxide on the survival rate and incidence of lung injury in newborn lambs with persistent pulmonary hypertension .

J Pediatr 1993 ; 123 : 947 - 52 .

- 37 - VILLAMOR E, HORAN M, TUDER RM, HALBOWER AC, ABMAN SH .

Chronic intrauterine pulmonary hypertension impairs normal development of endothelial nitric oxide synthase protein and activity in the ovine fetus . ( Abstract )

Pediatr Res 1996 ; 39 : 354 A .

- 38 - SHAUL PW, YUAHANNA IS, GERMAN Z, MORIN FC III .

Pulmonary endothelial nitric oxide synthase gene expression is decreased in a lamb model of neonatal pulmonary hypertension .( Abstract ) .

Pediatr Res 1996 ; 39 : 350 A .

- 39 - STEINHORN RH, RUSSEL JA, MORIN FC III .

Disruption of cGMP production in pulmonary arteries isolated from fetal lambs with pulmonary hypertension .

Am J Physiol 1995 ; 268 : H 1483 - 9 .

- 40 - HANSON KA, ABMAN SH, CLARKE WR .

Elevation of pulmonary PDE5 - specific activity in an experimental fetal pulmonary hypertension model . ( Abstract )

Pediatr Res 1996 ; 39 : 334 A .

- 41 - CORNFIELD DN, REEVE HL, TOLAROVA S, WEIR EK, ARCHER S .

Oxygen causes fetal pulmonary vasodilatation through activation of a calcium - dependent potassium channel .

Proc Natl Acad Sci USA 1996 ; 39 : 8089 - 94 .

- 42 - BELIK J, KERC E, PATO M .

Phosphatase, the enzyme responsible for pulmonary muscle relaxation is decreased in the persistent pulmonary hypertension of the newborn fetal sheep model . ( Abstract )

Pediatr Res 1995 ; 37 : 326 A .

- 43 - BOUCHET M, RENAUDIN MH, RAVEAU C, MERCIER JC, DEHAN M .

Safety requirement for use of inhaled nitric oxide .

Lancet 1993 ; 341 : 968 - 69 .

- 44 - RIMAR S, GILLIS CN .

Selective pulmonary vasodilatation by inhaled nitric oxide is due to hemoglobin inactivation .

Circulation 1993 ; 88 : 2884 - 7 .

- 45 - FRANCOISE M, GOUYON JB, MERCIER JC .

Hemodynamics and oxygenation changes by the discontinuation of low - dose inhalational nitric oxide in newborn infants .

Intens Care Med 1996 ; 22 : 477 - 81 .

- 46 - MERCIER JC, DEHAN M .

Inhalation nitric oxide in persistent pulmonary hypertension of the newborn . Result of the French multicenter open study .

Am J Resp Crit Care Med 1994 ; 149 : A 545 .

- 47 - TURBOW R, WAFFARN F, YANG L, SILLS J, HALLMAN M .

Variable oxygenation response to inhaled nitric oxide in severe persistent pulmonary hypertension of the newborn .

Acta Paediatr 1995 ; 84 : 1305 - 08 .

- 48 - KINSELLA P, NEISH S, IVY D, SHAFFER E, ABMAN S .

Clinical responses to prolonged treatment of persistent pulmonary hypertension of the newborn with low doses of inhaled nitric oxide .

J Pediatr 1993 ; 7 : 103 - 8 .

- 49 - FINER N, ETCHES P, KAMSTRA B, TIERNEY A, PELIOWSKI A,  
RYAN A .

Inhaled nitric oxide in infants referred for extracorporeal membrane oxygenation : dose response .

J Pediatr 1994 ; 2 : 302 -8 .



- 50 - ROZE JC, STORME L, ZUPAN V, MORVILLE P, DINH - XUAN AT, MERCIER JC .  
Echocardiographic investigation of inhaled nitric oxide in newborn babies with severe hypoxaemia .  
Lancet 1994 ; 7 : 303 - 5 .
- 51 - SZABO C, THIEMERMANN C, WU C, PERRETTI M, VANE J .  
Attenuation of the induction of nitric oxide synthase by endogenous glucocorticoids account for endotoxin tolerance in vivo .  
Proc Natl Acad Sci 1994 ; 91 : 271 - 5 .
- 52 - GOLDMAN A, TASKER R, HAWORTH S, SIGSTON P, MACRAE D .  
Four patterns of response to inhaled nitric oxide for persistent pulmonary hypertension of the newborn .  
Pediatrics 1996 ; 98 : 706 -13 .
- 53 - SKIMMING J, BENDER K, HUTCHISON A, DRUMMOND H .  
Nitric oxide inhalation in infants with respiratory distress syndrome .  
J Pediatr 1997 ; 130 : 225 -30 .
- 54 - ROBERTS J, FINEMAN J, MORIN F, SHAUL P et al .  
Inhaled nitric oxide and persistent pulmonary hypertension of the newborn .  
New Eng J Med 1997 ; 336 : 605 -10 .
- 55 - THE NEONATAL INHALED NITRIC OXIDE STUDY GROUP .  
Inhaled nitric oxide in full - term and nearly full - term infants with hypoxic respiratory failure .  
New Engl J Med 1997 ; 336 : 597 - 604 .

- 56 - KINSELLA J, TRUOG W, WALSH W et al .

Randomized, multicenter trial of inhaled nitric oxide and high -  
frequency oscillatory ventilation in severe, persistent pulmonary  
hypertension of the newborn .

J Pediatr 1997 ; 131 : 55 - 62 .

- 57 - KINSELLA J, WALSH W, BOSE C et al .

Inhaled nitric oxide in premature neonates with severe hypoxæmic  
respiratory failure : a randomised controlled trial .

Lancet 1999 ; 354 : 1061 - 65 .

- 58 - THE FRANCO - BELGIUM COLLABORATIVE NO TRIAL GROUP .

Early compared with delayed inhaled nitric oxide in moderately  
hypoxæmic neonates with respiratory failure : a randomised  
controlled trial .

Lancet 1999 ; 354 : 1066 - 71 .

- 59 - HOEHN T, KRAUSE M, BUHRER C .

Inhaled nitric oxide in premature infants - a meta - analysis .

J. Perinat. Med 2000 ; 28 : 7 - 13 .

- 60 - ZIEGLER JW, IVY DD, KINSELLA JP, WIGGINS JW, ABMAN SH .

Hemodynamic effects of dipyridamole and inhaled nitric oxide in  
patients with severe pulmonary hypertension . ( Abstract )

Pediat Res 1996 ; 39 : 40A .

- 61 - IVY DD, PARKER TA, ZIEGLER JW et al .

A receptor blockade attenuates chronic intrauterine pulmonary hypertension .

J Clin Invest 1997 ; 99 : 1179 - 86 .

- 62 - KARAMANOUKIAN HL, GLICK PL, WILCOX DT, ZAYEK M, ROSS -  
MAN J, MORIN FC III .

Quantification of endothelium - dependent and endothelium independent dilatation of the pulmonary circulation in CDH .

( Abstract )

Pediat Res 1994 ; 35 : 85A .

- 63 - KARAMANOUKIAN HL, GLICK PL, WILCOX DT, O'TOOLE SJ ,  
ROSSMAN JE, AZIZKHAN RG .

Pathophysiology of congenital diaphragmatic hernia XI : anatomic and biochemical characterization of the heart in the fetal lamb CDH model .

J Pediatr Surg 1995 ; 30 : 925 - 9 .

- 64 - STAVERT D, LEHNERT B .

Nitric oxide and nitrogen dioxide as inducers of acute pulmonary injury when inhaled at relatively high concentrations for brief periods .

Inhal Toxicol 1990 ; 2 : 53 - 67 .

- 65 - SAMAMA CM, DIABY M, FELLAHI JL et al .

Inhibition of platelet aggregation by inhaled nitric oxide in patients with adult respiratory distress syndrome .

Anesthesiology 1995 ; 83 : 56 - 65 .

- 66 - GEORGE T, JOHNSON K, BATES J, SEGAR J .

The effect of inhaled nitric oxide therapy on bleeding time and platelet aggregation in neonates .

J Pediatr 1998 ; 4 : 731 - 734 .

- 67 - WINK DA, KASPRZAK KS, MARAGOS CM ET AL .

DNA deaminating ability and genotoxicity of nitric oxide and its progenitors .

Science 1991 ; 254 : 1001 - 3 .

- 68 - KIMBERLY B, NEJADNIK B, GIRAUD GD, HOLDEN WE .

Nasal contribution to exhaled nitric oxide at rest and during breath - holding in humans .

Am J Respir Crit Care Med 1996 ; 153 : 829 - 36 .

- 69 - TSUJI M, HIGUCHI Y, SHIRAISHI K et Al .

Protective effect of aminoguanidine on hypoxic - ischemic brain damage and temporal profile of brain nitric oxide in neonatal rat .

Pediat Res 2000 ; 47 : 79 - 83 .

-70 - MARKS K, MALLARD C, ROBERTS I, MILLIAMS C, GLUCKMAN P,  
EDWARDS D .

Nitric oxide synthase inhibition and delayed cerebral injury after  
cerebral ischemia in fetal sheep .

Pediat Res 1999 ; 46 : 8 - 13 .

- 71 - GROENENDAAL F, DE GRAAF R, VAN VLIET G, NICOLAY K .

Effects of hypoxia - ischemia and inhibition of nitric oxide synthase  
on cerebral energy metabolism in newborn piglets .

Pediat Res 1999 ; 6 : 827 - 33 .

- 72 - CHEUNG PY, SALAS E, ETCHES PC, PHILLIPOS E, SCHUTZ R,  
RADOMSKI MW .

Inhaled nitric oxide and inhibition of platelet aggregation in critically  
ill neonates .

Lancet 1998 ; 351 : 1181 - 2 .

- 73 - VAN MEURKS KP, RHINE WD, ASSELIN JM et al .

Response of premature infants with severe respiratory failure to  
inhaled nitric oxide .

Pediatr Pulmonol 1997 ; 24 : 319 - 23 .

- 74 - KAZUO MOMMA, MANATOMO TOYONO .

The role of nitric oxide in dilating the fetal ductus arteriosus in rats .

Pediat Res 1999 ; 3 : 311 - 15 .

VU

NANCY, le **6 MARS 2000**

Le Président de Thèse

Professeur **J.M. HASCOET**

NANCY, le **17 MARS 2000**

Le Doyen de la Faculté de Médecine

Professeur **J. ROLAND**

AUTORISE À SOUTENIR ET À IMPRIMER LA THÈSE

NANCY, le **23 MARS 2000**

LE PRÉSIDENT DE L'UNIVERSITÉ DE NANCY 1

Professeur **C. BURLET**



---

## RESUME DE LA THESE

Le monoxyde d' azote est bien reconnu comme un effecteur biologique important dans de multiples fonctions physiologiques .

En néonatalogie, l' utilisation du monoxyde d' azote par voie inhalée a permis d' améliorer significativement le pronostic des nouveau - nés à terme présentant une hypoxémie réfractaire . Une analyse synthétique de la littérature confirme que d' une part le monoxyde d' azote améliore le rapport ventilation / perfusion par son effet vasodilatateur pulmonaire sélectif, et que d' autre part, il a une action synergique avec l' amélioration de la ventilation alvéolaire .

Par ailleurs, la réponse au monoxyde d' azote inhalé dépend de la pathologie sous - jacente .

Enfin, en plus de l' hypoxémie réfractaire, le monoxyde d' azote s' est révélé efficace à court terme chez les nouveau - nés à terme souffrant d' hypo - xémie sévère .

En ce qui concerne les nouveau - nés prématurés, la question de l' efficacité et de la tolérance du monoxyde d' azote reste posée compte - tenu de leur immaturité . En effet, plusieurs études expérimentales et quelques études cliniques ont fait état d' effets secondaires délétères potentiels du monoxyde d' azote inhalé .

Ces interrogations justifient un travail approfondi, dévolu aux prématurés, étudiant l' efficacité et la tolérance du monoxyde d' azote inhalé . Ce travail présente un protocole de recherche clinique prospectif, multicentrique destiné à répondre à ces questions .

---

### TITRE EN ANGLAIS :

NHALED NITRIC OXIDE USE IN MODERATELY HYPOXÆMIC PREMATURE INFANTS .

Basic data and set up of a clinical research protocol .

---

### THESE : MEDECINE SPECIALISEE - ANNEE 2000

---

**Mots clefs :** monoxyde d' azote, hypoxémie réfractaire, nouveau - né à terme, hypoxémie sévère, nouveau - né prématuré, protocole de recherche clinique .

---

**Faculté de Médecine de Nancy**

9, avenue de la forêt de Haye

54505 - VANDOEUVRE LES NANCY Cédex

---