

Imagerie RMN *in utero* pour la détection non invasive de l'hypoxie aigüe sur modèle ratte

Guy Bielicki¹, Cécile Keller¹ et Amidou Traoré¹

Résumé : *De nos jours, il n'existe pas encore de méthode spécifique et non invasive pour la détection intra-utérine de l'hypoxie aigüe chez le fœtus. L'intérêt de l'IRM (imagerie par résonance magnétique) utilisant le contraste BOLD (blood oxygenation level dependent) a été démontré chez la brebis gravide durant l'hypoxie. Ce modèle a été choisi car il donne un reflet des échanges materno-fœtaux sur un mode hémochorial plus proche du modèle humain, contrairement à la brebis. (Carter A.M., 2007, Animal models of human placentation-a review. Placenta; 28, Suppl. A:S41-7). Le but de notre étude était d'évaluer, chez la ratte, la faisabilité de la détection de l'hypoxie fœtale de manière non invasive en utilisant la variation du signal BOLD du cerveau des fœtus dans les conditions d'hypoxie de la mère. Le modèle ratte permet l'étude sur un grand nombre d'animaux. Pour cela, nous avons exploité la relation entre le paramètre tissulaire T_2^* et le signal BOLD par la création et l'analyse d'images paramétriques T_2^* du cerveau de fœtus dans les conditions de normoxie et d'hypoxie de la ratte gravide.*

Mots clés : Ratte gravide, hypoxie, souffrance fœtale, IRM, effet bold, T_2^*

Introduction

En dépit des avancées majeures dans les technologies de monitoring et des connaissances en médecine fœtale et périnatale, l'asphyxie périnatale demeure l'une des principales causes de mortalité et de morbidité à long terme. A l'heure actuelle, Il n'existe, aucun autre moyen non invasif de surveillance du fœtus à membranes fermées que l'enregistrement de sa fréquence cardiaque.

Au sein de la plateforme « Centre Auvergne de résonance magnétique des systèmes biologiques » nous avons mené, en collaboration avec le Pôle d'obstétrique et gynécologie de l'université de Clermont Ferrand, une étude utilisant l'IRM pour valider sur un modèle animal, la détection et l'exploration biochimique de l'hypoxie du fœtus de manière non invasive et non irradiante. La méthode est basée sur l'effet BOLD. L'IRM utilisant le contraste BOLD exploite la variation du signal en fonction du degré d'oxygénation du sang. C'est une technique puissante et largement utilisée pour l'étude non invasive de l'activité cérébrale aussi bien chez l'homme que chez l'animal (Logothetis N.K, 2003 ; Matthews P.M. et Jezzard P., 2004). Ce contraste repose sur la distribution des inhomogénéités du champ magnétique au voisinage des vaisseaux sanguins en fonction de l'équilibre entre les deux états de l'hémoglobine : l'oxyhémoglobine et la déoxyhémoglobine. L'augmentation du flux sanguin local consécutive à une activité cérébrale entraîne une augmentation du degré d'oxygénation du sang et par conséquent, une diminution de la concentration du paramagnétique déoxyhémoglobine. Il en résulte une augmentation de l'intensité du signal IRM. Ces changements détectables dans les images pondérées en T_2^* (contraste BOLD) sont

¹ INRA UR 370 QuaPA - Plateforme RMN des systèmes biologiques - F- 63122 Saint-Genès Champanelle.
gb@clermont.inra.fr, ckeller@clermont.inra.fr, atraore@clermont.inra.fr

alors interprétés comme une mesure indirecte de l'activité neuronale. L'effet BOLD peut être quantifié par la différence des T_2^* entre les deux états, repos et activé. Dans cette étude, nous formulons l'hypothèse que l'hypoxie chez la ratte gravide devrait s'accompagner d'une diminution de l'oxygénation du cerveau des fœtus, donc d'une diminution du T_2^* cérébral. La différence des T_2^* (ΔT_2^*) du cerveau fœtal sera considérée comme une mesure de l'hypoxie.

1. Description détaillée du matériel et/ou de la méthode

1.1 Animaux

Nous avons réalisé les expériences sur 6 rattes gravides (20-21 jours de gestation). Les animaux ont été anesthésiés par l'inhalation d'un mélange 0,3 l/mn oxygène avec 0,7 l/mn air médical et isoflurane 2 % (1,5 à 2,5 %). Ce mélange assure une fréquence respiratoire moyenne à 67 BPM. Avec notre système de contention, nous avons placé la ratte en décubitus dorsal, au centre magnétique de l'aimant, l'antenne de surface positionnée sur son abdomen. Le protocole d'induction de l'hypoxie était le suivant : un mélange oxygène (41,7 %)/azote (58,3 %) pour la condition normoxique avec l'obtention d'une saturation en oxygène de 97 % du sang maternel. Tandis que la condition hypoxique est obtenue par un mélange 15 % oxygène et 85 % azote résultant en une saturation moyenne en oxygène de 63 %. Le temps moyen d'obtention d'une hypoxie stable était de 120 secondes après le début de l'induction. Ceci a été vérifié par un contrôle de la désaturation maternelle par un oxymètre de pouls placé sur la langue maternelle, et confirmé par une mesure des lactates sanguins. L'installation de l'hypoxie est accompagnée d'une cyanose et de l'augmentation de la fréquence respiratoire moyenne de la ratte de 67 cycles/mn à 76 cycles/mn.

1.2 Outil RMN

Toutes les mesures IRM ont été réalisées sur un aimant horizontal 4,7 T (Biospec 47/40, Bruker, Ettlingen, Allemagne) d'un diamètre horizontal de 40 cm et équipé d'un système de gradients rapides (Bruker, BGA12 200 mT/m) dont le diamètre interne est de 11,6 cm. L'antenne de surface Bruker ^1H ayant un diamètre interne de 5 cm a été utilisée aussi bien pour l'émission du signal RF que pour la réception du signal. Toutes les images ont été acquises en utilisant un champ de vue (FOV) $2,90 \times 7 \text{ cm}^2$. Après acquisition d'images pilotes, la localisation des cerveaux de fœtus est obtenue par l'acquisition de 30 images transversales de haute résolution (matrice 128×256 , 2 mm d'épaisseur) couvrant l'ensemble de l'abdomen de la ratte (**figure 1**).

Pour caractériser l'effet BOLD en fonction de l'état d'hypoxie, le même volume (30 coupes de 2 mm d'épaisseur) est couvert en utilisant la séquence multi-gradient-écho MGE (Ma J. et Wehrli F.W., 1996). Pour chaque coupe, 6 images sont acquises avec 6 temps d'écho (TE) différents de 2,62 à 32,62 ms, par pas de 6 ms afin de générer des cartes T_2^* .

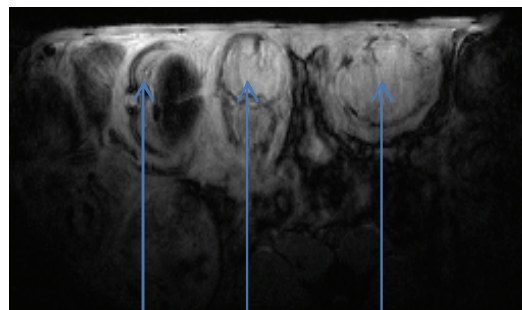


Figure 1 : Image pour la localisation des fœtus.

Les autres paramètres d'acquisition sont : TR/TE = 2 000/2,62 à 32,62 ms, angle de bascule = 90°, matrice = 128 × 256 et 4 accumulations pour augmenter le rapport signal sur bruit. Dans ces conditions, on obtient 180 images pour une durée totale d'acquisition de 34 mn. Pour chaque animal, la session BOLD est constituée par 34 mn d'acquisition en état normoxique (n) suivie de 34 mn d'acquisition après induction et stabilisation de l'hypoxie (h).

1.3 Outils de traitement

Les images ont été transférées pour être analysées sur une station de travail IRIX O2 (Silicon Graphics Inc., Mountain View, CA) à l'aide d'une plateforme logicielle maison « Xstim » développée en utilisant la bibliothèque numérique IMSL (Visual Numerics, Inc., Houston, TX, USA). Nous présentons sur la **figure 2** les étapes de traitement. Pour chaque animal et pour chaque phase (normoxie et hypoxie), la décroissance des intensités de signal (SI) de chaque pixel (de chacune des 30 coupes transversales) en fonction du TE ont été ajustés avec l'expression $SI = S_0 \cdot \exp(-TE/T_2^*)$ en utilisant l'algorithme d'ajustement non linéaire basé sur les moindres carrés résiduels (NLLS). Les paramètres T_2^* ainsi déterminés donnent une image paramétrique T_2^* de la coupe.

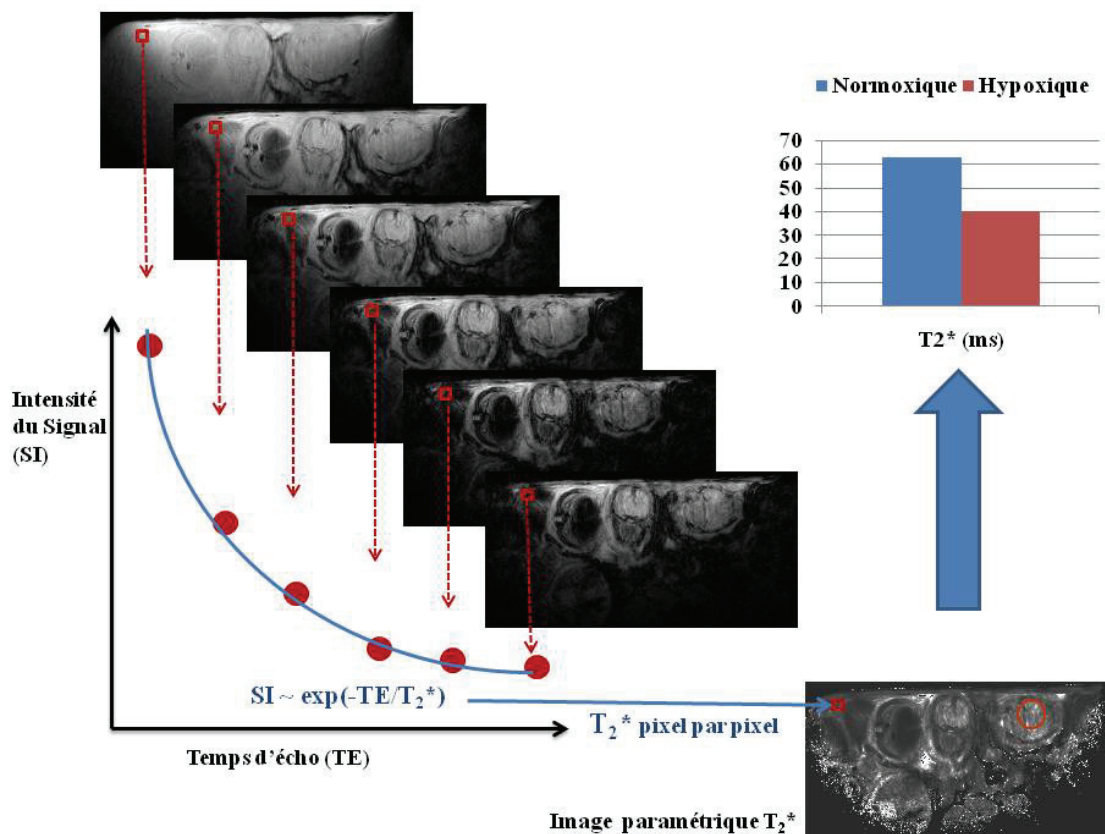


Figure 2 : Chaîne de traitement d'images

Construction de l'image paramétrique T_2^* à partir des images d'écho de gradient à différents temps d'écho. A gauche, 6 images d'une même coupe acquises aux différents TE et la courbe de schématisation du calcul du T_2^* pixel par pixel. En bas à droite, l'image paramétrique T_2^* générée. En haut à droite, un résultat de la variation du T_2^* de la ROI circulaire placée dans le cerveau d'un fœtus dans les conditions d'hypoxie de la ratte.

Afin de quantifier l'effet BOLD dû à l'oxymétrie, une région d'intérêt (ROI) circulaire a été positionnée sur le cerveau identifié d'un fœtus de chaque animal. Le T_2^* moyen de chaque ROI a été calculé pour les deux états. On obtient le pourcentage de variation du T_2^* , par la différence des T_2^* moyens des deux états rapportée au T_2^* moyen dans l'état normoxique : $\% \Delta T_2^* = (T_{2\text{hypoxique}}^* - T_{2\text{normoxique}}^*) / T_{2\text{normoxique}}^*$.

Les analyses statistiques ont été effectuées à l'aide du logiciel Statistica (Stat Soft Inc., Tulsa, OK, USA). La corrélation entre l'effet BOLD et l'état d'hypoxie maternel a été analysée pour chaque animal et pour l'ensemble des animaux. Les différences ont été considérées comme significatives pour des valeurs de $p < 0,05$.

2. Résultats et exemple d'application

Ce protocole d'imagerie permet d'observer *in utero* des fœtus et leur cerveau (**figure 1**). Ces résultats montrent que les mouvements respiratoires de la ratte n'affectent que faiblement la qualité des images ce qui nous a affranchis de l'utilisation de la synchronisation de l'acquisition sur la fréquence respiratoire. Nous présentons dans le **tableau 1** les résultats de mesures de T_2^* des cerveaux de fœtus dans les conditions de normoxie et d'hypoxie de la ratte. Pour toutes les rattes, l'induction de l'hypoxie s'accompagne d'une diminution du T_2^* des cerveaux fœtaux allant de 14 % à 56 %. Ces résultats montrent une corrélation entre la diminution de l'apport en oxygène à la ratte et la variation du signal BOLD telle que reflétée par la diminution du T_2^* du cerveau fœtal. Ces résultats suggèrent que l'IRM à contraste BOLD est un outil de diagnostic prometteur pour caractériser l'état d'oxygénation des organes fœtaux dans les grossesses à risque compliquées. En effet, l'invasion des trophoblastes qui précède les atteintes vasculaires placentaires à l'origine d'une forme d'hypoxie fœtale humaine a été récemment démontrée chez la ratte ; ce qui suggère que la ratte gravide pourrait devenir un excellent modèle expérimental dans l'étude de la réponse fœtale à l'hypoxie aiguë et chronique (Vercruyssen L. *et al.*, 2006).

Ratte	Normoxique	Hypoxique	$\% \Delta T_2^*$ (hypoxique)
#1	43,4 ± 8,3	23,6 ± 13,9	-46%
#2	68,4 ± 18,5	44,8 ± 17,4	-35%
#3	54,9 ± 11,2	37,9 ± 14,7	-31%
#4	43,6 ± 16,3	19,4 ± 14	-56%
#5	33,2 ± 17	28,7 ± 19,4	-14%
#6	68.3 ± 24.3	35.3 ± 19.7	-48%

Tableau 1 : T_2^* (ms) moyen des ROI de cerveaux de fœtus dans les deux conditions et % de variation de T_2^* induit par l'hypoxie.

Conclusion et perspectives

Nous avons montré que l'IRM à contraste BOLD était une technique bien adaptée pour appréhender l'hypoxie fœtale chez le modèle rat, puisque la baisse de signal T_2^* est contemporaine de l'apparition d'une hypoxie maternelle. Cela permet d'envisager des études plus larges pour, à terme, transposer la méthode chez l'homme. En plus de la variation du T_2^* , nous évaluons actuellement la possibilité de détecter l'hypoxie fœtale par des mesures en spectroscopie localisée du ^1H pour la détection des lactates et en ^{31}P pour déterminer le pH.

Bibliographie

- Carter A.M. (2007) Animal models of human placentation-a review. *Placenta*, 28 Suppl A:S41-7
- Logothetis N.K. (2003) MR imaging in the non-human primate: studies of function and of dynamic connectivity. *Curr Opin Neurobiol* 13:630-42
- Ma J., Wehrli F.W (1996) Method for image-based measurement of the reversible and irreversible contribution to the transverse-relaxation rate. *J Magn Reson B*. 111:61-9
- Matthews P.M., Jezzard P. (2004) Functional magnetic resonance imaging. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 75:6-12
- Vercruyse L., Caluwaerts S., Luyten C., Pijnenborg R. (2006) Interstitial trophoblast invasion in the decidua and mesometrial triangle during the last third of pregnancy in the rat. *Placenta* 27:22-33

