



UNIVERSITE DE LILLE
ECOLE DOCTORALE BIOLOGIE SANTE DE LILLE

Année : 2021

THESE D'UNIVERSITE
**Analyse de la variabilité du rythme cardiaque fœtal comme outil prédictif de l'hypoxie
fœtale et de l'encéphalopathie anoxo-ischémique.**
Étude expérimentale chez le fœtus de brebis.

Présentée et soutenue publiquement le 21 octobre 2021 par

Louise GHESQUIERE

Thèse dirigée par Monsieur le Professeur Charles Garabedian

Travail de recherche réalisé au sein de l'ULR 2694 METRICS – Evaluation des technologies
de santé et des pratiques médicales – Environnement périnatal et croissance

JURY

Rapporteurs :

Madame le Professeur Camille Le Ray

Monsieur le Professeur Christophe Vayssière

Jury :

Madame le Professeur Véronique Houfflin-Debarge

Monsieur le Professeur Charles Garabedian

Membre invité :

Monsieur le Docteur Julien De Jonckheere

A mon Directeur de Thèse

Monsieur le Professeur Charles Garabedian
Professeur de Gynécologie-Obstétrique de l'Université Lille Nord de France
Centre Hospitalier Universitaire de Lille, France
Hôpital Jeanne de Flandre - Clinique d'Obstétrique

Merci Charles pour ton accompagnement quotidien, ta disponibilité et ta bienveillance. Merci de m'avoir encadrée et fait confiance pour ce sujet de thèse d'université. Merci pour toutes les connaissances que tu m'as apportées sur la physiologie foetale. Ce fut un réel plaisir durant ces 3 années d'avoir des moments de réflexion et de partage sur ce sujet. J'ai beaucoup appris et je continuerai à beaucoup apprendre à tes côtés. Je suis ravie de faire partie de cette équipe.

Aux rapporteurs

Monsieur le Professeur Christophe Vayssière
Professeur de Gynécologie-Obstétrique de l'Université de Toulouse
CHU de Toulouse, France

Merci d'avoir accepté de juger ce travail, de votre disponibilité et de l'intérêt que vous avez porté à ce travail en tant qu'expert du rythme cardiaque fœtal. Qu'il soit l'expression de mon profond respect. J'espère que nous continuerons à échanger sur cette thématique au cours des prochaines années.

Madame le Professeur Camille Le Ray
Professeur de Gynécologie-Obstétrique de l'Université Paris V René Descartes
Maternité Port Royal, Hôpital Cochin, Paris, France

Merci d'avoir accepté de juger ce travail et pour vos commentaires au cours des différents moments d'échange qui ont permis de faire progresser ce projet de recherche. Que ce travail soit l'expression de mon admiration.

Aux autres membres du jury

Madame le Professeur Véronique Houfflin-Debarge
Professeur de Gynécologie-Obstétrique de l'Université Lille Nord de France
Centre Hospitalier Universitaire de Lille, France
Hôpital Jeanne de Flandre - Clinique d'Obstétrique

Merci de m'avoir accompagnée durant tout mon internat, mon clinicat et pour cette thèse d'université. Merci pour vos conseils et pour votre bienveillance. C'est avec plaisir que je fais maintenant partie de votre équipe et j'espère continuer avec vous durant de longues années.

Monsieur le Docteur Julien de Jonckheere
Docteur en traitement du signal
Centre Hospitalier Universitaire de Lille, France
CIC-IT 1403, Maison Régionale de la Recherche Clinique

Merci Julien pour ton aide et ta disponibilité durant ces années de master 2 et de thèse d'université. J'ai beaucoup appris grâce tes connaissances sur le traitement de signal et je t'en remercie. C'est un réel plaisir de pouvoir discuter avec toi et de poursuivre ces travaux de recherche avec toi.

A tous ceux et celles qui m'ont accompagné pendant ce travail

Le Professeur Laurent Storme,

Merci de m'avoir accompagné pendant tout ce travail et pour vos échanges toujours très enrichissants concernant la physiologie fœtale. C'est un plaisir de pouvoir discuter avec vous lors des réunions de laboratoire pour faire avancer nos protocoles et pour l'interprétation de nos résultats.

Les Docteurs Estelle Aubry et Dyuti Sharma,

Merci d'avoir opéré les brebis avec nous et de vous rendre si disponible. C'est grâce à vous que nous avons un modèle si robuste.

Roxane, Yasmine, Geoffroy, Delphine, Laure

Merci pour votre année de master 2 au sein de notre unité, pour vos travaux expérimentaux qui nous permettent de progresser dans la physiologie fœtale. Geoffroy et Laure, merci de poursuivre ces travaux avec vos thèses d'université.

Capucine Besengez,

Merci pour ton implication dans l'unité et d'avoir assuré toute la logistique des brebis.

Le Docteur Thomas Hubert et les animaliers (Martin, Arnold et Michel),

Merci à vous pour les soins apportés aux brebis, pour votre disponibilité et vos conseils.

Les participants au Lab Meeting du mercredi midi,

Merci pour ces échanges qui font avancer le projet.

L'équipe de biostatistique du CHU de Lille, et tout particulièrement Camille Ternynck et Elodie Drumez

Merci de nous avoir accompagné dans ses travaux et d'y avoir amené vos connaissances statistiques et mathématiques

Les brebis qui ont permis tous ces travaux de recherche pour avancer dans la physiologie fœtale.

A ma famille, *me soutenant depuis toujours dans ce parcours*

A mes amis et collègues,

Table des matières

Abréviations	10
Résumé	11
Abstract	13
Introduction et objectifs de la thèse	15
Partie 1 – Variabilité de la fréquence cardiaque, modèle expérimental et travaux précédents	17
1) Importance du système nerveux autonome (SNA) dans l'homéostasie fœtale.....	17
2) Analyse de la variabilité du rythme cardiaque fœtal (VFC).....	19
a) Définition.....	19
b) Analyse temporelle de la VFC.....	21
c) Analyse spectrale de la VFC.....	23
d) Fetal Stress Index (FSI).....	24
e) Autres méthodes.....	25
3) Modèle animal.....	26
a) Technique chirurgicale.....	26
b) Protocoles expérimentaux.....	29
4) Travaux antérieurs sur le FSI et l'hypoxie fœtale.....	32
a) Etude du FSI comme reflet du système nerveux autonome parasympathique et comparaison aux autres méthodes classiques.....	32
b) Evaluation du Fetal Stress Index comme outil prédictif de l'état acido-basique fœtal dans un modèle d'occlusion continue.....	34
c) Evaluation du Fetal Stress Index comme outil prédictif de l'état acido-basique fœtal dans un modèle d'occlusions complètes, brèves et répétées.....	36
d) Evaluation des méthodes d'analyse du système nerveux autonome pour la prédiction de l'état acido-basique fœtal.....	38
e) Synthèse des travaux antérieurs.....	43
Partie 2 – Utilisation du Machine Learning et des marqueurs de la fréquence cardiaque pour la prédiction de l'acidose fœtale.....	44
1) Introduction.....	44
a) Intelligence artificielle, Machine learning et Deep learning.....	44
b) Intelligence artificielle et machine learning pour l'analyse du RCF.....	47
2) Matériel et méthodes.....	50
a) Modèle chirurgical.....	50
b) Protocole expérimental.....	50
c) Mesure des paramètres gazométriques et hémodynamiques.....	51
d) Acquisition du RCF et traitement du signal ECG.....	52
e) Analyse statistique.....	54
3) Résultats.....	57
a) Caractéristiques de la population.....	57
b) Sélection des variables corrélées.....	58
c) Sélection des variables et prédiction de l'acidose.....	61
4) Discussion.....	64
a) Résultats principaux.....	64
b) Interprétation.....	64
c) Forces.....	68
d) Limites et perspectives.....	69
5) Conclusion.....	70

Partie 3 – Prédiction de l'encéphalopathie anoxo-ischémique : association entre variabilité de la fréquence cardiaque fœtale et lésions cérébrales dans un modèle d'occlusions cordales totales et répétées	71
1) Introduction.....	71
2) Physiopathologie du maintien du débit cérébral lors d'une hypoxémie.....	72
3) Matériel et méthodes.....	75
a) Modèle chirurgical.....	75
b) Protocole expérimental.....	75
c) Recueil et analyse de données.....	76
d) Analyse Statistique.....	78
4) Résultats.....	79
a) Analyse histologique.....	80
b) Paramètres gazométriques et lésions cérébrales.....	81
c) Paramètres hémodynamiques et lésions cérébrales.....	82
d) Paramètres de la VFC et lésions cérébrales.....	84
5) Discussion.....	89
a) Résultats principaux.....	89
b) Interprétation.....	89
c) Forces et limites.....	93
6) Conclusion.....	94
Partie 4 : Etudes ancillaires.....	95
A/ Enregistrement de l'électro-encéphalogramme (EEG) fœtal: nouvelle technique de pose des électrodes.	
1) Introduction.....	96
2) Matériel et méthodes.....	97
a) Modèle chirurgical.....	97
b) Protocole expérimental.....	97
3) Résultats.....	100
4) Discussion.....	104
a) Résultats principaux.....	104
b) Interprétation.....	104
c) Forces et limites.....	106
d) Perspective.....	106
5) Conclusion.....	107
B/ Dosage de la protéine S100B et des troponines dans un modèle d'acidose fœtale.	
1) Introduction.....	108
2) Matériel et méthodes.....	109
a) Modèle chirurgical.....	109
b) Protocole expérimental.....	109
c) Analyse statistique.....	110
3) Résultats.....	111
a) Paramètres gazométriques et hémodynamiques.....	111
b) Paramètres biologiques.....	113
4) Discussion.....	113
a) Résultats principaux.....	113
b) Interprétation.....	114
c) Forces et limites.....	116
5) Conclusion.....	117
Conclusion – Perspectives.....	117
Références	124
Publications.....	137

Abréviations

ApEn	Entropie approximative (Approximate Entropy)
AUC	Area under the curve (aire sous la courbe)
BPM	Battements par minute
CIC-IT	Centre d'Investigation Clinique et d'Innovation Technologique
CTG	Cardiotocographe
c-TnT	Troponine T cardiaque
CU	Contractions utérines
EAI	Encéphalopathie anoxo-ischémique
ECG	Electro cardiogramme
ECOG	Electro corticogramme
EEG	Electro encéphalogramme
EN	Encéphalopathie néonatale
FC	Fréquence cardiaque
FSI	Fetal Stress Index
GDS	Gaz du sang
HF	High Frequencies – Hautes fréquences de la variabilité du rythme cardiaque
IAMax	Index d'amplitude maximale
IAMin	Index d'amplitude minimale
IL6	Interleukine 6
IMOC	Infirmité motrice cérébrale
LF	Low Frequencies – Basses fréquences de la variabilité du rythme cardiaque
LPS	Lipopolysaccharide
NN	Intervalle « normal to normal »
OCT	Occlusions cordinales totales
PAM	Pression Artérielle Moyenne
PO2	Pression en oxygène
PCO2	Pression en dioxyde de carbone
RCF	Rythme cardiaque foetal
RMSSD	Racine Carrée de la moyenne des carrés des différences entre intervalles NN (« normal to normal ») successifs
SampEn	Entropie échantillonnée (Sample Entropy)
SD1	Déviations Standard 1 (Standard Deviation 1)
SD2	Déviations Standard 2 (Standard Deviation 2)
SDNN	Déviations Standard entre intervalles NN (« normal to normal ») successifs
SEF	Spectral Edge Frequency
SNA	Système nerveux autonome
SNC	Système nerveux central
VCT	Variabilité à court terme
VFC	Variabilité de la fréquence cardiaque fœtale
VLT	Variabilité à long terme

Résumé

Introduction : La prévention de l'encéphalopathie anoxo-ischémique (EAI) pendant le travail est une préoccupation majeure en salle de naissance. Une acidose néonatale sévère est un des critères pour définir une asphyxie fœtale. Elle est associée à un risque de lésions cérébrales. Actuellement les moyens de surveillance pendant le travail ne permettent pas de dépister correctement ces situations à risque d'hypoxie et/ou de lésions cérébrales. L'analyse de la variabilité de la fréquence cardiaque (VFC) fœtale semble être une piste intéressante pour le dépistage de ces situations. Notre équipe a développé un marqueur d'analyse de la VFC, le Fetal Stress Index (FSI). L'objectif de ce travail était en première partie d'évaluer l'utilisation des différents marqueurs du rythme cardiaque fœtal dans des systèmes automatisés (machine learning) pour mieux prédire l'acidose fœtale, et en deuxième partie d'évaluer l'utilisation de la VFC dans le dépistage des lésions d'EAI.

Matériel et Méthodes : Nous avons réalisé une étude expérimentale chez le fœtus de brebis à terme. Des occlusions du cordon ombilical totales (OCT) répétées étaient réalisées selon différentes phases (phase A, B et C) pour obtenir une acidose fœtale sévère. Les paramètres hémodynamiques, l'ECG et les gaz du sang étaient analysés. L'ECG permettait l'analyse des paramètres de la VFC. Le gold standard utilisé pour classer l'hypoxie était le pH artériel fœtal ($\text{pH} < 7,10$). Une analyse anatomopathologique des cerveaux des fœtus de brebis était réalisée 48h après les manipulations pour l'évaluation des lésions cérébrales. Les méthodes statistiques de machine learning utilisées pour le dépistage de l'acidose étaient la régression logistique et les arbres décisionnels. L'association entre les lésions cérébrales et les différents paramètres était étudiée selon les différentes phases d'occlusion à l'aide d'un test rho de Spearman.

Résultats : 21 agneaux ont été instrumentés. 132 couples analyse du rythme cardiaque fœtal / pH fœtal ont été obtenus dont 29 dans le groupe acidose et 103 dans le groupe non acidose. Un modèle de régression logistique, avec une sélection « backward » des variables, permettait d'obtenir une AUC de 0.73 avec une sensibilité à 0,59 et une spécificité à 0,83. Par cette méthode, seule la variable FSI était sélectionnée. Aucun seuil permettant de prédire l'acidose n'a pu être déterminé. En utilisant les arbres décisionnels, on obtenait une spécificité de 0,96 à 0,99 et une sensibilité de 0,56 à 0,59. La première variable sélectionnée pour classer les enregistrements en acidose ou non acidose était le FSI.

Dans la seconde partie du travail, 9 cerveaux ont été analysés. Des lésions cérébrales d'EAI étaient présentes chez 7/9 fœtus avec des lésions du tronc cérébral observées chez 3/9 fœtus. Le FSI, la variabilité à long terme (VLT) et la variabilité à court terme (VCT) étaient significativement corrélés au nombre de lésions du tronc cérébral en phase C pour le FSI ($r=-0,784$; $p=0,021$) et en phase B pour la VLT ($r=-0,677$; $p=0,045$) et la VCT ($r=-0,837$; $p=0,005$). On retrouvait une corrélation significative entre les lésions cérébrales et les variations de pression artérielle moyenne durant les occlusions. Il n'y avait pas de corrélation significative entre les lésions cérébrales et les autres marqueurs de la VFC ainsi qu'avec les marqueurs gazométriques dont le pH.

Conclusion : Les modèles de machine learning ne semblaient pas améliorer le dépistage de l'acidose fœtale. Les variables principales sélectionnées automatiquement dans ces modèles étaient celles de la VFC dont le FSI comme variable d'entrée dans les modèles. L'acidose fœtale n'était pas corrélée aux lésions d'EAI. Seuls certains paramètres de la VFC (FSI, VCT, VLT) étaient corrélés aux lésions d'EAI. Ainsi la VFC ne permettrait pas une bonne prédiction de l'acidose fœtale mais permettrait le dépistage des situations à risque d'EAI.

Abstract

Introduction: Prevention of hypoxic-ischemic encephalopathy (HIE) during labor is a major concern in the delivery room. Severe neonatal acidosis is one of the major criteria for defining fetal asphyxia and is associated with a risk of brain damage according to some studies. Currently, the means of monitoring during labor do not allow for the correct detection of these situations at risk of hypoxia and/or brain damage. The analysis of the fetal heart rate variability (HRV) seems to be an interesting way to detect these situations at risk. Our team has developed a marker of analysis of HRV, the Fetal Stress Index (FSI). It seems to predict better the occurrence of fetal acidosis than the other parameters of HRV, but in an imperfect way. The objective of this work was first to evaluate the use of different markers of fetal heart rate in automated systems such as machine learning to better predict fetal acidosis, and second to evaluate the use of markers of HRV analysis in the detection of HIE lesions.

Material and Methods: We performed an experimental study in term fetal sheep. Repeated total umbilical cord occlusions (UCO) in different phases (phase A, B and C) were performed to achieve severe fetal acidosis. Hemodynamic parameters, ECG, and blood gases were analyzed. The ECG allowed analysis of HRV parameters. The fetal heart rate variables used were heart rate, HRV analysis, slope, and deceleration amplitude. The gold standard used to classify hypoxia was fetal arterial pH ($\text{pH} < 7.10$). Pathological analysis of fetal brains was performed 48 h after the manipulations for assessment of brain damage. Statistical machine learning methods used for acidosis screening were logistic regression and decision trees. The association between brain damage and the different parameters was studied according to the different phases of occlusion using a Spearman's rho test.

Results: 21 fetal sheep were instrumented. A total of 132 fetal heart rate/fetal pH pairs were obtained, of which 29 in the acidosis group and 103 in the non-acidosis group. A logistic regression model, with a "backward" selection of the variables, allowed to obtain an AUC of 0.73 with a sensitivity of 0.59 and a specificity of 0.83. With this method, only the FSI variable was selected. No threshold to predict acidosis could be determined. Using decision trees, a specificity of 0.96 to 0.99 and a sensitivity of 0.56 to 0.59 were obtained. The first variable selected to classify the recordings as acidosis or no acidosis was the FSI.

In the second part of the work, 9 brains were analyzed for pathology. HIE brain lesions (all regions combined) were present in 7/9 fetuses with brainstem lesions observed in 3/9 fetuses. FSI, long-term variability (LTV) and short-term variability (STV) were significantly correlated with the number of brainstem lesions in phase C for FSI ($r=-0.784$; $p=0.021$) and in phase B for LTV ($r=-0.677$; $p=0.045$) and STV ($r=-0.837$; $p=0.005$). There was also a significant correlation between brain injury and mean arterial pressure changes during occlusions. There was no significant correlation between brain injuries and other markers of HRV and gas markers including pH.

Conclusion: Machine learning models did not appear to improve the detection of fetal acidosis. The main variables automatically selected in these models were those of the HRV, including the FSI as input variable in the models. Fetal acidosis was not correlated with HIE lesions. Only some parameters of HRV (FSI, STV, LTV) were correlated with HIE lesions. Thus, HRV would not be a good predictor of fetal acidosis but would allow the detection of situations at risk of HIE lesions.

Introduction et objectifs de la thèse

La prévention de l'encéphalopathie néonatale (EN) pendant le travail est une préoccupation majeure en salle de naissance. Son incidence est estimée à 2-6/1000 naissances à terme dans les pays développés (1). Dans ces pays, 30% des cas d'encéphalopathie néonatale sont liés à une hypoxie périnatale (2). Une acidose néonatale sévère, définie par un pH au cordon $<7,0$, est un des critères majeurs pour définir une asphyxie fœtale et est associée à un risque accru de lésions cérébrales hypoxiques et ischémiques (3).

La surveillance fœtale actuelle pendant le travail a pour objectif de dépister ces situations à risque d'hypoxie et repose essentiellement sur l'enregistrement du rythme cardiaque fœtal (RCF). Cependant, son analyse subjective ne permet pas d'évaluer de manière satisfaisante le risque d'hypoxie et d'acidose néonatale (4). Des examens de seconde ligne sont alors nécessaires pour caractériser l'état fœtal (pH ou lactates au scalp, pose d'électrode au scalp). Ces techniques sont néanmoins invasives et sont soumises à des contraintes techniques (patiente en travail, présentation céphalique, dilatation cervicale suffisante et rupture de la poche des eaux). Il y a donc un intérêt à développer des moyens d'évaluation du bien être fœtal à la fois objectifs, non invasifs et prédictifs du risque d'asphyxie fœtale. D'autres techniques sont en cours d'évaluation. L'analyse de la variabilité de la fréquence cardiaque (VFC) fœtale semble une piste intéressante (5). La fréquence cardiaque est sous la dépendance du système nerveux autonome (SNA). Le système sympathique augmente la fréquence cardiaque tandis que le système parasympathique la diminue. La balance du SNA est elle-même en partie régulée par les chémorécepteurs et barorécepteurs qui ont ainsi un rôle majeur dans le maintien de l'homéostasie. L'analyse de la VFC est une méthode connue et non invasive de mesure de la régulation du système cardiovasculaire par le SNA (6).

Notre équipe a développé un nouveau marqueur, le Fetal Stress Index (FSI), reflet du système parasympathique et de l'hypoxie, qui semble permettre de prédire l'acidose fœtale (6,7). Cependant cette prédiction reste imparfaite. Plusieurs équipes se sont intéressées à l'utilisation de ces marqueurs dans des méthodes d'analyse automatisée du rythme cardiaque fœtal ou des méthodes de machine learning (ML). Le ML est une méthode statistique d'intelligence artificielle (IA) utilisée en médecine. Peu de données sont actuellement disponibles dans la littérature mais les quelques articles cliniques publiés sur le machine learning ont montré un intérêt de l'utiliser dans la prédiction de l'hypoxie fœtale par analyse du RCF (8–10).

L'hypoxie n'est cependant responsable que de 30% des EN et toutes les situations d'hypoxie ne sont pas responsables d'encéphalopathie anoxo-ischémique (EAI) (2). Un autre objectif de la surveillance fœtale pendant le travail serait alors de pouvoir dépister toutes les situations à risque d'EN. L'analyse de la VFC semble un outil prometteur pour la prédiction précoce des lésions cérébrales et de leur sévérité chez le nouveau-né atteints d'EAI lorsqu'elle est analysée dans les jours suivant la naissance (11). Il semble dès lors intéressant de l'étudier en anténatal chez les fœtus.

Ainsi, l'objectif de la thèse était double :

- A. Evaluer les indices de variabilité du rythme cardiaque fœtal par méthode de machine learning pour prédire le risque d'acidose fœtale
- B. Etudier les indices de variabilité du rythme cardiaque fœtal pour prédire les situations à risque d'encéphalopathie

Partie 1 – Variabilité de la fréquence cardiaque, modèle expérimental et travaux précédents

L'objectif de cette première partie est de faire un rappel bref sur la physiologie fœtale pendant le travail et le rôle du système nerveux autonome, sur les marqueurs de la variabilité de la fréquence cardiaque, puis sur notre modèle animal et les travaux déjà réalisés dans l'équipe.

1) Importance du système nerveux autonome (SNA) dans l'homéostasie fœtale.

La fréquence cardiaque est sous la dépendance du SNA: le système sympathique augmente la fréquence cardiaque tandis que le parasympathique la diminue (12–14). La balance du SNA est elle-même en partie régulée par les chémorécepteurs et barorécepteurs qui ont ainsi un rôle majeur dans le maintien de l'homéostasie. Les chémorécepteurs périphériques sont situés au niveau de l'arche aortique et de la carotide et sont sensibles aux modifications de la pO_2 . Les barorécepteurs sont quant à eux situés au niveau du sinus carotidien et de l'arche aortique. Ils sont médiés par les variations de la pression artérielle (PA). Lors d'un déficit en oxygène, l'adaptation cardiovasculaire vise à maintenir un flux sanguin adéquat, une oxygénation optimale et ainsi un métabolisme cellulaire adapté au niveau des organes vitaux, notamment le cœur et le système nerveux central.

Ainsi, lors du travail et de la survenue des contractions, la compression cordonale et des vaisseaux utéroplacentaires entraînent une diminution des apports en oxygène. Cette diminution de la pO_2 fœtale, va stimuler les chémorécepteurs entraînant une vasoconstriction périphérique et une augmentation de la pression artérielle stimulant à son tour le baroréflexe. Il en résulte un ralentissement de la fréquence cardiaque via la réponse parasympathique (14–

16). La vasoconstriction périphérique est accentuée par l'action directe de l'hypoxémie sur les cellules de la paroi des vaisseaux et par la stimulation de la surrenale par action sympathique (19–21). Cela entraîne une production de catécholamines responsable d'un effet vasoconstricteur (14,18,22). Ces effets contrebalancent l'effet chronotrope négatif induit par le système parasympathique et impactent ainsi la balance du SNA (23).

La persistance d'un déficit en O_2 active le métabolisme anaérobie dans les tissus périphériques permettant un maintien de la production d'ATP mais entraînant la production d'acide lactique et une acidose métabolique (24). Cette acidose métabolique est majorée par l'accumulation de CO_2 liée à l'altération des échanges gazeux fœto-maternels. Cette acidose va stimuler les chémorécepteurs et il en résulte une décharge sympathique qui agit directement sur la musculature des vaisseaux pour augmenter la vasoconstriction périphérique et stimuler la médullosurrénale, augmentant les catécholamines circulantes. La figure 1.1.1 ci-dessous synthétise les mécanismes d'adaptation lors du travail et des contractions utérines.

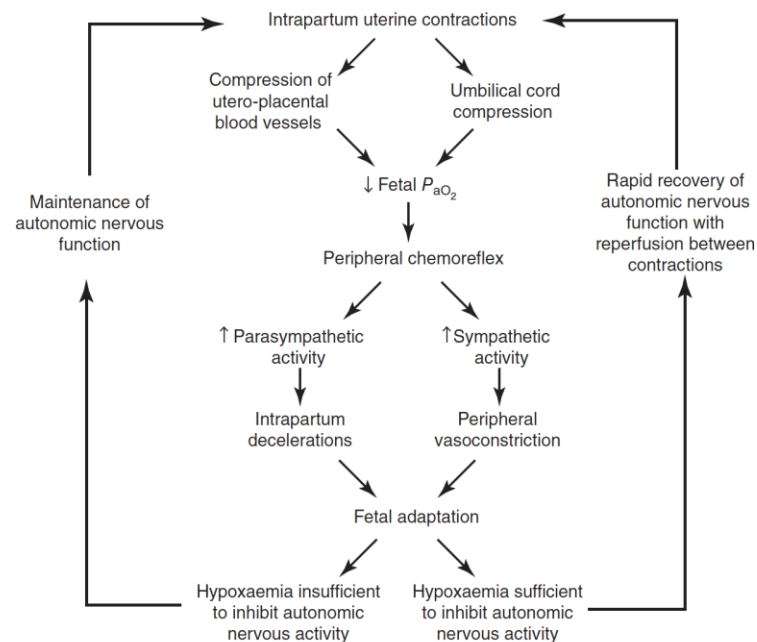


Figure 1.1.1 : Mécanismes d'adaptation du système nerveux autonome lors du travail et des contractions. Issue de Lear et al. (83)

2) Analyse de la variabilité du rythme cardiaque fœtal (VFC)

a) Définition

L'analyse standard du RCF repose sur l'enregistrement par cardiotocographie externe (monitoring fœtal). Cette méthode, bien que non invasive, est imparfaite et ne permet pas un dépistage correct des fœtus à risque d'hypoxie fœtale. De nouvelles méthodes sont nécessaires et une des pistes intéressantes est l'analyse de la variabilité de la fréquence cardiaque (VFC).

La VFC est une méthode connue et non invasive de mesure de la régulation du système cardio-vasculaire par le SNA (25,26). Elle est représentée par les variations de l'intervalle de temps entre 2 battements cardiaques (soit 2 ondes R sur l'électrocardiogramme). Elle implique le nœud sinusal, innervé et régulé par les fibres des systèmes nerveux sympathiques et para sympathiques qui se contrebalancent constamment et contrôlent ainsi le rythme cardiaque (figure 1.2.1).

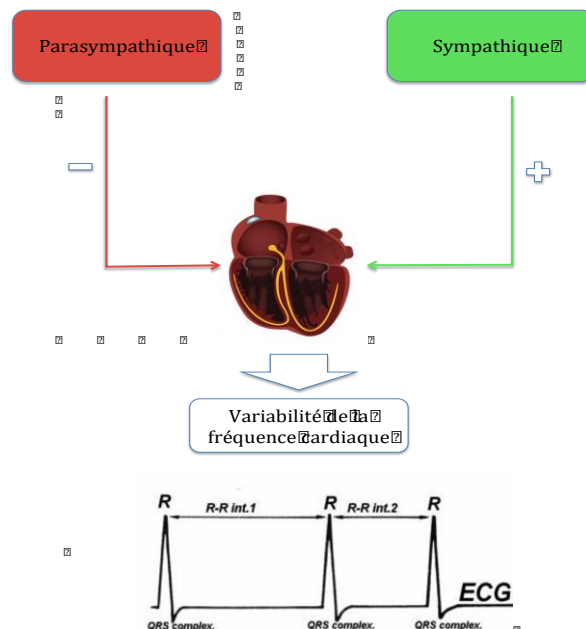


Figure 1.2.a.1: contrôle du nœud sinusal par le SNA. (Système Nerveux Autonome)
 + : stimulation accélératrice, - : stimulation décélératrice.
 Schéma issu de la thèse d'université de C. Garabedian.

L'analyse de la VFC nécessite l'acquisition et le traitement d'un signal permettant de détecter les cycles cardiaques. Habituellement, on utilise le signal électrocardiographique (ECG) pour détecter l'onde R du complexe QRS et créer la série RR. La série RR est constituée d'une suite d'intervalles de temps irréguliers du fait de la variabilité du rythme cardiaque (Figure 1.2.a.2).

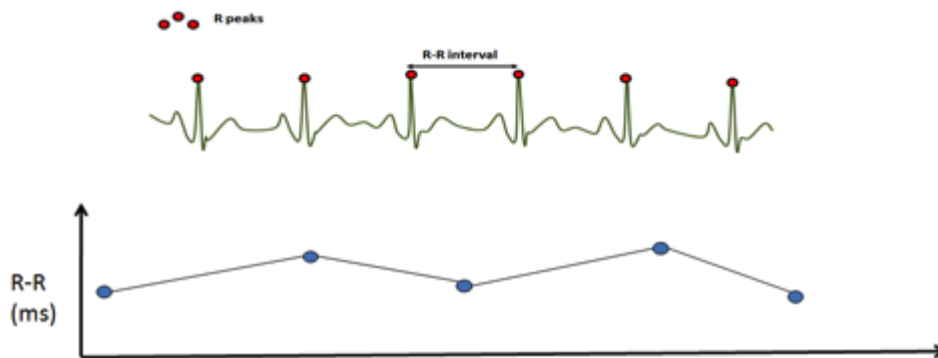


Figure 1.2.a. 2- série R-R dans le temps

Plusieurs outils d'analyse ne fonctionnent que sur des signaux échantillonnés à intervalle régulier et il convient alors de ré échantillonner la série RR (Figure 1.2.a.3). Ce genre d'algorithme consiste à effectuer une interpolation, la plupart du temps linéaire, sur le signal RR brut. En pratique, les guidelines internationales d'évaluation de la VFC recommandent une fréquence d'échantillonnage de la série RR d'au moins 4Hz pour pouvoir étudier la VFC (27). Toutes nos mesures ont été effectuées après un ré échantillonnage à 8Hz.

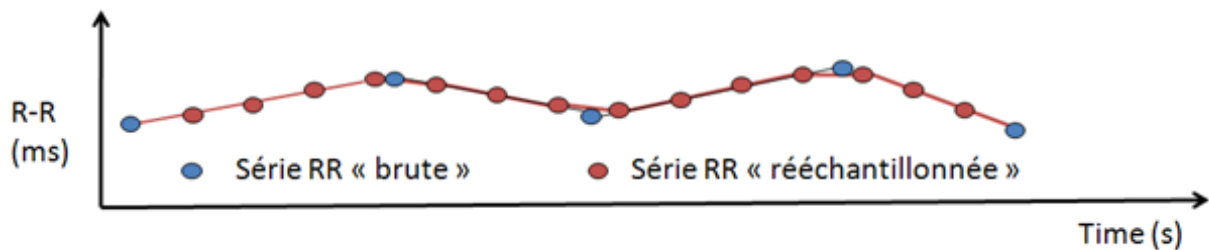


Figure 1.2.a.3 –Ré échantillonnage de la série R-R

L'analyse de la VFC peut se faire selon différentes méthodes : par le calcul d'indices basés sur des analyses statistiques des intervalles R-R (analyse temporelle), par l'analyse spectrale basée sur les fréquences des oscillations du rythme cardiaque (28), par le FSI (Fetal Stress Index), ou encore par d'autres méthodes (géométrique et non linéaire) que nous ne détaillerons pas ici.

b) Analyse temporelle de la VFC

Les mesures temporelles sont réalisées sur les intervalles de temps NN (Normal to Normal) séparant 2 ondes R. Ces intervalles forment une suite et sont mesurés sur l'ensemble de la durée d'enregistrement. Les analyses temporelles les plus fréquemment utilisées pour l'analyse de la VFC sont représentées dans le tableau ci-dessous (Tableau 1.2.b.1).

SDNN	Déviati�n standard des intervalles NN
SDANN	Déviati�n standard des intervalles NN moyennés sur 5 min
ASDNN	Moyenne sur 24h de la déviation standard des intervalles NN sur tous les segments de 5 min
RMSSD	Racine carrée de la moyenne des carrés des différences entre intervalles NN successifs
NN50	Nombre des intervalles NN différant de plus de 50 ms de l'intervalle précédant
pNN50	Pourcentage des intervalles NN différant de plus de 50ms de l'intervalle précédant.

*Tableau 1.2.b.1 – Analyse temporelle de la VFC fréquemment utilisés
(Tableau issu de la Thèse du Dr Mathieu Jeanne)*

Ces différentes méthodes sont appliquées sur la série RR brute (avant r chantillonnage). La méthode la plus couramment utilisée pour l'analyse anténatale est la méthode du RMSSD établissant essentiellement l'évolution moyenne des différences entre deux intervalles R-R successif (Racine Carrée de la moyenne des carrés des différences entre intervalles NN successifs). Elle mesure la variabilité haute fréquence (HF) des espaces R-R. D'autres méthodes d'analyse temporelle de la VFC ont été spécifiquement développées pour l'analyse du RCF, notamment les variabilités court et long terme (VCT et VLT) (29). Ces

méthodes sont appliquées sur la série RR ré échantillonnée à 4 Hz. Elles analysent le RCF époque par époque en calculant une valeur moyenne de la fréquence cardiaque pour chaque époque de 3.75 s. La VCT analyse les différences de fréquence cardiaque moyenne entre 2 époques successives sur un intervalle d'une minute (soit 16 époques). La VCT représente alors la moyenne de la valeur absolue de ces différences divisée par 2.

$$VCT = \frac{1}{2 \times 16} \sum_{i=2}^{16} \text{abs}(FC_i - FC_{i-1})$$

En pratique, une valeur de VCT < 3ms est considérée comme pathologique en dehors du travail (30). La VLT analyse quant à elle la différence entre les valeurs minimales et maximales des différentes époques sur un intervalle d'une minute.

c) Analyse spectrale de la VFC

L'analyse spectrale de la VFC consiste à décomposer les séries de R-R en une somme de fonctions sinusoïdales de différentes amplitudes et fréquences (31). L'outil le plus fréquemment utilisé pour ce type d'analyse est la transformée de Fourier Rapide.

Ce type de transformation temps-fréquence permet d'obtenir le spectre de la VFC qui peut se décomposer en 3 composantes correspondant aux principales fluctuations périodiques du rythme cardiaque (Figure 1.2.c.1):

- Les Very Low Frequency (VLF) fluctuations: < 2.4 par minute, soit 0.04 Hz,
- Les Low Frequency (LF) fluctuations: 2.4 - < 9 par minute, soit 0.04-0.15 Hz,
- Les High Frequency (HF) fluctuations: > 9 par minute, soit >0.15 Hz

Les fluctuations de la fréquence cardiaque dépendent de plusieurs facteurs selon les fréquences (32,33). En dessous de 0,04 Hz, elles sont sous contrôle de la thermorégulation et de 0,04 à 0,15 Hz par le baroréflexe. La VFC dans les hautes fréquences, c'est-à-dire au-delà

de 0.15Hz, est sous la dépendance du système parasympathique et des mouvements respiratoires (34).

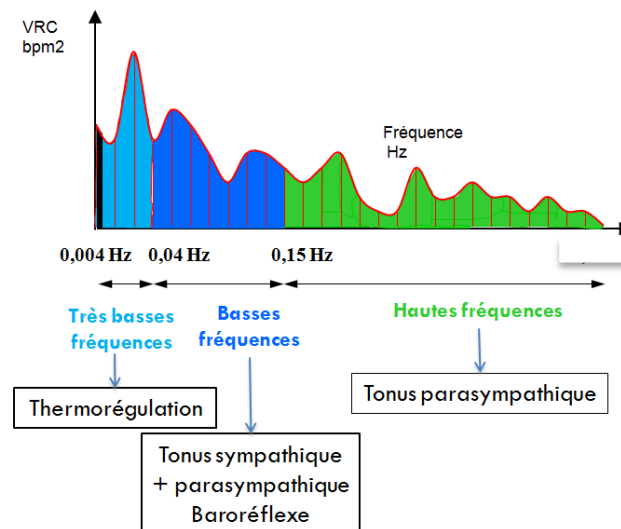


Figure 1.2.c.1 : Transformé de Fourier rapide : Fréquences de fluctuation de la fréquence cardiaque. L'aire sous chaque fréquence correspond à l'amplitude de chaque fluctuation présente dans le RCF de base.

Ainsi, la VFC peut être exprimée en puissances spectrales absolues par zone de fréquence (LF ou HF). Il est aussi possible d'analyser les valeurs normalisées (LFn.u. ou HFn.u.), obtenues respectivement par la division des LF et des HF par le spectre total moins les très basses fréquences (HF+LF).

$$\text{HFn.u.} = \text{HF}/(\text{HF}+\text{LF})$$

HF et LF donnent la valeur absolue des contenus fréquentiels alors que HFn.u. donne la proportion de contenus HF (Haute Fréquence) par rapport au contenu global moins les VLF (very low frequency) et donc la part relative de tonus parasympathique.

En théorie, la transformée de Fourier rapide ne permet de traiter que des signaux dits stationnaires ce qui n'est pas le cas de la série RR notamment en cas d'apparition d'anomalie du rythme cardiaque fœtal. Certaines méthodes d'analyse spectrale plus récentes, comme la transformée en ondelette de type Daubechies 4 coefficients, permettent de s'affranchir de cette non stationnarité.

d) Fetal Stress Index (FSI)

Les travaux menés au Centre d'Investigation Clinique et d'Innovation Technologique INSERM CIC-IT 1403, (CHRU de Lille, France) ont permis de proposer une mesure normalisée de la composante parasympathique du SNA par analyse de l'ECG appelée le Fetal Stress Index (FSI) (7,35–37). Le FSI est exprimé en valeurs numériques entre 0 et 100.

La série R-R obtenue à partir de l'ECG est ré échantillonnée, normalisée (afin de réduire l'influence de l'amplitude globale des variations) et filtrée au-delà de 0,15 Hz sur une fenêtre de 64 secondes (temps minimum pour obtenir une bonne résolution fréquentielle permettant une séparation des zones LF et HF) pour ne garder que les oscillations HF (reflet du parasympathique). Les minimum et maximum locaux sont détectés sur la série RR normalisée et filtrée et l'enveloppe du signal est tracée. Pour accroître la sensibilité temporelle de la méthode, la fenêtre est divisée en 4 sous-fenêtres et 4 aires sous la courbe des enveloppes minimum et maximum sont calculées (A1, A2, A3, A4) (Figure 1.2.d.1 : 3^{ème} graphe). AUCmin est définie comme la valeur minimum de ces 4 aires. Le FSI est alors défini comme $100 \times (a \times \text{AUCmin} + b) / 12,8$, où $a=5,1$ et $b=1,2$ ont été déterminés de manière empirique sur plus de 200 séries RR issues de la data base du CIC-IT 1403 (figure 1.2.d.1).

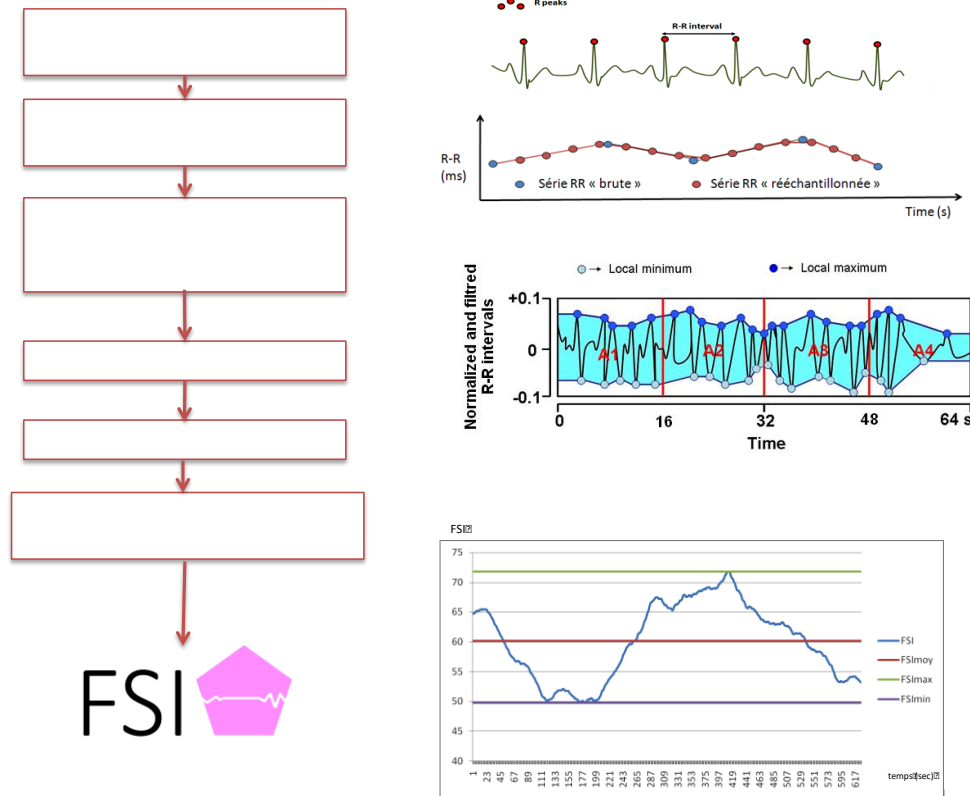


Figure 1.2.d.1 : Obtention du FSI
Issue de la thèse d'Université de Charles Garabedian

e) Autres méthodes

2 autres méthodes sont décrites mais peu utilisées notamment pour l'analyse de la VFC fœtale : la méthode géométrique et la méthode non linéaire. Elles ne seront pas décrites dans ce manuscrit du fait de leur non utilisation en clinique.

3) Modèle animal

La connaissance de la physiologie fœtale repose essentiellement sur des études expérimentales notamment sur le fœtus de brebis (15,17,38–40). Ainsi, afin de valider l'utilisation du FSI comme marqueur d'acidose fœtale, nous avons mis en place un modèle animal d'hypoxie fœtale chez le fœtus de brebis. Nous détaillerons ici le protocole chirurgical utilisé.

Le protocole expérimental a été effectué au sein du Département Hospitalier et Universitaire de Recherche Expérimentale (DHURE) de la Faculté de Médecine de Lille. Les animaux provenaient de l'Institut Régional de la Recherche Agronomique (I.N.R.A), domaine de Tours. Les études expérimentales ont été approuvées par le Comité d'Éthique Local d'Expérimentation Animale (Agrément N° 2016121312148878).

Des brebis gestantes (race Île de France) étaient accueillies au moins 7 jours avant la date de l'intervention dans des box individuels avec un accès illimité à l'eau et au foin. Une portion de 400g de granulés leur était administrée 2 fois par jour. Une surveillance clinique quotidienne était réalisée par le zootechnicien du département. Un jeûne préalable de 24 heures était imposé.

a) Technique chirurgicale

Les brebis ont été opérées en moyenne à 124 jours +/- 3 jours de gestation pour un terme de 140 jours. Un cathéter maternel était posé au niveau de la veine jugulaire avant l'induction afin d'assurer un remplissage maternel pré-anesthésique par 500 ml de Ringer Lactate®. Après une prémédication réalisée par une injection de 0,3mL/kg de Xylazine (Sedaxylan® 20mg/ml, Dechra, Pays Bas), les brebis étaient ventilées au masque avec des

gaz halogénés (Isoflurane, Aerrane®, Baxter, Maurepas, France). Une intubation permettait une ventilation assistée durant le geste chirurgical (sonde intubation endo-trachéale n°9), et une sonde naso-gastrique était mise en place pour diminuer le risque d'inhalation per ou postopératoire. La sédation était entretenue par les gaz halogénés. Après la tonte, une échographie était réalisée avant le bloc opératoire pour s'assurer du terme de la gestation, du nombre de fœtus et de la bonne vitalité fœtale (Figure 1.3.a.1). L'analgésie peropératoire maternelle était assurée par une injection intramusculaire de 0,6ml/10kg de Buprénorphine (Bupaq®, Virbac, France) en début d'intervention. En peropératoire, une antibioprophylaxie intramusculaire de 1mL/10kg d'Amoxicilline (Clamoxyl LA® 150mg/ml, Zoetis, France) était administrée à la mère. Dans des conditions d'asepsie chirurgicale, une laparotomie puis une hystérotomie étaient pratiquées en regard des pattes avant afin de pouvoir accéder au fœtus (Figure 1.3.a.1).



Figure 1.3.a.1 : Technique chirurgicale
A. Echographie de repérage et compte des fœtus ; B. Laparotomie médiane ; C. Hystérotomie avec suture des membranes amniotiques sur l'hystérotomie.

La patte fœtale antérieure droite était extraite. Préalablement à l'abord axillaire, une anesthésie locale fœtale était pratiquée par une injection sous-cutanée de 1mL de chlorhydrate de lidocaïne à 10mg/mL (Xylocaïne® Astrazeneca, Reuil-malmaison, France) associée à une analgésie fœtale par une injection intramusculaire de 0,3 mL de Buprénorphine (Bupaq®, Virbac, France). Après incision en regard du creux axillaire puis dissection des vaisseaux

axillaires fœtaux, un cathéter de 4Fr de diamètre (Arrow, USA) était introduit dans l'artère axillaire droite (Figure 1.3.a.2). Puis on répétait la même procédure au niveau axillaire gauche. Les cathéters artériels étaient introduits jusqu'à l'aorte pour l'enregistrement des paramètres hémodynamiques et les prélèvements sanguins fœtaux. On profitait de l'abord axillaire pour placer 4 électrodes (MYWIRE 10, MAQUET, Allemagne) précordiales au niveau des muscles intercostaux pour recueil d'un signal ECG (Figure 1.3.a.2).

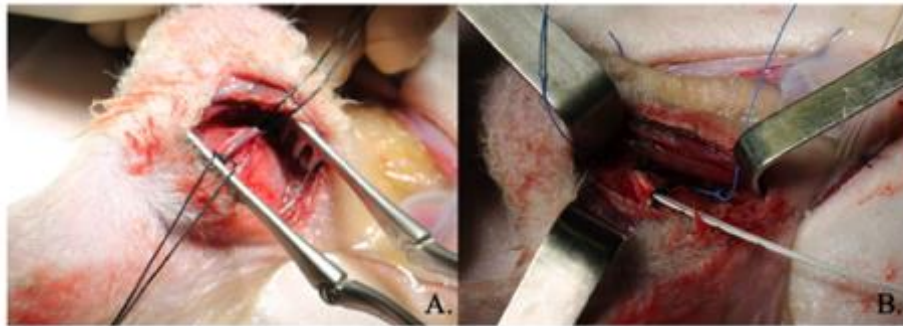


Figure 1.3.a.2 :Technique chirurgicale.

A. Dissection des vaisseaux axillaires artériels au niveau de la patte avant du fœtus. B. Mise en place de cathéters de 4Fr au niveau artériel et mise en place d'électrodes précordiales au niveau des muscles intercostaux.

Le cordon ombilical du fœtus était abordé afin de placer autour de celui-ci un occluteur permettant d'effectuer la compression cordonale par injection de sérum physiologique (OC VO-16HD – DOCXS Biomedical Products - Ukiah, California) (Figure 1.3.a.3). Le volume maximal injectable, pour obtenir une occlusion totale et l'étanchéité, était testé en pré opératoire avant la mise en place.



Figure 1.3.a.3 :Technique chirurgicale. A. Mise en place de l'occluteur autour du cordon ombilical ; B. Occluteur gonflé totalement ; C. occluteur non gonflé

La circulation placentaire était gardée intacte et le fœtus remplacé dans l'utérus. Un cathéter supplémentaire de 5Fr de diamètre (Arrow, USA) était placé dans la cavité amniotique pour mesurer la pression de référence, permettant également une instillation de 500 mg d'amoxicilline-acide clavulanique (Amoxicilline-acide clavulanique SANDOZ®, Sandoz, Levallois-Perret, France) dans le liquide amniotique avant la fermeture de la cavité utérine. L'utérus et la paroi abdominale étaient refermés. Les cathéters fœtaux et intra-amniotiques étaient reliés à des prolongateurs et extériorisés au niveau du flanc latéral droit de la brebis à travers une tunnelisation sous-cutanée (Figure 1.3.a.4 et figure 1.3.a.5).



Figure 1.3.a.4 : Technique chirurgicale. A. Fermeture de l'hystérotomie avec extériorisation des cathéters, de l'occluteur et des électrodes. B. Tunnelisation des cathéters, de l'occluteur et des électrodes. C. Mise en place des différents éléments sur le flanc droit de la brebis dans une poche de protection.

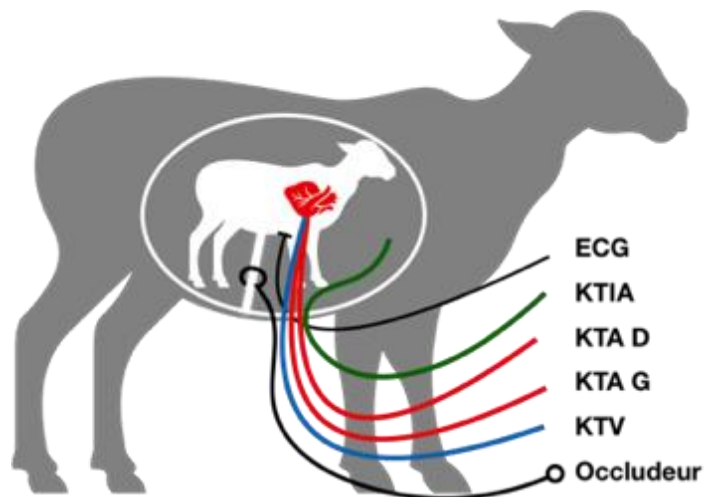


Figure 1.3.a.5 : Schéma de l'instrumentation chronique du fœtus. Électrodes d'électrocardiographie (ECG), cathéter artériel axillaire droit (KTA D) et gauche (KTA G), cathéter veineux axillaire (KTV), cathéter intra-amniotique (KTIA) et Occluteur de cordon.

Après l'intervention, les brebis étaient autorisées à boire et manger. Elles se levaient généralement dans les 2 heures suivant la chirurgie. La perméabilité des cathéters fœtaux et de la voie jugulaire maternelle était entretenue par une injection quotidienne de sérum salé isotonique hépariné 10UI/mL (Héparine CHOAY®5000UI, Sanofi-aventis France, Paris). L'analgésie postopératoire était assurée par une injection intramusculaire maternelle de 0,3mL/10kg de Buprénorphine (Bupaq®, Virbac, France) 24 et 48 heures après l'intervention. L'expérimentation ne débutait que 2 à 4 jours après la chirurgie, afin que l'agneau soit stable au niveau hémodynamique.

b) Protocoles d'expérimentations

Le premier temps était de s'assurer du bien-être fœtal et maternel par un relevé des paramètres hémodynamiques sur une période de 30 à 60 minutes, ainsi que par vérification de l'équilibre acido-basique fœtal (*période de stabilité*). Les gaz du sang fœtaux étaient réalisés sur des échantillons de sang artériel prélevés sur un des cathéters artériels. La mesure du pH, de la PaO₂, de la PCO₂, de l'excès de bases (BE) et des lactates plasmatiques se faisait par micro-méthode sur appareil I-STAT® (Abbott Laboratoires, Abbott Park, IL USA). Les cathéters artériels fœtal et intra-amniotique étaient connectés à des capteurs de pression (Pressure Monitoring Kit, Baxter) reliés à un moniteur multiparamétrique d'anesthésie-réanimation (Merlin monitor, Hewlett Packard, Palo Alto, CA, USA). Toutes les données hémodynamiques étaient enregistrées sur support informatique grâce au logiciel Physiotrace® (36) (Figure 1.3.b.1).



Figure 1.3.b.1 : Installation pour le protocole expérimental avec branchement des cathéters et des électrodes au moniteur multiparamétrique

Nos protocoles d'hypoxie fœtale étaient réalisés à l'aide d'occlusions cordales partielles ou complètes, répétées ou prolongées. Celles-ci étaient réalisées par injection d'une solution isotonique dans l'occluteur. Lors de différents protocoles, les paramètres hémodynamiques, gazométriques et de la VFC étaient relevés de manière régulière avant les occlusions, pendant et après durant 24h à 48h.

En cas de décès du fœtus, de mise en travail, de mauvais état maternel ou en fin de protocole expérimental, les brebis étaient sacrifiées par une injection intra veineuse d'un anesthésique vétérinaire : 6ml/50kg de T61® (embutramide 20g, mebezonium iodure 5g, tetracaine chlorhydrate 0.5g, diméthylformamide 60ml) (Intervet, Angers, France). Une autopsie permettait de vérifier la position des cathéters et de rechercher, en cas de décès du fœtus, les causes de celui-ci. Les agneaux étaient pesés lors des autopsies.

4) Travaux antérieurs sur le FSI et l'hypoxie fœtale

Depuis plusieurs années, notre équipe travaille sur le développement du Fetal Stress Index (FSI), indice d'analyse de la VFC chez le fœtus. Cet indice a été mis en place chez le fœtus suite aux travaux de Mathieu Jeanne et al réalisés chez l'adulte et le nouveau-né (41–44). Nous verrons dans cette partie la mise en place chez le fœtus via l'expérimentation animale.

a) Etude du FSI comme reflet du système nerveux autonome parasympathique et comparaison aux autres méthodes classiques.

L'objectif de ce travail était de comparer notre indice FSI par rapport aux méthodes usuelles i) au niveau de la capacité à détecter les variations de l'activité parasympathique fœtale et ii) au niveau de la variabilité inter individuelle.

Méthodologie

2 molécules ont été testées du fait de leur effet sur le système nerveux autonome : injection directe IV d'Atropine 2.5 mg (ATROPine, Aguettant, France) pour son effet d'inhibition du système nerveux parasympathique, et l'injection directe IV de Propanolol 5mg (Karnodyl®, Primius Lab, France), bêtabloquant non sélectif avec un effet sympatholytique (13).

Analyse de la variabilité du rythme cardiaque fœtal

Le FSI a été analysé sur deux périodes prédéfinies : i) entre 5 et 10 minutes avant l'injection et ii) entre 5 et 10 minutes après l'injection. Analyse temporelle et spectrale – Les composantes spectrales LF, HF et HF normalisés ($HF_{n.u.} = HF/(HF+LF)$) ainsi que le RMSSD ont été calculés sur les mêmes périodes.

Résultats

7 expérimentations ont été réalisées mais une a été exclue du fait d'un signal ECG de mauvaise qualité.

Atropine: L'analyse de la variabilité du rythme cardiaque fœtal montrait une baisse significative des HF (52.9 (37.2–75) vs 25.4 (21.1–39.1), $p=0.043$) et des HFn.u. (0.68 (0.61–0.78) vs 0.53 (0.47–0.65)) (Tableau 1.4.a.1). Le RMSSD diminuait également de 8.7 (6.3–9.2) à 4 (3–6.5) ($p=0.018$) ainsi que le FSI (57.3 (52.4–61.2) vs 40.4 (36–46.2), $p=0.018$). Les HF, HFn.u. et le RMSSD étaient associés à un fort effect size (>0.8) et le FSI à un très fort effect size. Le %CV (coefficient de variation) était important pour les HF, LF et pour le RMSSD (respectivement 33.4%, 35.2% et 49.3% avant l'injection), et était nettement plus bas pour le FSI (%CV=9.9) et les HFn.u. (%CV=11.6).

	Avant	%CV avant	Après	%CV après	<i>p</i>	Effect size
HF	52.9 (37.2–75)	33.4	25.4 (21.1–39.1)	30.2	0.043	1.13
LF	22.3 (16–31.1)	35.2	18.1 (14–41.8)	51.1	0.398	0.35
HFn.u.	0.68 (0.61–0.78)	11.6	0.53(0.47–0.65)	18.3	0.018	0.92
RMSSD	8.7 (6.3–9.2)	49.3	4.0 (3–6.5)	37.6	0.018	1.13
FSI	57.3 (52.4–61.2)	9.9	40.4 (36–46.2)	17.3	0.018	1.49

Tableau 1.4.a.1: Paramètres avant et après l'injection d'atropine.
Résultats présentés en médiane (1^{er}–3^{ème} quartiles). CV=Coefficient de variation

Propranolol: Le tableau 1.4.a.2 montre les données avant et après injection. Les HF, HFn.u., le FSI et le RMSSD ne variaient pas tandis que les LF diminuaient (28 (20.9–33.6) vs 12.7 (6–16.2), $p = 0.046$). L'effect size était fort pour les LF.

	Avant	%CV avant	Après	%CV après	<i>p</i>	Effect size
HF	52.3 (34.8–78.1)	53.5	25.4 (17.5–42.6)	43.1	0.075	0.81
LF	28(20.9–33.6)	35.4	12.7 (6–16.2)	51.8	0.046	1.25
HFn.u.	0.66(0.64–0.76)	9.22	0.70(0.65–0.79)	10.9	0.345	0.38
RMSSD	6.7 (3.5–13.5)	73.6	6.4 (4.1–18.6)	91.7	0.917	0.39
FSI	56.5 (48.25–59.25)	10.9	61.5 (51–76)	21.9	0.599	0.45

Tableau 1.4.a.2: Paramètres avant et après injection de 5 mg de propranolol.
Résultats présentés en médiane (1^{er} – 3^{ème} quartiles). CV=coefficient de variation.

Conclusion

La réponse du FSI à ces deux molécules témoigne d'une bonne sensibilité et d'une bonne spécificité de notre indice au système parasympathique, avec en plus une variabilité inter individuelle moindre que les méthodes classiquement utilisées.

Dans un second temps, afin de valider notre preuve de concept que le FSI était un outil prédictif de l'état acido-basique fœtal, nous avons réalisé 2 protocoles d'occlusions cordonales. Le premier consistait en une occlusion cordonale partielle prolongée induisant une acidose fœtale progressive et nous avons observé une corrélation significative entre le FSI et la survenue d'une acidose fœtale (7). Le second schéma expérimental était la réalisation d'occlusions complètes intermittentes reproduisant l'effet d'un rythme régulier de contractions utérines (45). Le FSI augmentait avec le nombre d'occlusions et de façon associée à l'installation de l'acidose.

b) Evaluation du Fetal Stress Index comme outil prédictif de l'état acido-basique fœtal dans un modèle d'occlusion continue

L'objectif de ce travail était d'évaluer la corrélation entre le FSI et l'état acido-basique fœtal dans un modèle expérimental d'hypoxie fœtale par occlusion partielle continue du cordon.

Méthodologie

Procédure expérimentale

Le modèle est tel que celui décrit auparavant. Les expérimentations débutaient 48h après la chirurgie et 1 seule expérimentation était réalisée par animal. Avant l'occlusion, une

période de stabilité de 30 minutes était enregistrée afin de s'assurer du bien être fœtal. L'occlusion était ensuite réalisée afin d'obtenir une baisse du débit ombilical de 75% et durait jusqu'à obtention d'un pH inférieur à 7,20 ou était arrêtée au bout de 2 heures. 2 groupes de pH ont été créés pour l'analyse : $\leq 7,20$ et $> 7,20$.

Résultats

11 manipulations ont été réalisées. 3 ont été exclues pour données non utilisables (une pour chute trop rapide du pH et 2 pour absence de $\text{pH} \leq 7.20$ après 120 minutes).

La figure 1.4.b.1 montre les variations du $\text{FSI}_{\min}$ en fonction des groupes de pH. Le $\text{FSI}_{\min}$ était de 38.6 (35.2-43.3) dans le groupe $\text{pH} > 7.20$ et était plus élevé dans le groupe $\text{pH} \leq 7.20$ (46.5 (43.3-52.0), $p = 0.012$).

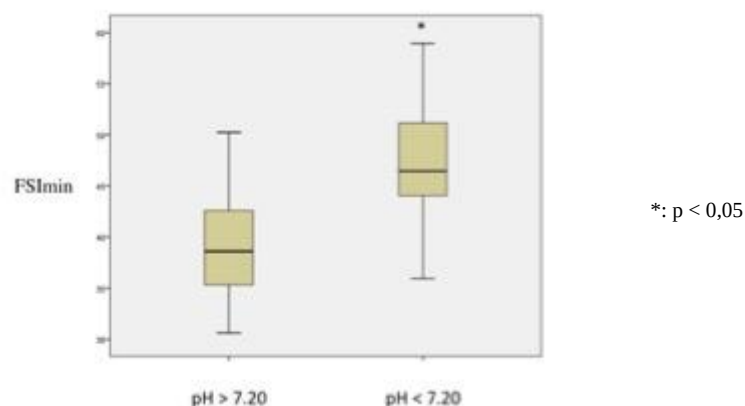


Figure 1.4.b.1 : Fetal Stress Index en fonction des groupes de pH

L'étude de la corrélation du $\text{FSI}_{\min}$ aux différents paramètres hémodynamiques et gazométriques est présentée dans le tableau 14.b.1. La corrélation était significative pour le pH artériel (coefficient de -0.671 ; $p=0.004$) et le déficit de base (coefficient de -0.632; $p=0.009$). Les coefficients étaient non significatifs pour les autres paramètres gazométriques et pour les paramètres hémodynamiques.

Paramètres gazométriques	PAM	FC	pH	pO ₂	pCO ₂	Lact.	BD
Coefficient de corrélation	0.38	0.049	-0.671	0.142	0.311	0.024	-0.63
p	0.15	0.86	0.004	0.60	0.24	0.931	0.009

Tableau 1.4.b.1 : Corrélation entre les paramètres hémodynamiques et le FSI
 FC : Fréquence Cardiaque; PAM : pression Artérielle Moyenne; Lact: Lactates; BD: Base deficit

Conclusion

L'occlusion partielle continue du cordon nous a permis d'obtenir une acidose rapide. Ce modèle permet ainsi d'étudier les variations du FSI en fonction du pH sans modification possible liée au baroréflexe du fait d'une occlusion continue. Nous montrons dans cette étude que le FSI est corrélé au pH in utero et au déficit de base (donc à l'acidose métabolique) avec une augmentation progressive de sa valeur.

c) Evaluation du Fetal Stress Index comme outil prédictif de l'état acido-basique fœtal dans un modèle d'occlusions complètes, brèves et répétées

L'objectif de ce travail était d'évaluer le FSI comme facteur prédictif de l'état acido-basique fœtal dans un modèle d'occlusions cordonales totales (OCT) répétées mimant le travail et les contractions utérines.

Méthodologie

Le protocole démarrait 48h après la chirurgie. 1 seule manipulation était réalisée par animal. Après stabilité hémodynamique fœtale et maternelle sur une durée de 30 minutes, l'occlusion du cordon était réalisée par injection d'une solution isotonique dans l'occluteur afin d'obtenir une occlusion totale (volume nécessaire calculé préalablement lors de la chirurgie). Les OCT duraient 1 minute et étaient répétées toutes les 2,5 minutes pendant 3h.

Après chaque train de 6 occlusions, une pause de 5 minutes dans les OCT était respectée afin de permettre le calcul du FSI sur une période stable et afin de permettre le relevé des paramètres gazométriques et hémodynamiques.

Résultats

12 brebis ont été opérées. Une a présenté une fausse couche dans les suites de la chirurgie sur une probable chorioamniotite, et dans un autre cas le signal ECG était de mauvaise qualité rendant le calcul du FSI impossible. 10 brebis ont ainsi pu être analysées dans ce protocole. Ce modèle permettait l'obtention d'une acidose progressive et modérée avec un pH moyen à 7,14 (7,09-7,16) en fin de manipulation (tableau 1.4.c.1). Le FSI augmentait de manière significative pendant la période des occlusions à partir du 4^{ème} train d'occlusions, puis revenait aux valeurs de base lors de la période de récupération (p=0,441).

	Base	Nombre d'occlusions cordonales totales répétées 1:2'30									Récup
		6	12	18	24	30	36	42	48	54	1h
pH	7,40 (7,37-7,41)	7,31* (7,27-7,33)	7,27* (7,20-7,32)	7,24 * (7,19-7,30)	7,22 * (7,17-7,27)	7,19 * (7,15-7,24)	7,19 * (7,14-7,21)	7,16 * (7,13-7,18)	7,17 * (7,12-7,17)	7,14 * (7,09-7,16)	7,25* (7,24-7,27)
P02 mmHg	15,5 (12,5-20,3)	13,5 (11,5-18,3)	14,0 (13-17,8)	14,0 (12,3-17,8)	14,5 (12,3-17,5)	15,0 (13,0-15,0)	15,0 (13,35-19,0)	13,5 (13,0-15,0)	15,0 (13,3-16,8)	14,0 (12,0-17,3)	15 (13-15,75)
PC02 mmHg	34,6 (28-36,5)	42,7* (37,2-45,5)	42,8* (37,4-46,0)	42,0* (37,1-46,7)	37,9* (35,9-45,2)	41,8* (39,4-43,4)	42,0* (37,4-44,5)	46,2* (43,6-48,9)	42,0 * (39,2-44,3)	42,7* (39,9-50,5)	36,3 (31,85-39,38)
BE mmol/l	-2,0 (-5,25-2,0)	-3,5 (-7,5-1,8)	-6,0* (-9,5-1,3)	-7,5* (-12,3-4,5)	-9,5* (-13,3-7,5)	-10,5* (-12,8-7,3)	-11,5* (-13,5-9,3)	-10,0* (-12,5-7,3)	-12,5* (-15-10,3)	-12,5* (-15,8-11,3)	-10* (-12 -9)
Lact mmol/l	1,0 (0,9-1,5)	3,4 * (2,8-4,4)	5,3 * (3,6-6,9)	7,0 * (4,6-8,2)	8,3 * (5,2-9,0)	9,7 * (5,6-11,4)	10,4 * (7,3-12,8)	11,6 * (9,3-14,3)	11,6 * (9,7-12,3)	12,6 * (9,8-14,7)	10,56* (8,66-12,51)
FSI	51 (43,5-62)	54 (45,5-58,4)	57 (49,7-60,5)	57 (50,8-57,9)	60* (57,2-67,1)	58,9* (54,5-61,1)	69,3 (56,3-71,5)	63* (58,7-67)	61,6* (58,6-71,5)	72 (59,7-79)	55 (51,5-69)

Tableau 1.4.c.1 : Evolution des paramètres gazométriques en fonction des occlusions

* : p<0,05 versus base. Résultats présentés en médiane (1^{er} quartile-3^{ème} quartile)

L'étude des corrélations du FSI_{moy} par rapport aux autres paramètres montre une corrélation au pH (coefficient de -0,326) et aux lactates (0,343) (tableau 1.4.c.2).

	PAM	FC	pH	pO ₂	pCO ₂	Lact.	BD
Coefficient de corrélation	0,196	-0,086	-0,326	-0,027	0,127	0,343	-0,052
p	0,060	0,438	0,001	0,800	0,225	0,001	0,618

Tableau 1.4.c.2 : Corrélation du FSI_{moy} en fonction des paramètres hémodynamiques et gazométriques

Conclusion

Ce modèle d'OCT proche de la physiologie du travail, permettait l'obtention d'une acidose progressive. Comme précédemment observé dans le premier protocole, le FSI augmentait lors de l'apparition de l'acidose avec une corrélation intéressante avec à la fois le pH et les lactates.

Lors de ces protocoles d'hypoxie fœtale par occlusions cordonales, le FSI n'avait pas été comparé aux autres marqueurs de la VFC. Ainsi nous avons voulu comparer le FSI aux autres marqueurs de VFC ainsi qu'aux autres marqueurs d'analyse de la fréquence cardiaque, comme l'analyse morphologique des ralentissements.

d) Evaluation des méthodes d'analyse du système nerveux autonome pour la prédiction de l'état acido-basique fœtal

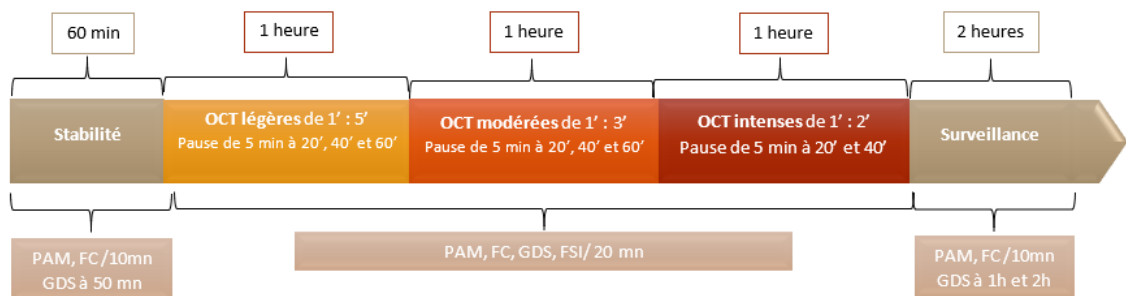
L'objectif de ce travail était d'évaluer différentes méthodes d'analyse du SNA comme reflet de l'état acido-basique fœtal dans un modèle expérimental d'occlusions cordonales mimant le travail et les contractions.

Méthodologie

Procédure expérimentale

Le protocole démarrait 72h après la chirurgie. 1 seule manipulation était réalisée par animal. Après stabilité hémodynamique fœtale et maternelle sur une durée de 30 minutes, des OCT d'une minute étaient réalisées selon 3 phases, chacune durant une heure, tel que décrit par Prout et al. (figure 1.4.d.1) (39). La phase légère (phase A) correspondait à des OCT répétées toutes les 5 minutes. Durant la seconde phase dite modérée (phase B), le rythme était d'une OCT toutes les 3 minutes. Enfin, la dernière phase dite intense correspondait à une OCT toutes les 2 minutes (phase C). Le protocole était interrompu si le pH artériel obtenu était inférieur à 7,10. A la fin des occlusions, une période de surveillance de 2h avait lieu.

Durant chaque phase, à 20, 40 et 60 minutes, une pause de 5 minutes, appelée plateau, était réalisée afin de permettre le recueil des données gazométriques et hémodynamiques ainsi que le calcul des paramètres de la VFC sur une période stable (Figure 1.4.d.1).



OCT = occlusion cordonale totale, GDS = Gaz du sang, PAM = Pression artérielle moyenne, FC = fréquence cardiaque, FSI = Fetal Stress Index

Figure 1.4.d.1 : Protocole expérimental d'occlusions cordoniales totales et répétées

Mesures des paramètres de la VFC

Plusieurs paramètres décrits auparavant ont été analysés :

- ✓ Analyse temporelle : SDNN, RMSSD
- ✓ Analyse spectrale : HF, LF et HFn.u.

✓ Fetal Stress Index

L'ensemble des analyses sont effectuées dans le logiciel FSirelecture© permettant un recueil des données grâce à un curseur se déplaçant sur le rythme cardiaque fœtal (Figure 1.4.d.2).



Figure 1.4.d.2 : Logiciel FSirelecture ©. Le FSI, SDNN, RMSSD, LF, HF, sont mesurés à la fin d'un plateau entre les occlusions cordinales entraînant des ralentissements du RCF (2^{ème} fenêtre).

Analyse morphologique des ralentissements

Lors des OCT, des ralentissements de la fréquence cardiaque existaient. Plusieurs auteurs se sont intéressés également à l'analyse de la morphologie des ralentissements chez la brebis comme éventuel marqueur prédictif de l'acidose fœtale (46–48). Nous avons étudié, selon les mêmes critères que la littérature, la durée, l'amplitude (du début au nadir) et la vitesse de la pente du ralentissement (amplitude/durée) (Figure 1.4.d.3). Cette analyse a porté sur le dernier ralentissement avant la phase de plateau.

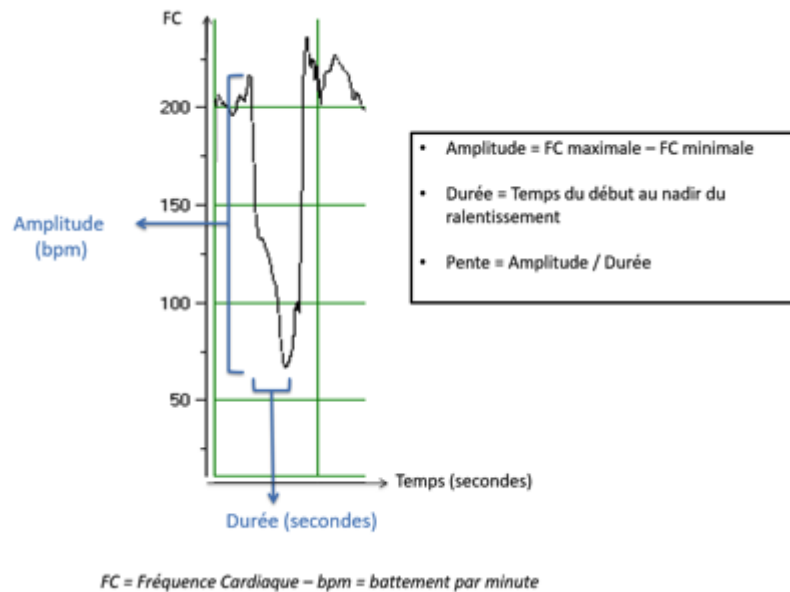


Figure 1.4.d.3 : Analyse morphologique d'un ralentissement

3 groupes de pH ont été créés en fonction du degré d'acidose : $> 7,20$, $7,10-7,20$ (acidose modérée) et $< 7,10$ (acidose sévère).

Résultats

15 agneaux ont été opérés, chez qui 11 manipulations exploitables ont été obtenues (Figure 4.1.5). Le protocole a été interrompu en phase A pour 3 agneaux, pendant la phase B pour 3 autres, et pendant la phase C pour 3 autres du fait de l'obtention d'un pH $< 7,10$. Seuls 2 agneaux ont eu la totalité des occlusions prévues par le protocole.

Le RMSSD ne variait pas de façon significative selon les groupes de pH (tableau 4.1.1). Il n'y avait pas de corrélation significative avec le pH, les lactates ou l'excès de base. Pour le SDNN, il augmentait progressivement de $14,7 (\pm 3)$ dans le groupe de pH $> 7,20$ à $15,3 (\pm 2,9)$ dans le groupe de pH $7,10-7,20$ jusqu'à atteindre $20,7 (\pm 3,1)$ dans le groupe $< 7,10$. Cette augmentation n'est toutefois pas significative ($p = 0,083$). Il n'est pas corrélé aux lactates ni à l'excès de base.

Pour l'analyse spectrale, les LF, HF et HF_{n.u} ne variaient pas de façon significative entre les différents groupes de pH (tableau 1). Ces variations n'étaient pas corrélées au pH, ni aux lactates ou à l'excès de base.

Le FSI quant à lui augmentait progressivement au cours du temps. Dans l'analyse par sous-groupe, le FSI s'élevait progressivement de 61.4 ($\pm$ 3.8) à 65.3 ($\pm$ 3.7) pour atteindre 77.1 ($\pm$ 3.9) en cas de pH <7.10 ($p < 0.001$). Le FSI était corrélé avec le pH et les lactates ($p < 0.001$ et 0.015) mais pas à l'excès de base ($p = 0.087$).

Enfin, on observait une augmentation non significative de la pente entre le groupe de pH >7.20 (2.88bpm/s $\pm$ 0.54) et celui des pH 7.10-7.20 (4.12bpm/s $\pm$ 0.52).

	Groupes de pH			
	<7.10	7.10-7.20	>7.20	<i>p</i>
Effectif (n=)	11	17	44	
FC	193.1 $\pm$ 9.2	173.5 $\pm$ 8.5	174.4 $\pm$ 8.9	0.066
PAM	62.3 $\pm$ 3.4	57.5 $\pm$ 3.2	53.2 $\pm$ 3.2	0.016
SDNN	20.7 $\pm$ 3.1	15.3 $\pm$ 2.9	14.7 $\pm$ 3.0	0.083
RMSSD	21.1 $\pm$ 4.2	13.1 $\pm$ 4.1	14.8 $\pm$ 1.1	0.13
LF	0.37 $\pm$ 0.10	0.09 $\pm$ 0.10	0.18 $\pm$ 0.10	0.13
HF	0.23 $\pm$ 0.08	0.05 $\pm$ 0.07	0.12 $\pm$ 0.01	0.25
HF _{n.u.}	0.31 $\pm$ 0.04	0.31 $\pm$ 0.03	0.33 $\pm$ 0.03	0.76
FSI	77.1 $\pm$ 3.9	65.3 $\pm$ 3.7	61.4 $\pm$ 3.8	<0.001
Amplitude	92.4 $\pm$ 10.6	108.1 $\pm$ 8.6	89.8 $\pm$ 9.2	0.83
Pente	4.20 $\pm$ 0.62	4.12 $\pm$ 0.52	2.88 $\pm$ 0.54	0.068

Tableau 1.4.d.1 : Comparaison entre les marqueurs et les groupes de pH
Les valeurs sont exprimées en moyenne $\pm$ erreur standard.

Conclusion

Dans cette étude, le FSI_{moy} et la PAM était corrélées au pH, tandis que la FC et le SDNN montraient tous deux une tendance à l'augmentation en cas d'acidose, avec des résultats à la limite de la significativité. Les autres marqueurs connus de VFC que sont le RMSSD, les LF, HF, HF_{n.u.} n'étaient pas liés à l'acidose. L'amplitude des ralentissements

n'était pas liée à l'apparition d'une acidose. Pour la pente, au contraire, il existait une tendance à l'augmentation de cette pente en cas d'acidose fœtale.

Ainsi, le FSI semble être le marqueur de VFC le plus discriminant dans cette analyse. Cependant, nous voyons dans cette étude qu'il n'existe pas de marqueur unique idéal pouvant refléter toute la complexité du SNA. Il semble dès lors intéressant d'évaluer un outil multiparamétrique prenant en compte le FSI et les autres paramètres connus d'analyse du RCF pour essayer de mieux prédire l'acidose. Dès lors, nous avons voulu intégrer ces différents marqueurs dans un système de machine learning afin de sélectionner les meilleurs outils de dépistage de l'acidose fœtale.

e) Synthèse des travaux antérieurs

La figure 1.4.d.4 reprend l'historique des travaux de l'équipe et la place de mes travaux de thèse.

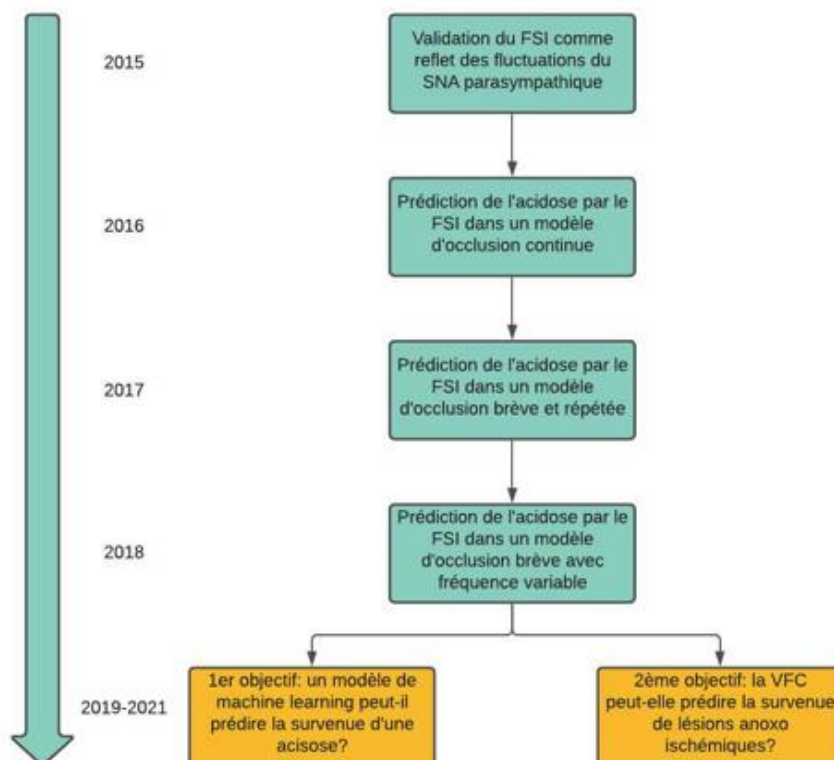


Figure 1.4.d.4 : Historique des études précédentes et objectifs de la thèse d'université.

Partie 2 – Utilisation du Machine Learning et des marqueurs de la fréquence cardiaque pour la prédiction de l'acidose fœtale.

1) Introduction

a) Intelligence artificielle, Machine learning et Deep learning

Le terme « intelligence artificielle » (IA) a été défini par l'un de ses créateurs, M. Lee Minsky, comme « la construction de programmes informatiques qui s'adonnent à des tâches qui sont, pour l'instant, accomplies de façon plus satisfaisante par des êtres humains car elles demandent des processus mentaux de haut niveau tels que : l'apprentissage perceptuel, l'organisation de la mémoire et le raisonnement critique » (49,50). Son objectif est d'accomplir des tâches humaines dites « intelligentes » grâce à des machines qui imitent l'activité cérébrale et les processus cognitif.

Le « Machine Learning » (ML), ou apprentissage automatique, est un sous-ensemble de l'IA qui a marqué un tournant évolutif de l'IA. Avant cela, l'IA consistait à apprendre aux ordinateurs les moindres détails de chaque décision qu'ils devaient prendre. Le ML permet aux ordinateurs, grâce à un développement et une implémentation d'un ensemble abondant de données, de réaliser des opérations complexes. Il utilise différents types d'algorithmes automatisés qui apprennent à modéliser des fonctions et à prévoir les actions futures à partir de données. Les algorithmes se classent en plusieurs types:

- La régression :
 - o Régression linéaire : modèle de régression qui cherche à établir une relation linéaire entre une variable, dite expliquée, et une ou plusieurs variables, dites explicatives.

- Machines à vecteurs de support (en anglais *support vector machine*, SVM) : techniques d'apprentissage supervisé destinées à résoudre des problèmes de discrimination, c'est-à-dire décider à quelle classe appartient un échantillon, et de régression, c'est-à-dire prédire la valeur numérique d'une variable. Les SVM sont une généralisation des classifieurs linéaires.
- La classification
 - Arbres de décision : outil d'aide à la décision représentant un ensemble de choix sous la forme graphique d'un arbre. Les différentes décisions possibles sont situées aux extrémités des branches (les « feuilles » de l'arbre), et sont atteintes en fonction de décisions prises à chaque étape.
 - Les forêts aléatoires (random forest) : L'algorithme des forêts d'arbres décisionnels effectue un apprentissage sur de multiples arbres de décision entraînés sur des sous-ensembles de données légèrement différents.
 - Boosting : C'est un principe qui regroupe de nombreux algorithmes qui s'appuient sur des ensembles de classifieurs binaires : le boosting optimise leurs performances. Le principe est issu de la combinaison de classifieurs (appelés également hypothèses). Par itérations successives, la connaissance d'un classifieur faible - *weak classifier* - est ajoutée au classifieur final - *strong classifier*. On appelle apprenant faible un algorithme qui fournit des classifieurs faibles, capables de reconnaître deux classes au moins aussi bien que le hasard ne le ferait (c'est-à-dire qu'il ne se trompe pas plus d'une fois sur deux en moyenne, si la distribution des classes est équilibrée). Le classifieur fourni est pondéré par la qualité de sa classification : mieux il classe, plus il sera important. Les exemples mal classés sont *boostés* pour qu'ils aient davantage d'importance vis-à-vis de l'apprenant faible au prochain tour, afin

qu'il pallie le manque. Un des algorithmes les plus utilisés en boosting s'appelle AdaBoost. D'autres algorithmes existent : RankBoost, XGBoost...

- Le partitionnement de données : méthode en analyse des données qui vise à diviser un ensemble de données en différents « paquets » homogènes
 - o L'analyse en composantes principales (ACP) : transformer des variables liées entre elles (dites « corrélées » en statistique) en nouvelles variables décorrélées les unes des autres. Ces nouvelles variables sont nommées « composantes principales », ou axes principaux. Elle permet au praticien de réduire le nombre de variables et de rendre l'information moins redondante

Le ML adopte donc une approche radicalement différente : la machine apprend toute seule en ingérant des données et en détectant des schémas récurrents.

Le Deep Learning, qui signifie “apprentissage profond”, est une forme encore plus avancée d'IA (51). Ce procédé s'apparente à un réseau de neurones artificiels tels que les réseaux neuronaux d'un cerveau humain. Plus le nombre de neurones est élevé, plus le réseau est “profond”. Il est une dérivée du ML et utilise des réseaux de neurones qui transmettent des données à travers de nombreuses couches de traitement pour interpréter les caractéristiques et les relations entre les données. Les deux schémas suivants résument les différences entre ces notions.

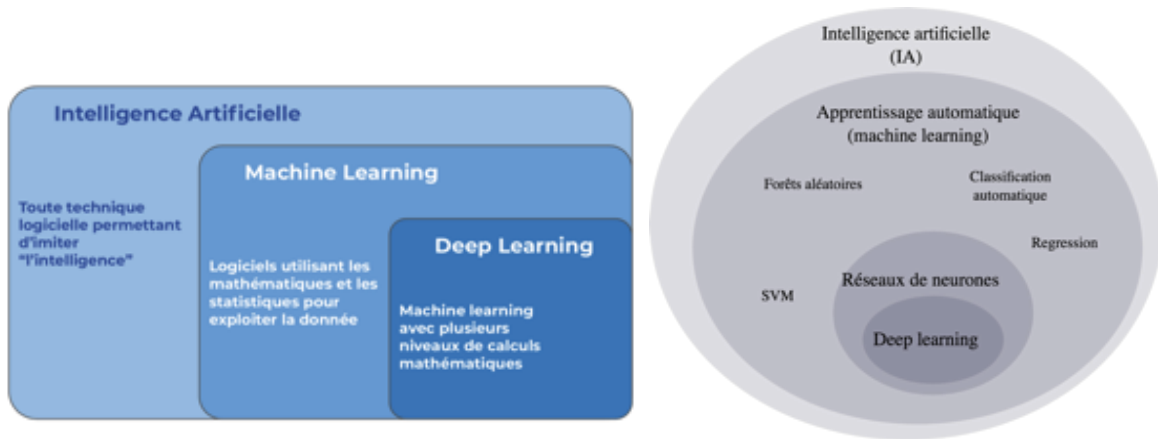


Figure 2.1.a.1 : Schémas résumant la différence entre Intelligence Artificielle (IA), Machine Learning (ML) et Deep Learning (DL). Schémas issus de <https://ledatascientist.com/l-intelligence-artificielle-ia/> et de <https://www.widoobiz.com/2019/05/22/camilo-rodriguez-lhomme-qui-voulait-demystifier-lia/>

L'intelligence artificielle est un domaine de recherche en médecine en plein développement qui offre de larges perspectives. Ses applications médicales pourraient améliorer la prise en charge des patientes et la qualité des soins (52–56).

b) Intelligence artificielle et machine learning pour l'analyse du rythme cardiaque fœtal

L'hypoxie fœtale restant une cause importante de morbi-mortalité néonatale, la surveillance fœtale pendant le travail est une préoccupation majeure (57). Celle-ci repose actuellement sur l'enregistrement du RCF par cardiotocographe (CTG) (58,59). Celui-ci, même continu pendant le travail, ne permet pas d'évaluer parfaitement l'oxygénation du fœtus ni le risque néonatal. En effet, cet outil est imparfait et subjectif avec une importante variabilité d'interprétation inter et intra opérateur (60), et ce malgré l'existence de classifications aidant à l'analyse du RCF (61).

Pour pallier à cette variabilité d'interprétation du RCF, des systèmes d'analyse informatisée et automatisée du RCF ont été mis en place afin d'améliorer le dépistage de l'hypoxie fœtale, mais également afin de réduire le taux d'interventions médicales (62,63).

Ces différents systèmes appartiennent au domaine de l'IA et pour certains au machine learning. Ils prennent en compte plusieurs paramètres du RCF, tels que la variabilité, les accélérations, les ralentissements. On peut par exemple citer le système INFANT (INFANT System, K2 Medical Systems, Plymouth, UK), qui est une interprétation automatisée par algorithmes et réseaux de neurones pour la classification du RCF (64).



Figure 2.1.b.1 : Exemple d'analyse automatisée du RCF par le système INFANT. Image issue du site <https://www.k2ms.com/>

Toutefois, une étude randomisée en 2017 sur 47 062 patientes a comparé l'utilisation du système INFANT versus l'analyse visuelle pour l'interprétation du RCF et le devenir néonatal (65). Il n'y avait pas de différence significative sur la morbi-mortalité néonatale entre les deux groupes. Ayres de Campos et al. ont eux développé un autre système d'analyse automatisée du RCF, le système SisPorto (Omniview-SisPorto 4.0, Speculum, Lisbon, Portugal) (66).



Figure 2.1.b.2 : Exemple d'analyse automatisée du RCF par le système SISPORTO. Image issue du site <https://www.omniview.eu/py>

Ils ont montré une efficacité de ce système pour prédire un score d'Apgar bas à la naissance, mais ne retrouvaient pas une bonne détection des acidoses fœtales (62). Dans un essai clinique randomisé de 2017 sur 7 730 patientes, ils ont comparé l'utilisation du système SisPorto 4.0 à l'analyse visuelle du RCF (67). Les taux d'acidose métabolique étaient bas dans les deux groupes (0,40 % contre 0,58 %), et plus faibles dans le groupe d'analyse informatique, mais cette différence n'était pas statistiquement significative. Dans une étude rétrospective de type avant/après, incluant 38 466 accouchements, Lopes-Pereira et al. retrouvaient une diminution significative du nombre de cas pour 1000 naissances d'EAI depuis l'introduction du système SisPorto et également une réduction des accouchements par césarienne (68).

Actuellement, l'utilisation de ces outils est encourageante bien qu'ils n'aient pas fait la preuve de leur efficacité dans le dépistage de l'hypoxie fœtale. Ces différents systèmes se sont surtout intéressés à l'analyse du RCF par CTG mais ne prennent pas en compte l'analyse de la VFC. Cette analyse est une piste intéressante pour le dépistage de l'hypoxie fœtale et l'ajout des marqueurs d'analyse de la VFC dans ces modèles automatisés pourrait permettre d'améliorer le dépistage des situations à risque d'acidose durant le travail.

L'objectif de cette étude était d'évaluer la prédiction de l'acidose fœtale par des méthodes de Machine Learning utilisant les marqueurs de VFC.

2) Matériel et méthodes

Afin d'obtenir une data-base d'enregistrement du RCF avec analyse de la VFC, une étude expérimentale chez le fœtus de brebis a été mise en place au sein du Département Hospitalo-Universitaire de Recherche Expérimentale (DHURE) de la Faculté de Médecine de Lille de 2017 à 2019.

a) Modèle chirurgical

Le modèle chirurgical animal expérimental est celui décrit dans la partie 1.3 (page 26, Modèle animal). Les protocoles d'anesthésie, de chirurgie et d'expérimentation étaient conformes aux recommandations du Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche, et l'étude a été approuvée par le Comité d'éthique en expérimentation animale (CEEA #2016121312148878).

b) Protocole expérimental

Le protocole démarrait 72h après la chirurgie. 1 seule manipulation était réalisée par animal. Après stabilité hémodynamique fœtale et maternelle sur une durée de 30 minutes, des OCT d'une minute étaient réalisées selon 3 phases, chacune durant une heure, tel que décrit par Prout et al. et précédemment dans la partie 1.4.d (figure 1.4.d.1, page 39) (39). La phase légère (phase A) correspondait à des OCT répétées toutes les 5 minutes. Durant la seconde phase dite modérée (phase B), le rythme était d'une OCT toutes les 3 minutes. Enfin, la dernière phase dite intense correspondait à une OCT toutes les 2 minutes (phase C). Le

protocole était interrompu si le pH artériel obtenu était inférieur à 7,10. A la fin des occlusions, une période de surveillance de 2h avait lieu. Durant chaque phase, à 20, 40 et 60 minutes, une pause de 5 minutes, appelée plateau, était réalisée afin de permettre le recueil des données gazométriques et hémodynamiques ainsi que le calcul des paramètres de la VFC sur une période stable (Figure 2.2.b.1).

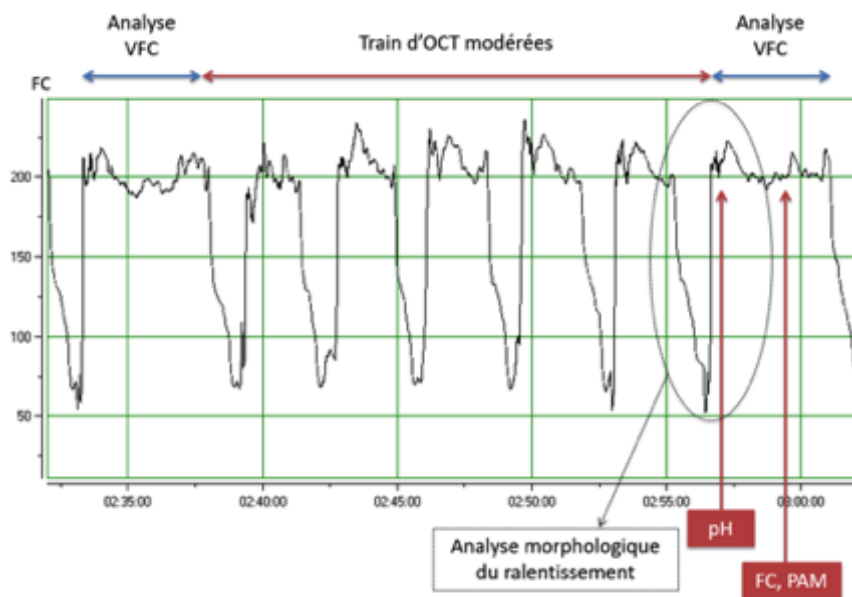


Figure 2.2.b.1 - Exemple du tracé de l'évolution de la fréquence cardiaque dans le cas d'un train d'occlusions totales d'une minute toutes les 3 minutes (occlusions à rythme modéré) avec un plateau de 5 minutes

c) Mesure des paramètres gazométriques et hémodynamiques

Paramètres biologiques fœtaux

Les gaz du sang fœtaux étaient réalisés sur des échantillons de sang artériel prélevés sur un des cathéters artériels. La mesure du pH, de la PaO₂, de la PCO₂, de l'excès de bases (BE), des lactates plasmatiques se faisait par micro-méthode sur appareil I-STAT® (Abbott Laboratoires, Abbott Park, IL USA).

Paramètres hémodynamiques fœtaux

Le cathéter artériel fœtal et le cathéter intra-amniotique étaient connectés à des capteurs de pression (Pressure Monitoring Kit, Baxter) reliés à un moniteur multiparamétrique d'anesthésie-réanimation (Merlin monitor, Hewlett Packard, Palo Alto, CA, USA). La pression artérielle fœtale était référencée à la pression amniotique afin d'obtenir la pression artérielle moyenne (PAM) corrigée. Toutes les données hémodynamiques étaient enregistrées sur support informatique grâce au logiciel Physiotrace® (36).

d) Acquisition du RCF et traitement du signal ECG

Trois des 4 électrodes ECG étaient connectées au moniteur (Merlin monitor, Hewlett-Packard, Palo Alto, CA, USA) permettant le recueil du signal ECG et le calcul de la fréquence cardiaque moyenne (FCmoy), minimale (FCmin) et maximale (FCmax). Les signaux d'ECG ont été enregistrés par une carte d'acquisition de données Physiotrace (Physiotrace, Estaris Monitoring, Lille, France).

Analyse des paramètres de la VFC

L'ensemble des analyses de l'ECG et de la série RR était effectué grâce au logiciel FSirelecture© permettant un recueil automatique des données à l'aide d'un curseur se déplaçant sur le rythme cardiaque fœtal (Figure 2.2.d.1). Cette analyse était effectuée à la fin de la période de stabilité et à chaque plateau survenant toutes les 20 minutes pendant les périodes d'occlusions. Les différents paramètres relevés étaient :

- Analyse temporelle : RMSSD, SDNN, VCT et VLT. Le delta de RMSSD, SDNN, VCT et VLT a été défini comme la différence en pourcentage d'augmentation ou de diminution par rapport à la phase de stabilité (Δ RMSSD, Δ SDNN, Δ VCT et Δ VLT).

- Analyse spectrale : LF, HF et HFnu. Le delta de HF, HFnu et LF a été défini comme la différence en pourcentage d'augmentation ou de diminution par rapport à la phase stable (Δ HF, Δ HFnu, Δ LF et Δ FSI).
- FSI : exprimé en valeurs numériques entre 0 et 100. Le FSI moyen était calculé à posteriori comme la moyenne des FSI instantanés sur 4 minutes à la fin de la période correspondant au plateau. Le delta de FSI a été défini comme la différence en pourcentage d'augmentation ou de diminution par rapport à la phase stable (Δ FSI).



Figure 2.2.d.1 – Logiciel FSIRELECTURE ©. Le FSI, SDNN, RMSSD, LF, HF, VLT, VCT sont mesurés à la fin d'un plateau entre les occlusions cordinales entraînant des ralentissements du RCF (2^{ème} fenêtre).

Analyse morphologique

L'analyse morphologique des ralentissements comprenait la durée, l'amplitude (du début au nadir) et la vitesse de la pente du ralentissement (amplitude/durée) (Figure 1.4.d.3, partie 1.4.d, page 41). De la même façon que décrit par Cahill et al., nous avons étudié l'aire totale des décélérations définie par la somme des aires de chaque décélération, chaque aire

étant estimée comme $\frac{1}{2} \times \text{durée} \times \text{amplitude}$ (48). Cette analyse a porté sur le dernier ralentissement avant la phase de plateau.

Au total, 23 variables ont été étudiées. Elles sont détaillées dans le tableau ci joint par catégories (Tableau 2.2.d.1):

Type d'analyse	Variables
Analyse de la fréquence cardiaque	FCmoy, FCmin, FCmax
Analyse de la VFC	VCT, VLT, Delta-VCT, Delta-VLT, RMSSD, SDNN, Delta-RMSSD, Delta-SDNN, FSI, Delta-FSI, HF, HFnu, LF, Delta-HF, Delta-HFnu, Delta-LF
Analyse de la morphologie des ralentissements	Amplitude du ralentissement, durée, pente, AUC

Tableau 2.2.d.1: Résumé des différentes variables utilisées dans les modèles statistiques selon le type d'analyse.

e) Analyse statistique

Notre modèle expérimental permettait d'obtenir entre 1 et 9 mesures (1 toutes les 20 minutes) de données gazométriques/VFC par fœtus. L'acidose a été définie comme un pH artériel $< 7,10$ et 2 groupes de pH ont été ainsi créés en fonction de la présence ou non d'une acidose. La normalité des distributions a été évaluée à l'aide d'histogrammes et du test de Shapiro-Wilk. Les variables quantitatives sont exprimées sous forme de moyenne $\pm$ écart-type en cas de distribution normale ou de médiane (intervalle interquartile, IQR) en cas de distribution non normale. Les variables qualitatives sont exprimées en nombre (pourcentage). La méthode statistique a suivi plusieurs étapes.

Sélection des variables

Une analyse en composantes principales (ACP) a été appliquée à toutes les variables disponibles afin d'identifier les variables fortement corrélées entre elles. Il s'agit d'une approche à la fois géométrique (les variables étant représentées dans un nouvel espace, selon des directions d'inertie maximale) et statistique (la recherche portant sur des axes indépendants expliquant au mieux la variabilité – la variance – des données). Les coefficients de corrélation de Pearson entre les variables quantitatives ont été décrits également. Sur la base des résultats de l'ACP, des coefficients de corrélation de Pearson ($>0,80$) et de la pertinence clinique, les variables non corrélées ont été identifiées et sélectionnées. La pertinence clinique des variables était décidée par les obstétriciens de l'équipe.

Prédiction de l'acidose par un modèle de régression logistique

Une analyse univariée comparative selon le groupe « acidose » versus « pas d'acidose » a été réalisée sur les variables sélectionnées. Puis une analyse multivariée a été réalisée par régression logistique afin de définir un modèle prédictif de l'acidose. Afin de limiter le risque de surestimation du modèle du fait d'un faible nombre d'événement acidose, une analyse supplémentaire utilisant un ré échantillonnage par bootstrap a été réalisée avec une sélection automatisée des variables au préalable (backward) (69). Pour chaque variable, l'hypothèse de log-linéarité a été évaluée en utilisant les fonctions splines cubiques restreintes et l'absence de colinéarité entre les variables a été vérifiée en calculant les facteurs d'inflation de la variance. Lorsque la log-linéarité a été rejetée, les variables ont été log-transformées ou divisées en classes (avec des seuils déterminés en fonction de la valeur médiane de la variable). Pour chaque variable candidate et chaque paire possible de variables candidates (pour tenir compte du problème de colinéarité), il a été déterminé la proportion de répliques dans lesquelles cette variable (ou paire de variables) a été retenue dans le modèle final. Les

variables sélectionnées dans au moins 70% des répliques et les variables ayant la fréquence de sélection la plus élevée parmi les paires sélectionnées dans au moins 90% des répliques ont été retenues comme prédicteurs pour construire le modèle prédictif. Le modèle prédictif final a été obtenu en effectuant une régression logistique incluant les variables retenues. Tous les résultats ont été exprimés en odds ratios (OR) avec leurs intervalles de confiance (IC) à 95%. La capacité prédictive a été évaluée par une analyse de la courbe ROC (receiver operating characteristic), en calculant l'aire sous la courbe (AUC) et son intervalle de confiance à 95%.

Prédiction de la survenue d'une acidose par l'utilisation d'arbre décisionnel.

Ensuite, un modèle prédictif de l'acidose a été construit en introduisant les variables sélectionnées dans des algorithmes d'arbres décisionnels selon différents modèles (CHAID, CARD, ...). L'arbre de décision a été développé à l'aide de l'algorithme CHAID, qui génère des arbres de décision binaires avec une valeur P fixée à 0,05 (ajustée par Bonferroni pour les comparaisons multiples). Les valeurs seuils ont été sélectionnées automatiquement pour les paramètres par le logiciel Sipina. Nous avons analysé leurs performances en calculant les sensibilités (Se), les spécificités (Sp), les valeurs prédictives positives et négatives (VPP et VPN), et les rapports de vraisemblance (LR) positifs et négatifs.

Les analyses ont été réalisées sur les cas complets (enregistrements comprenant les 23 variables). Les tests statistiques ont été effectués au niveau α bilatéral de 0,05. Les données ont été analysées à l'aide du logiciel SAS version 9.4 (SAS Institute, Cary, NC) et du logiciel Sipina.

3) Résultats

a) Caractéristiques de la population

21 fœtus de brebis ont été instrumentés et analysés. Au total, 170 mesures de RCF couplés à un pH ont été obtenues. Parmi ces 170 mesures, les 23 variables de la variabilité du RCF étudiées pour notre modèle n'étaient disponibles que pour 132 mesures, du fait de la qualité du signal, dont 29 dans le groupe acidose et 103 dans le groupe pas d'acidose. Le tableau 2.3.a.1 décrit les caractéristiques de la population.

	Groupes de pH	
	≥ 7.10	< 7.10
Effectif (n=)	103	29
FC (bpm)	177.4 ± 25.63	182.9 ± 28.04
FCmax	178.0 ± 26.44	184.4 ± 26.60
FCmin	81.86 ± 23.51	82.69 ± 25.91
pH	7.251 ± 0.081	7.020 ± 0.082
SDNN	16.64 ± 8.775	18.22 ± 7.404
Delta-SDNN	5.136 ± 9.161	4.470 ± 10.35
RMSSD	13.78 ± 9.848	16.19 ± 7.626
Delta-RMSSD	3.593 ± 10.76	3.877 ± 11.47
LF	0.217 ± 0.266	0.284 ± 0.296
Delta-LF	0.133 ± 0.269	0.178 ± 0.318
HF	0.123 ± 0.185	0.153 ± 0.158
Delta-HF	0.074 ± 0.193	0.094 ± 0.182
HF _{n.u.}	0.322 ± 0.086	0.335 ± 0.077
Delta-HF _{nu}	0.023 ± 0.098	0.025 ± 0.084
FSI moy	56.68 ± 11.32	67.44 ± 14.07
Delta-FSI	-0.790 ± 13.71	4.911 ± 17.73
VCT (ms)	4.645 ± 2.372	5.066 ± 2.182
Delta-VCT	1.265 ± 2.214	0.877 ± 2.561
VLT (ms)	50.32 ± 28.51	52.39 ± 27.93
Delta-VLT	16.47 ± 26.14	11.87 ± 28.94
Durée (sec)	40.53 ± 17.89	46.90 ± 22.06
Amplitude (bpm)	96.54 ± 27.03	101.8 ± 26.28
Pente (bpm/sec)	2.874 ± 1.539	2.683 ± 1.413
AUC	37496 ± 54008	32179 ± 70043

Tableau 2.3.a.1 : Caractéristiques des enregistrements du RCF selon le groupe acidose ou non acidose.

Résultats exprimés en moyenne +/- écart type

b) Sélection des variables corrélées.

L'analyse en composantes principales et les corrélations de Pearson ont mis évidence plusieurs variables fortement corrélées. L'ACP est représentée sur la figure 2.3.b.1. Les deux premières dimensions de l'ACP expliquaient 53,3% de l'inertie totale. Les variables les mieux représentées étaient celles dont les flèches étaient les plus longues et étaient les variables de la VFC. On retrouvait de fortes corrélations entre plusieurs groupes de variables de la VFC sur cette ACP:

- LTV, Δ LTV, STV, Δ STV
- LF, Δ LF, HF, Δ LF
- SDNN, Δ SDNN
- RMSSD, Δ RMSSD
- FSI, Δ FSI, HFnu, Δ HFnu.

Les variables du RCF (FCmin, FCmax, FCmoy, durée, amplitude, pente, AUC) étaient moins bien représentées et moins bien corrélées entre elles.

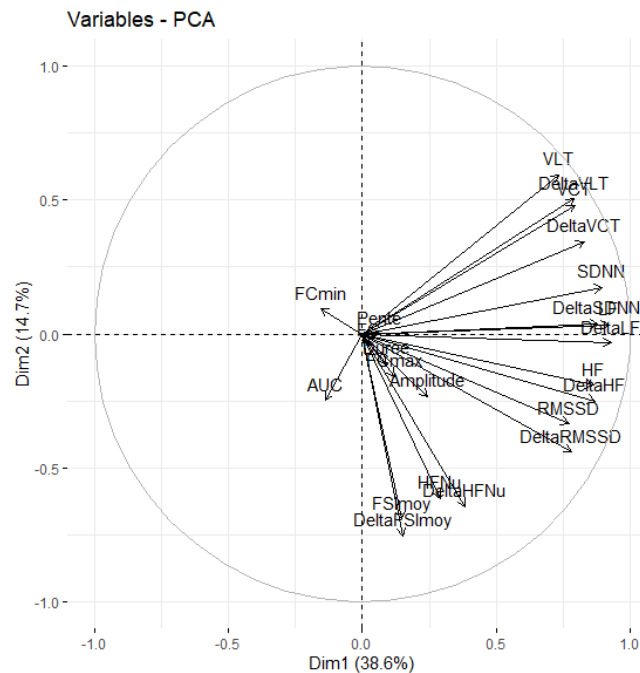
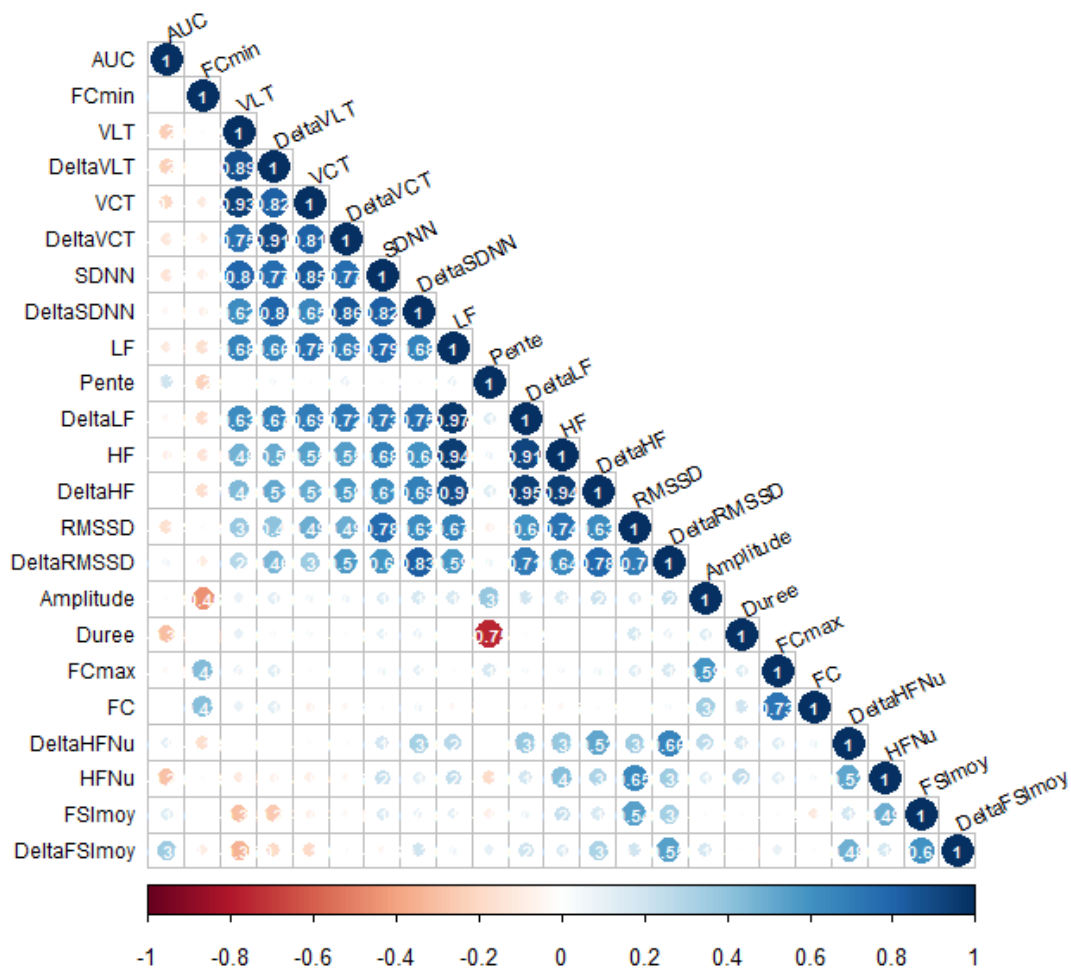


Figure 2.3.b.1 : Analyse en composantes principales.

Nous avons utilisé les coefficients de corrélation de Pearson en complément de l'ACP pour la sélection des variables (Figure 2.3.b.2). Ce test a montré de fortes corrélations ($>0,80$) entre :

- VLT, Δ VLT, VCT, Δ VCT,
- SDNN, Δ SDNN,
- LF, Δ LF, HF, Δ HF.



Pour l'analyse multivariée par ML, il a été nécessaire de réduire le nombre de variables. Selon l'ACP et les coefficients de corrélation de Pearson, 3 groupes de variables très corrélées entre elles ressortaient. Ainsi une variable pouvait être sélectionnée parmi ces groupes :

- VLT, Δ VLT, VCT, Δ VCT : VCT a été retenue du fait de son utilisation plus fréquente en pratique clinique
- SDNN, Δ SDNN : SDNN a été retenue, l'état de base n'étant pas toujours connu en pratique clinique
- LF, Δ LF, HF, Δ HF : LF a été retenue car les HF représentent le système parasympathique, qui était déjà représenté avec le RMSSD et le FSI_{moy}

Pour les autres variables à sélectionner parmi les plus faiblement corrélées (FC_{moy}, FC_{min}, FC_{max}, Amplitude, Durée, Pente, AUC, FSI_{moy}, Delta-FSI_{moy}, RMSSD, Delta-RMSSD, HF_{nu}, Delta-HF_{nu}), FC_{min}, FC_{moy}, Pente et AUC ont été exclus de manière aléatoire pour rendre cohérent le nombre de variables du modèle avec l'effectif statistique. Ainsi au total, 12 variables ont été retenues :

Type d'analyse	Variables
Analyse de la fréquence cardiaque	FC _{max}
Analyse de la VFC	VCT RMSSD, SDNN, Delta-RMSSD, FSI, Delta-FSI HF _{nu} , Delta-HF _{nu} , LF
Analyse de la morphologie des ralentissements	Amplitude et durée

Tableau 2.3.b.1 : Variables sélectionnées

c) Sélection des variables et prédiction de l'acidose

Pour la pratique clinique, nous avons voulu savoir quelles variables du RCF pouvaient mieux prédire l'acidose fœtale en tant que variable indépendante.

Modèles de régression logistique univariée

En régression logistique univariée (Table 2), le FSI était la seule variable significative pour la prédiction de l'acidose avec un $p < 0,002$, OR=1,072(1,034-1,112), AUC=0,726

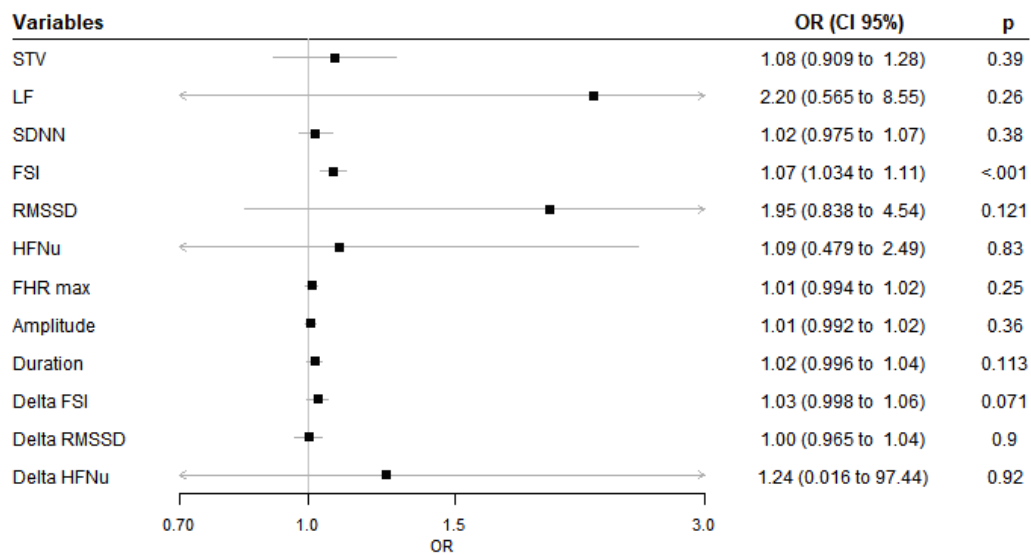


Figure 2.3.c.1 : Comparaison des différentes variables en analyse univariée pour la prédiction de l'acidose.
p est significatif si $< 0,05$.

Modèles de régression logistique multivariée

Les 12 variables ont été utilisées dans les modèles de régression logistique multivariée. Après sélection des variables par « Backward », 5 variables parmi les 12 ont été sélectionnées : FSI, LF, HFnu, Durée, Δ RMSSD. En utilisant ces 5 variables dans un modèle de bootstrap, une seule variable était sélectionnée, le FSI. L'AUC du FSI seul dans ce modèle était de 0,726 avec une sensibilité à 0,59, une spécificité à 0,83, une VPP à 0,49 et une VPN à

0,88 (Figure 2.3.c.2). 77% des enregistrements étaient bien classés et 23% étaient mal classés. Aucun seuil de prédiction de l'acidose n'a pu être déterminé à partir de ces différents modèles de régression logistique.

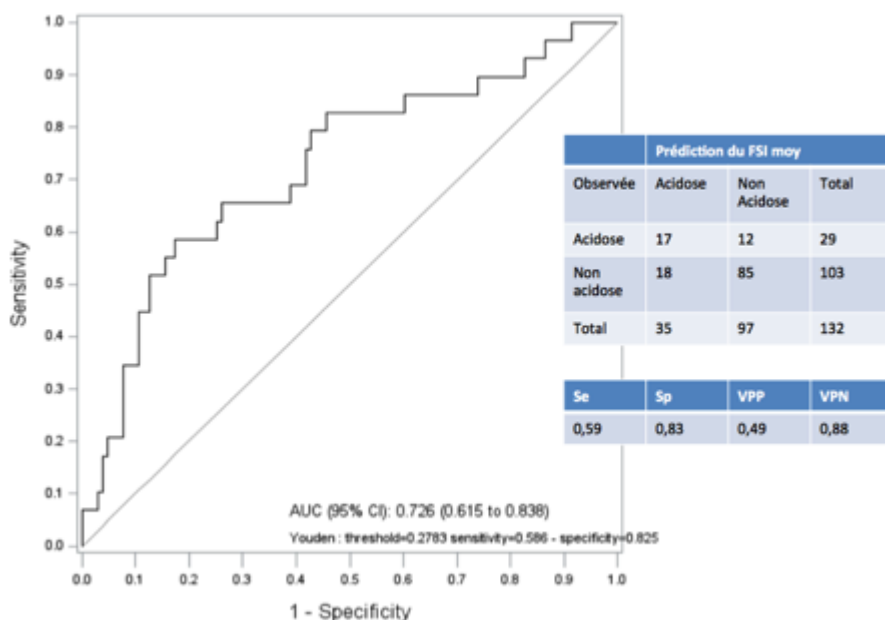


Figure 2.3.c.2 : Courbe ROC pour la variable FSI moy.

AUC : Aire sous la courbe ; Se: sensibilité ; Sp: spécificité ; VPP: valeur prédictive positive ; VPN: valeur prédictive négative.

Arbres décisionnels

Deux arbres décisionnels ont été testés : Algo CHAID et algo CART (Figure 2.3.c.3 et 2.3.c.4). Pour chaque arbre, les 12 variables sélectionnées précédemment ont été utilisées. Au vu de notre faible effectif statistique, nous avons arrêté notre classification par l'arbre décisionnel à 3 nœuds.

En utilisant l'algo CHAID, la première variable qui permettait de classer les enregistrements en acidose ou non acidose était le FSI, puis HFnu, SDNN, Delta-FSI, SDNN et la durée des décélérations (Figure 2.3.c.3). Ce modèle permettait de classer correctement 102/103 enregistrements en non acidose et 16/29 enregistrements en acidose, soit une sensibilité de 0,55, une spécificité de 0,99, une VPP de 0,94 et une VPN de 0,89.

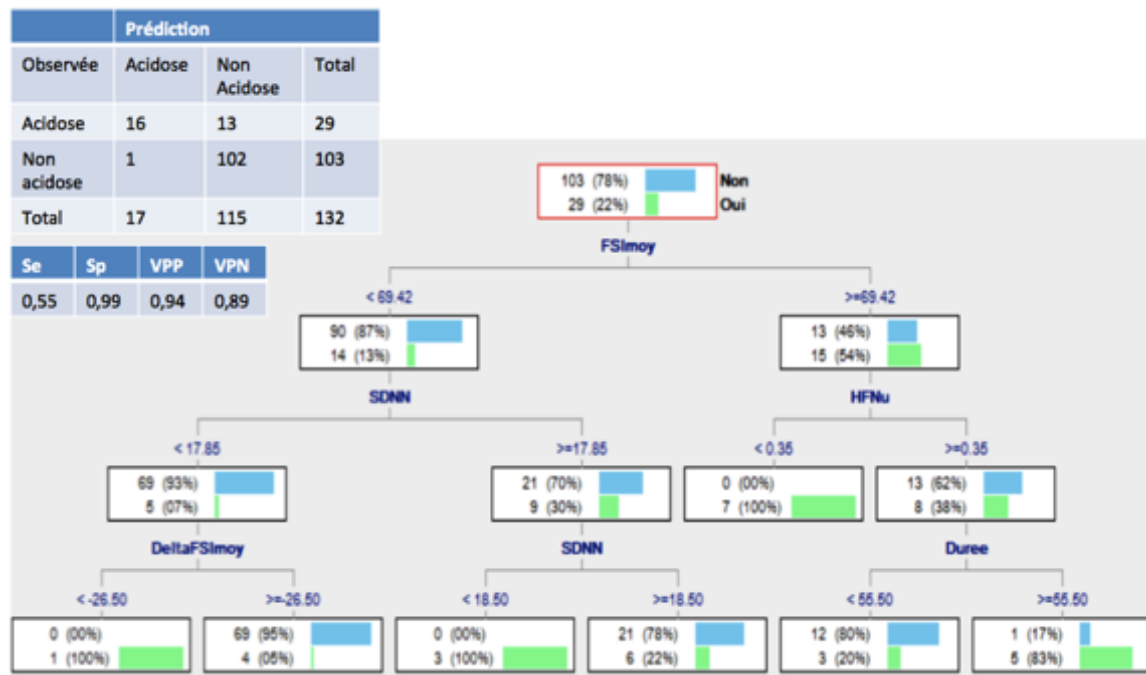


Figure 2.3.c.3: Arbre décisionnel selon le modèle Algo-CHAID.

En utilisant l'arbre Algo-CART et en s'arrêtant à 3 nœuds, la première variable qui permettait de classer les enregistrements en acidose ou non acidose était le FSI, puis HFnu et SDNN puis la durée et l'amplitude des décélérations (Figure 2.3.c.4). Ce modèle permettait de classer correctement 99/103 non acidose et 17/29 acidose soit une sensibilité de 0,72, une spécificité de 0,95, une VPP de 0,81 et une VPN de 0,92.

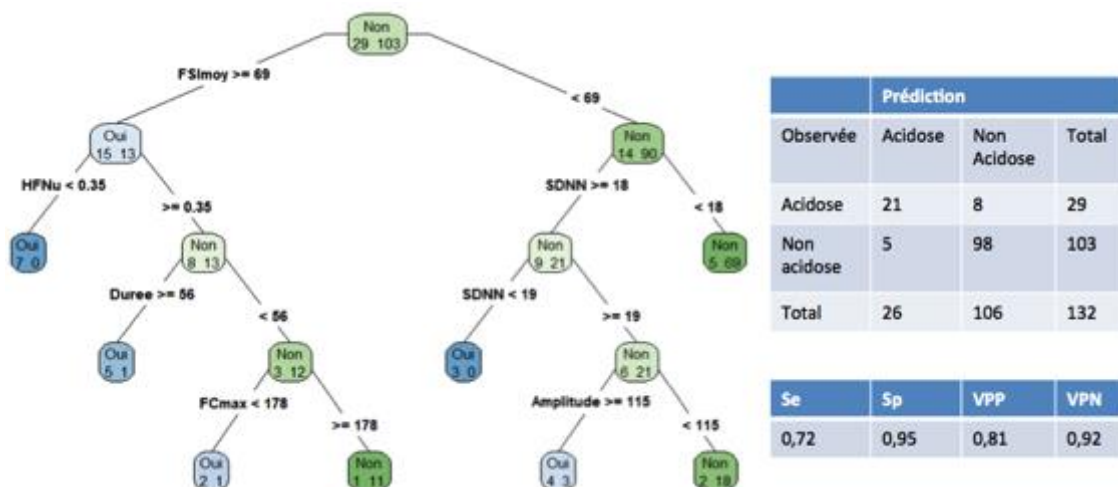


Figure 2.3.c.4: Arbre décisionnel selon le modèle Algo-CART

4) Discussion

a) Résultats principaux

L'utilisation d'algorithmes de machine learning, intégrant l'analyse de la VFC dans un modèle expérimental chez le fœtus de brebis, ne semble pas prédire de manière optimale l'acidose fœtale. Cependant, malgré une faible sensibilité, les modèles montrent tous une très bonne spécificité.

Les arbres décisionnels semblaient être plus prédictifs de l'acidose et sont plus proches du raisonnement décisionnel clinique. Il était intéressant de mettre en évidence que les variables sélectionnées et les plus discriminantes étaient celles de la VFC par rapport aux variables plus classiquement utilisés en clinique (morphologie des ralentissements et fréquence cardiaque). Enfin, quel que soit le modèle de ML utilisé, le FSI ressort comme étant la variable la plus discriminante, soulignant l'importance du parasymphatique dans la régulation des mécanismes d'adaptation du fœtus à l'hypoxie.

b) Interprétation

Malgré les progrès de l'IA en médecine au cours des dernières années, la littérature dans le domaine de l'interprétation du RCF reste rare. Plusieurs auteurs ont étudié *a posteriori* la prédiction de l'acidose fœtale par ces systèmes de ML. Pour cela, ils ont repris des enregistrements de RCF par cardiotocographe (CTG), les ont analysés par différents systèmes de ML et de DL et les ont comparés à l'analyse visuelle pour la prédiction des RCF pathologique ou du pH à la naissance (5,8–10,70–72). Par exemple, Zhao et al ont étudié plusieurs caractéristiques du RCF en se basant sur les recommandations de la FIGO de 2015 et les ont intégrées dans différents algorithmes de ML afin de prédire l'acidose à la naissance: arbres décisionnels, SVM et AdaBoost (9). Ils ont analysé 552 enregistrements

perpartum de RCF obtenus par CTG de 2009 à 2012, classés en deux groupes selon le pH (banque de données de République Tchèque, hôpital universitaire de Brno) (73). Dans le groupe pH<7,15, 105 enregistrements ont été analysés en comparaison de 447 dans le groupe pH>7,15. Les variables qui ont été incluses dans leur modèle de ML étaient : analyse selon la classification FIGO (ligne de base, décélérations), analyse temporelle (RR, NN, SDNN, RMSSD, VCT), analyse fréquentielle (HF, LF et VLF) et analyse non linéaire (ApEn, SampEn, LZC, AAC, ADC, APRS, DPRS, SD1, SD2). L'AdaBoost était le plus performant et permettait une bonne prédiction de l'acidose avec une Se à 92% et une à Sp 90%. La même équipe s'est également intéressée aux réseaux de neurones, à partir des mêmes enregistrements, et retrouvait une meilleure prédiction de l'acidose (pH<7,15) que les systèmes plus classiques de ML avec une précision de 98,69%, une Se à 99,28% et une Sp à 98,10% (74). En 2019, Hoodbhoy et al. ont comparé dix algorithmes de ML différents pour l'interprétation de 2126 enregistrements CTG de patientes au 3^{ème} trimestre de grossesse (72). Ils ont comparé la performance du ML à l'analyse visuelle du RCF effectuée par 3 obstétriciens experts pour classer le RCF en normal, suspect, pathologique. Sur les 2126 enregistrements, 70% étaient classés en normaux, 20% en suspect et 10% en pathologiques. Sur l'ensemble des 10 modèles de ML étudiés, XGBoost, les arbres décisionnels et les forêts aléatoires ont obtenu une précision élevée (>96%) et une sensibilité (>99%) pour prédire les RCF suspects et pathologiques. En ne prenant en compte que les RCF suspects, la sensibilité de XGBoost était moins bonne (73%), mais dans l'ensemble, sur tous les enregistrements, XGBoost avait la meilleure précision (93%).

Ainsi, les systèmes de ML semblent performants sur la prédiction de l'acidose. Pourtant, ces systèmes d'IA ne sont actuellement pas utilisés en pratique clinique, probablement du fait d'une absence de supériorité par rapport à l'interprétation visuelle sur le pronostic néonatal.

En effet, la plupart des études comparant l'analyse visuelle du RCF à l'interprétation par système automatisé en *per partum* n'ont pas montré de supériorité de l'analyse automatisée sur le pronostic néonatal. Seule l'étude rétrospective de type avant/après de Lopes-Pereira et al utilisant le SisPorto a montré une réduction du risque d'EAI (68). En effet, dans leur étude incluant 38 446 accouchements, ils retrouvaient une diminution significative du nombre de cas pour 1000 naissances d'EAI depuis l'introduction du système SisPorto (période 2001-2003 : 5,3% IC95%(4,0-7,0) versus 2004-2014 : 2,2% IC95%(1,7-2,8), RR=0,42 IC95%(0,29-0,61)). Ils mettaient également en évidence une faible réduction des accouchements par césarienne en urgence (21,6% IC95%(20,7-22,4) versus 19,2% IC95%(18,8-19,7), RR=0,91 (0,87-0,95)) et une augmentation du taux d'accouchements instrumentaux (19,5% IC95%(18,7-20,3) versus 21,4%(21,0-21,9), RR=1,07 IC95%(1,02-1,13)). Par ailleurs, ces systèmes existants développés (SisPorto, INFANT), ne sont pas compatibles avec tous les CTG existants et nécessitent un coût, ce qui limite également leur utilisation pour le moment (75). Ces systèmes d'analyse automatisée, du fait de leur équivalence de performance à l'analyse visuelle, trouveraient probablement un intérêt dans les maternités où les obstétriciens ne peuvent pas être sur place.

Dans notre étude expérimentale, un autre résultat intéressant est la supériorité du FSI par rapport aux autres marqueurs. Reflet des fluctuations du système parasympathique, nos résultats corroborent l'importance du système nerveux autonome montrée par différentes équipes (7,76–78). Par ailleurs, une approche plus physiologique de l'interprétation du RCF pendant le travail est proposée par de nombreux auteurs (79–82). La plupart de ces connaissances proviennent d'études expérimentales, en particulier des études menées par l'équipe de Lear et al. (17,76,83,84). Dans leurs différentes études expérimentales, ils ont souligné l'importance du système parasympathique dans l'adaptation fœtale à l'hypoxie via

l'activation du chémoréflexe (83). En effet, lors du blocage du système parasympathique, par injection d'atropine ou par vagotomie cervicale, dans un modèle expérimental d'OCT répétées chez le fœtus de brebis, ils ont montré une diminution globale de la VFC et une augmentation importante de la FC et de la PAM juste après l'occlusion dans le groupe atropine et vagotomie par rapport à un groupe contrôle, montrant l'importance du système parasympathique dans la régulation des mécanismes d'adaptation du fœtus à l'hypoxie (Figures 2.4.1 et 2.4.2, issues de Lear et al.) (76).

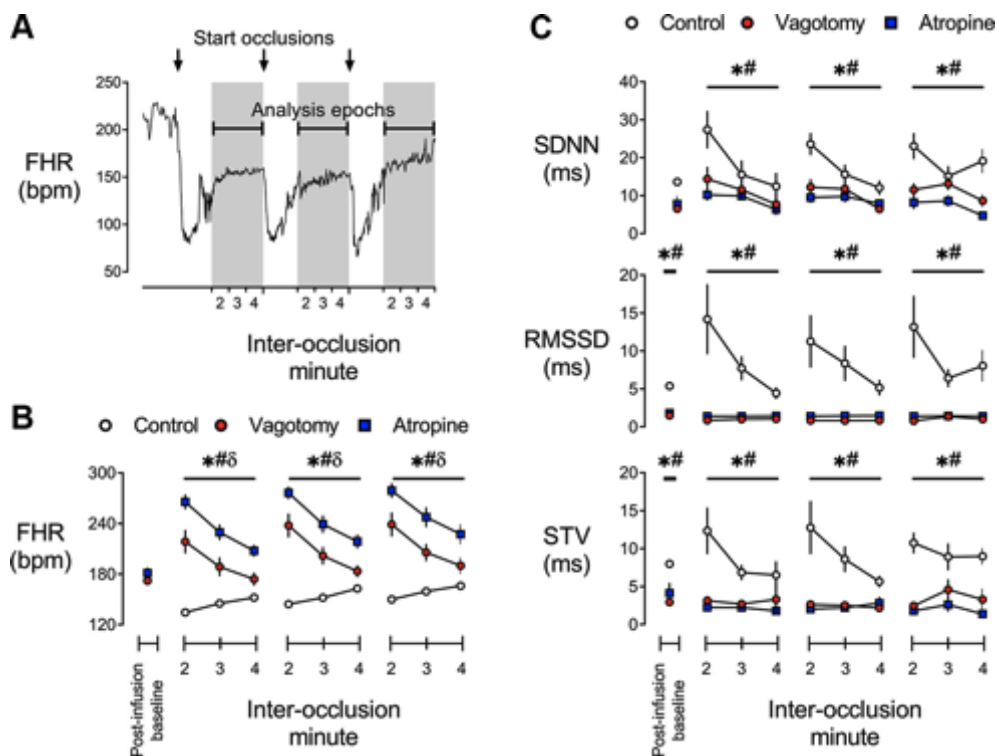


Figure 2.4.1 : Fréquence cardiaque fœtale (FHR) et variabilité de la fréquence cardiaque (VFC) (SDNN, RMSSD, STV (VCT)) entre les occlusions. Issue de Lear et al.

A : exemple de RCF pendant la série d'occlusions dans le groupe témoin. Les périodes d'analyse de la FC et de la VFC sont en gris (période entre les occlusions).

B : effet de l'atropine et de la vagotomie sur la FC entre les occlusions.

C : effet de l'atropine et de la vagotomie sur la VFC (RMSSD, SDNN, STV (VCT)).

Les données sont en moyenne. * $p < 0,05$ contrôle vs. vagotomie, # $p < 0,05$ contrôle vs atropine, $\delta p < 0,05$ atropine vs vagotomie. Bpm : battements/min.

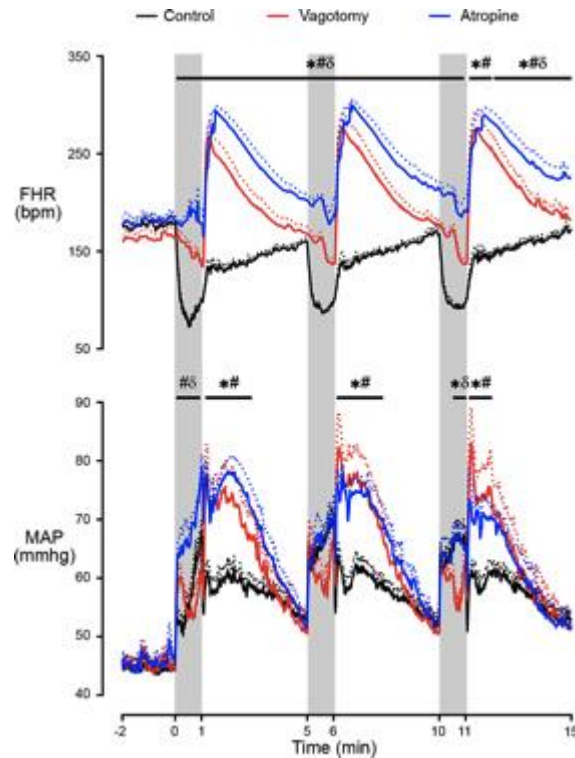


Figure 2.4.2 : Effet de l'atropine et de la vagotomie sur le rythme cardiaque fœtal (RCF, FHR) et la pression artérielle moyenne (PAM, MAP) pendant les occlusions. Issue de Lear et al. Les périodes d'occlusion sont représentées en gris. Les données sont en moyennes. * $p < 0,05$ contrôle vs. vagotomie, # $p < 0,05$ contrôle vs. atropine, $\delta p < 0,05$ atropine vs vagotomie. Bpm :battements/min.

c) Forces

La plupart des études retrouvées dans la littérature sur le ML utilisent des enregistrements *per partum* par CTG nécessitant un traitement du signal avant d'être analysés. Notre étude a l'avantage d'utiliser un enregistrement ECG sans traitement de signal et permettant d'intégrer l'analyse de la VFC obtenue à partir du signal brut ECG. Il s'agit par ailleurs de la première étude avec une évaluation répétée de l'état acido-basique fœtal par la réalisation de prélèvements réguliers pendant le protocole d'occlusions cordinales, permettant ainsi de repérer le moment précis d'apparition de l'acidose.

d) Limites et perspectives

Tous les algorithmes existants de ML n'ont pu être utilisés dans notre modèle du fait d'un trop faible nombre d'événements « acidose ». En effet nous n'avions que 29 événements acidose. Les modèles de ML plus complexes de type Random Forest, Machine à Vecteur de Support (SVM) ou réseaux de neurones ne sont donc pas adaptés pour notre étude et n'ont pas été appliqués. Ainsi les systèmes de ML que nous avons utilisés sont des systèmes simples. L'interprétation de nos résultats doit prendre en compte ce faible nombre d'événements dans le groupe « acidose ». Il serait intéressant de tester ces différents modèles sur un plus grand échantillon.

L'expérimentation animale, limitée en nombre d'animaux d'un point de vue éthique, se prête mal à la réalisation d'un test à plus grande échelle. L'utilisation de tels systèmes chez l'être humain sera donc intéressante mais nécessitera l'obtention d'un ECG fœtal de bonne qualité. D'autre part, nous avons utilisé comme gold standard pour classer nos enregistrements le pH fœtal. Il est de plus en plus décrit dans la littérature que le pH fœtal n'est pas un bon marqueur prédictif de l'EAI (85–87). L'analyse des systèmes de ML pour la prédiction des lésions d'EAI plutôt que l'acidose sera donc à évaluer.

L'intégration de l'analyse de la VFC pour prédire les lésions d'EAI aura toute sa place dans ce modèle. En effet, il a été montré chez les patients victimes d'un accident vasculaire cérébral, que des modifications de la VFC, reflétant un dysfonctionnement du SNA, étaient associés à un risque accru de mortalité et de morbidité neurologique (88,89). Cependant, les modifications de la VFC à la phase précoce d'un AVC n'ont pas été étudiées. Ainsi, chez l'adulte, Block et al mènent une étude prospective sur l'utilisation de l'IA pour la détection précoce des lésions cérébrales ischémiques chez les patients opérés d'une endartériectomie carotidienne ou ayant eu une embolectomie cérébrale (90). Ils utiliseront dans leur modèle d'IA, les marqueurs EEG et de la VFC.

5) Conclusion

L'utilisation du ML pour l'interprétation du RCF a l'avantage principal de permettre de réduire la variabilité inter-observateur et pourrait améliorer le bien-être du fœtus et le pronostic néonatal. Elle pourrait également avoir d'importantes implications médico-légales en fournissant une analyse objective et non biaisée du CTG. Ainsi les systèmes d'analyse automatisée du RCF sont encourageants et d'autres études doivent être poursuivies.

Partie 3 – Prédiction de l'encéphalopathie anoxo-ischémique : association entre variabilité de la fréquence cardiaque fœtale et lésions cérébrales dans un modèle d'occlusions cordonales totales et répétées

L'encéphalopathie anoxo-ischémique (EAI) représente une étiologie importante des encéphalopathies chez les nouveau-nés (2). Malgré les progrès des soins périnataux, l'EAI périnatale aiguë modérée à grave chez les nouveau-nés peu prématurés ou à terme demeure une cause importante de mortalité, d'atteinte neurologique aiguë et d'incapacité neuro développementale à long terme (91,92). L'objectif de cette partie était de mettre en évidence une relation entre l'acidose fœtale, la VFC et les lésions cérébrales anoxo-ischémiques. Après un rappel de la physiopathologie du débit cérébral lors d'une hypoxémie, nous décrirons notre expérimentation animale réalisée pour répondre à l'objectif.

1) Introduction

Dans les pays développés, 30% des cas d'encéphalopathie néonatale sont liés à une hypoxie périnatale et peuvent entraîner une déficience ou un handicap (2). Une acidose néonatale sévère, définie par un pH au cordon $< 7,0$, est un des critères majeurs pour définir une asphyxie fœtale. Elle est associée à un risque accru de lésions cérébrales hypoxiques et ischémiques (3). Ces lésions sont la principale cause de morbidité neurologique chez les nouveau-nés. L'enjeu de la surveillance fœtale pendant le travail est de prévenir l'acidose fœtale et la survenue d'une EAI. Malgré les différents moyens existants pour le dépistage de l'hypoxie fœtale en per partum, aucune technique actuellement utilisée (c'est-à-dire l'analyse de la cardiotocographie, l'analyse informatisée du RCF) ne permet de prédire l'EAI (91,92). En effet, Graham et al. ont constaté que les anomalies du RCF survenant durant la dernière

heure du travail étaient peu prédictives de l'EAI néonatale, avec une aire sous la courbe de 0,68 (93). Dans l'essai contrôlé randomisé INFANT, l'utilisation d'une analyse automatisée du RCF pendant le travail ne permettait pas d'améliorer le pronostic néonatal en comparaison à une analyse classique. De même, il n'y avait pas de différence entre les deux groupes dans le développement des enfants à l'âge de deux ans (65). Ruth et al ont montré eux que l'état acido-basique du fœtus n'était pas corrélé au risque de lésions d'EAI (85). Des études plus récentes ont confirmé que le pH était un mauvais reflet de l'issue à long terme après une asphyxie périnatale (85,94,95). Il y a ainsi un intérêt à développer de nouveaux moyens d'évaluation du bien être fœtal à la fois objectifs, non invasifs et prédictifs du risque d'hypoxie néonatale sévère, mais surtout de survenue d'une EAI.

Une des pistes est l'analyse du SNA. En effet, la fréquence cardiaque est régulée en permanence par l'action des fibres sympathiques et parasympathiques au niveau du nœud sino-auriculaire. En cas d'atteinte cérébrale, le SNA dysfonctionne (96). Une lésion directe du tronc cérébral entraînant un dysfonctionnement autonome pourrait être un mécanisme physiopathologique possible (97). La VFC serait alors un outil prometteur pour prédire les lésions cérébrales.

Une association entre des anomalies de la VFC et des lésions cérébrales précoces et sévères chez le nouveau-né a été mise en évidence dans les jours suivants la naissance (96). Bien que les données soient peu nombreuses, il semble dès lors intéressant de l'évaluer chez le fœtus. Les études sur modèles animaux soutiennent cette hypothèse (98). Ainsi, la VFC pourrait être un marqueur précoce des lésions cérébrales d'EAI (86).

L'objectif principal de notre travail était d'évaluer la prédiction de l'analyse de la VFC dans la survenue de lésions d'EAI dans un modèle d'occlusions cordinales répétées chez le fœtus de brebis. L'objectif secondaire était d'évaluer les associations entre les biomarqueurs hémodynamiques et gazométriques et l'apparition de l'EAI.

2) Physiopathologie du maintien du débit cérébral lors d'une hypoxémie

Le fœtus privé d'oxygène réagit d'abord en maintenant l'oxygénation de ses organes essentiels, le cerveau, le cœur, les surrénales et le placenta. Plusieurs mécanismes permettent de maintenir un flux cérébral normal durant une hypoxémie. Le premier est la baisse de la résistance vasculaire par l'effet local vasodilatateur du CO₂ (99,100). Un autre est lié à la redistribution vasculaire vers les organes dits nobles du sang oxygéné par notamment une hausse du débit cardiaque induits par les décharges du système sympathique et des catécholamines circulantes (22). Enfin, on note une augmentation de la pression artérielle systémique due à la vasoconstriction périphérique. Ces mécanismes, comme le montre la figure 3.2.1 sont régulés par le SNA (81).

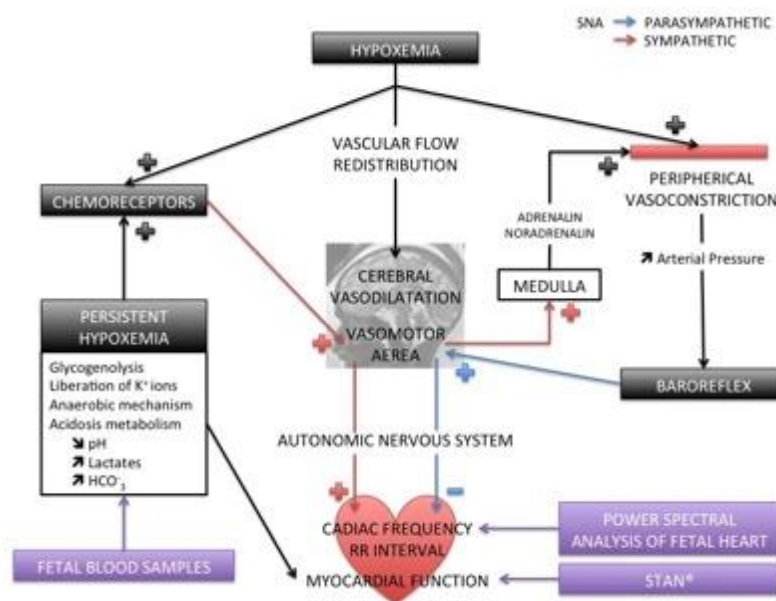


Figure 3.2.1 : Réponse fœtale à l'hypoxémie

Lorsque l'asphyxie devient sévère, la consommation d'oxygène ne peut plus être maintenue, les mécanismes sont dépassés. Il se développe alors une intense vasoconstriction

du lit vasculaire, point de départ de la décompensation qui entraîne une bradycardie fœtale, une hypotension et des lésions cérébrales. Le délai avant la survenue des lésions cérébrales n'est pas connu. Il varie sans doute d'un fœtus à l'autre, en fonction de la nature de l'asphyxie, de sa sévérité, et des réserves du fœtus. A l'échelle cellulaire, plusieurs mécanismes peuvent être évoqués dans l'apparition des lésions cérébrales (101,102). L'hypoxo-ischémie entraîne une défaillance énergétique en deux phases. La phase primaire suit la réduction du débit sanguin et de l'irrigation en oxygène et s'associe à une chute de l'adénosine triphosphate (ATP), à une défaillance de la pompe sodium-potassium (Na^+/K^+), à une dépolarisation des cellules, à une acidose lactique, à une libération d'acides aminés excitateurs, à la pénétration de calcium dans la cellule et, dans les cas graves, à une nécrose cellulaire. Puis une période de latence de une à six heures pendant laquelle l'atteinte du métabolisme oxydatif cérébral peut être résorbée, du moins partiellement, avant une défaillance irréversible de la fonction mitochondriale. Cette phase de latence représente la fenêtre thérapeutique pour procéder à des interventions neuroprotectrices, comme l'hypothermie.

Le SNA, qui régule les mécanismes d'adaptation en cas d'hypoxie, a ainsi une place dans le maintien du débit cérébral. On peut alors émettre l'hypothèse que lors d'un dysfonctionnement ou un dépassement du fonctionnement du SNA, cette régulation ne peut plus se faire et des lésions cérébrales peuvent survenir. L'analyse de la VFC, reflet du SNA, pourrait ainsi peut-être permettre le dépistage précoce de ces lésions afin de pouvoir mettre en place rapidement des mesures de neuroprotection.

3) Matériel et méthodes

a) Modèle chirurgical

Le modèle chirurgical animal expérimental est celui décrit dans la partie 1.3 (page 26, Modèle animal). L'étude expérimentale a été approuvée par le Comité d'Éthique Local d'Expérimentation Animale (Agrément N° 2016121312148878).

b) Protocole expérimental

Le protocole expérimental était identique à celui précédemment décrit dans la partie 2. Le protocole expérimental démarrait 4 jours après la chirurgie. Le premier temps du protocole consistait à s'assurer du bien-être fœtal et maternel par le relevé des paramètres hémodynamiques et gazométriques sur une heure (*période de stabilité*). Les occlusions cordinales étaient ensuite débutées. Celles-ci étaient réalisées par injection d'une solution isotonique dans l'occluseur afin d'obtenir une occlusion totale durant 1 minute (volume nécessaire calculé préalablement lors de la chirurgie). Le protocole était en 3 phases (phase A, B et C), chacune durant une heure, tel que décrit par Prout et al. et tel que décrit précédemment (Figure 1.4.d.1, partie 1.4.d, page 39) (103). Les points limites du protocole étaient un pH artériel obtenu inférieur à 7,00 ou la réalisation de toutes les occlusions prévues. A la fin des occlusions, une période de surveillance (*phase de récupération*) de 6h avait lieu et était découpée en 3 phases : *D* à 2 heures, *E* à 4 heures et *F* à 6 heures. A la fin de chaque phase, était respecté un plateau sans occlusion de 5 minutes afin de permettre le recueil des données gazométriques et hémodynamiques, ainsi que le calcul des paramètres de la VFC sur une période stable. En cas de décès du fœtus, de mise en travail, de mauvais état maternel ou en fin de protocole expérimental, les brebis étaient sacrifiées par une injection intra veineuse d'un anesthésique vétérinaire : 6ml/50kg de T61® (embutramide 20g, mebezonium iodure 5g, tetracaïne chlorhydrate 0.5g, diméthylformamide 60ml) (Intervet, Angers, France). Une autopsie permettait de vérifier la position des cathéters et de rechercher, en cas de décès du

foetus, les causes de celui-ci et de réaliser les prélèvements des cerveaux des fœtus pour l'analyse anatomopathologique. Les agneaux étaient pesés lors des autopsies.

c) Recueil et analyse de données.

Paramètres gazométriques fœtaux

Les gaz du sang fœtaux étaient réalisés sur des échantillons de sang artériel prélevés sur un des cathéters artériels. La mesure du pH, de la PaO₂, de la PCO₂, de l'excès de bases (BE) et des lactates plasmatiques se faisait par micro-méthode sur appareil I-STAT® (Abbott Laboratoires, Abbott Park, IL USA).

Paramètres hémodynamiques fœtaux

Les cathéters artériels fœtal et intra-amniotique étaient connectés à des capteurs de pression (Pressure Monitoring Kit, Baxter) reliés à un moniteur multiparamétrique d'anesthésie-réanimation (Merlin monitor, Hewlett Packard, Palo Alto, CA, USA). Toutes les données hémodynamiques étaient enregistrées sur support informatique grâce au logiciel Physiotrace® (36).

Analyse de la VFC

L'ensemble des analyses de la variabilité de la fréquence cardiaque était effectué dans le logiciel FSIRELECTURE© permettant un recueil des données grâce à un curseur se déplaçant sur le rythme cardiaque fœtal (Figure 2.2.d.1, partie 2.2.d, page 53).

Plusieurs paramètres décrits auparavant ont été analysés :

- ✓ Analyse temporelle : SDNN, RMSSD, VCT et VLT
- ✓ Analyse spectrale : HF, LF et HF_{n.u.}
- ✓ Fetal Stress Index

Anatomo-pathologie

Une dissection cérébrale était réalisée en respectant la fosse postérieure lors de toutes les autopsies. Les cerveaux entiers avec les moelles épinières étaient pesés puis mis dans une solution de Formol à 4% pour fixation. Après un mois dans du formol tamponné à 4%, le cerveau était séparé du tronc cérébral et du cervelet. Chaque partie était ensuite découpée en tranches de 3-4 millimètres, incluse en paraffine puis sectionnée en tranche de 5 µm et colorée à l'hématoxyline éosine safran (HES). Toutes les lames étaient passées au microscope et le nombre maximal de neurones ischémiés sur un champ (0,30mm²) était relevé dans chaque zone d'intérêt. Les zones d'intérêt étaient : cortex cérébral (cortex frontal, cortex pariétal, cortex temporal, cortex occipital), noyaux gris centraux, hippocampe, cortex entorhinal, tronc cérébral, cervelet (cortex cérébelleux et noyau dentelé) et moelle épinière. Les neurones ischémiés étaient définis par un rétrécissement, un cytoplasme éosinophile ou vacuolisé et des noyaux hyperchromatiques situés à la périphérie (Figure 3.3.c.1) (104–107). Les analyses étaient réalisées en aveugle par deux anatomopathologistes différents. En cas de discordance, les lames étaient réexaminées par les deux anatomopathologistes et ils décidaient ensemble. Le nombre de neurones ischémiés dans chaque région a été additionné pour obtenir un score global de lésions anoxo-ischémiques.

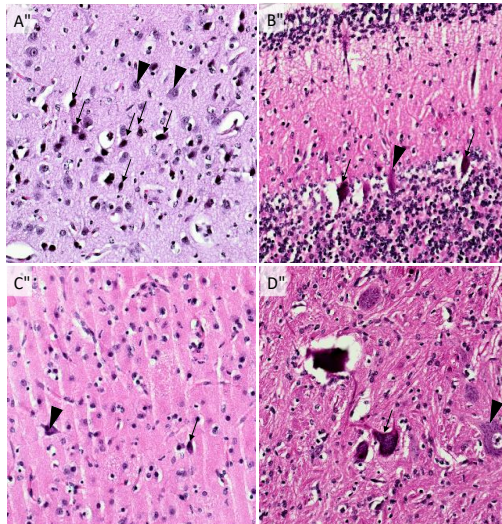


Figure 3.3.c.1: Coupes de cerveau colorées à l'hématoxyline éosine safran (HES).

Coloration HES au niveau de l'hippocampe (A), du cortex du cervelet (B), du cortex frontal (C) et du tronc cérébral (D) montrant des neurones ischémiés rétrécis, avec un cytoplasme éosinophile et des noyaux hyperchromatiques situés en périphérie (flèche). Les pointes de flèche montrent des neurones normaux.

d) Analyse statistique

Les variables numériques sont décrites sous la forme de médiane (1^{er} ; 3^{ème} quartile). Les différences entre les phases d'occlusion A, B et C ont été évaluées à l'aide d'un test non paramétrique de Friedman pour les mesures répétées, suivi d'un test de Wilcoxon lorsqu'il était jugé significatif. Les associations entre les différents marqueurs (hémodynamique, VFC et gazométrie) et les lésions neurologiques ont été évaluées à partir des valeurs des marqueurs durant les phases A, B et C afin d'évaluer : i) la capacité des marqueurs à distinguer les fœtus avec ou sans lésions neurologiques ; et ii) les corrélations entre les marqueurs et le nombre de lésions neurologiques à l'aide d'un test rho de Spearman. Chaque marqueur a été comparé aux lésions cérébrales totales et aux lésions de chaque région du cerveau (ganglions de la base, tronc cérébral, cervelet, cortex et hippocampe). Une valeur $p < 0,05$ a été considérée comme significative pour le test du Rho de Spearman. Compte tenu de la correction de Bonferroni pour les mesures multiples, une valeur $p < 0,025$ a été considérée comme statistiquement significative pour la comparaison entre les phases A, B et C. Les analyses statistiques ont été effectuées à l'aide de SPSS version 20.0 (SPSS, IBM).

4) Résultats

Quatorze brebis gestantes ont été opérées dans le cadre du protocole (Figure 3.4.1.). 2 agneaux sont morts *in utero* à J1 et J2 post-opératoire. 12 agneaux ont eu le protocole expérimental d'occlusions cordonales. Parmi eux, un n'a pas eu toutes les occlusions cordonales en raison de la rupture d'un occluteur et a été exclu et un autre a été exclu après la survenue d'un décès non expliqué per protocole. Au total, 10 manipulations complètes ont été réalisées. Un fœtus a ensuite été exclu en raison de lésions cérébrales sévères en analyse anatomopathologique survenues probablement avant le protocole devant leur aspect ancien (nécrose laminaire, cavités en forme de fente dans la zone corticale profonde, gliose et infiltrations de macrophages). Au final, 9 manipulations ont été analysées.

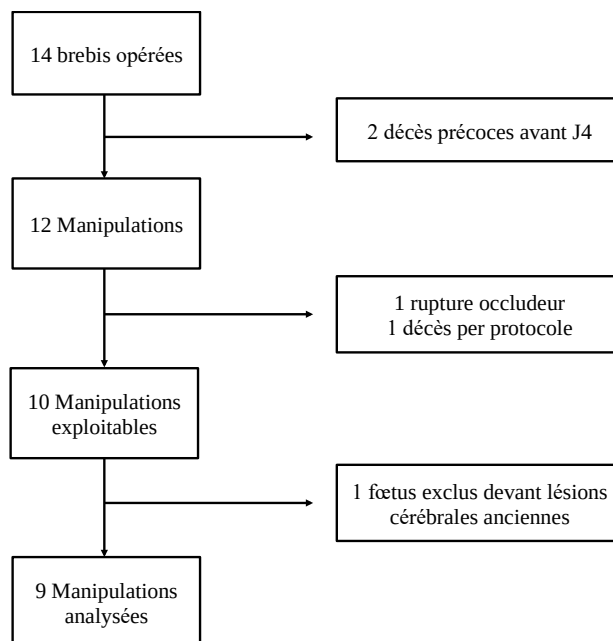


Figure 3.4.1. : Diagramme de flux de l'étude

a) Analyse histologique

Des lésions cérébrales anoxo-ischémiques aiguës étaient présentes chez 7/9 fœtus. Les régions cérébrales présentant le plus grand nombre de lésions étaient dans l'ordre : le cortex cérébral (115 lésions), les noyaux gris centraux (NGC) (39 lésions), le cortex du cervelet (23 lésions), l'hippocampe (20 lésions), le tronc cérébral (18 lésions) et le noyau dentelé (11 lésions) (Tableau 3.4.a.1). Dans l'hippocampe, toutes les lésions étaient observées dans la corne d'Amon. Le nombre moyen de lésions cérébrales par fœtus était de 25,1 (0 à 83). Les lésions des NGC étaient observées chez 6/9 fœtus. Les lésions du tronc cérébral étaient observées chez 3/9 fœtus.

Fœtus	Cortex cérébral					NGC	Hippocampe	Tronc cérébral	Noyau dentelé	Cortex du cervelet	Total
	Frontal	Pariétal	Temporal	Occipital	Entorinal						
1	12	11	10	5	15	15	5	4	3	3	83
2	0	0	0	0	1	7	2	10	4	5	29
3	0	0	0	1	0	1	0	0	2	5	9
4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
5	2	4	8	4	15	2	6	4	2	2	49
6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	4	4
7	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
8	5	0	7	2	1	2	5	0	0	0	22
9	2	1	8	1	0	12	2	0	0	4	30
Total	21	16	33	13	32	39	20	18	11	23	

*Tableau 3.4.a.1.: Nombre de lésions * par fœtus et par région du cerveau (Cortex cérébral, noyaux gris centraux (NGC), Hippocampe, Tronc cérébral, noyau dentelé, cortex du cervelet). Une lésion cérébrale était définie par un neurone ischémié.*

b) Paramètres gazométriques et lésions cérébrales

Le pH diminuait progressivement de 7,28 (7,23 ; 7,35) en phase A à 7,10 (7,07 ; 7,27) en phase B et 6,98 (6,84 ; 7,08) en phase C ($p=0,001$) (tableau 3.4.b.1). Les lactates eux, augmentaient progressivement de 6,0 mmol/l (3,4 ; 8,3) en phase A à 12,8 mmol/l (7,3 ; 15,3) en phase B et 15,9 mmol/l (13,6 ; 16,3) en phase C ($p<0,001$). La pO_2 n'était pas différente entre les phases A, B et C, avec des valeurs proches de 16mmHg, ce qui indiquait que l'oxygénation fœtale revenait à la norme à la levée de l'occlusion. La pCO_2 augmentait progressivement durant les phases A, B et C, avec des valeurs respectives de 50,6 mmHg (48,5 ; 56,2), 54,0 mmHg (52,5 ; 63,1) et 64,9 mmHg (55,1 ; 87,0) ($p=0,002$), indiquant une composante respiratoire à l'acidose fœtale. L'excès de bases et les lactates augmentaient de manière significative entre les phases A, B et C ($p<0,001$), indiquant une composante métabolique prédominante dans cette acidose.

	Phases d'occlusion			
	A (n=9)	B (n=9)	C (n=8)	p^1
pH	7,28 (7,23 ; 7,35)	7,10 (7,07 ; 7,27)*	6,98 (6,84 ; 7,08)*+	0,001
PO2 (mmHg)	16,0 (11,5 ; 17,0)	15,0 (13,0 ; 17,5)	16,5 (13,5 ; 18,8)	0,639
PCO2 (mmHg)	50,6 (48,5 ; 56,2)	54,0 (52,5 ; 63,1)*	64,9 (55,1 ; 87,0)*+	0,002
BD (mmol/l)	-3,0 (-4,5 ; 1,5)	-11,0 (-15,0 ; -2,5)*	-16,0 (-19,8 ; -14)*+	<0,001
Lactate (mmol/l)	6,0 (3,4 ; 8,3)	12,8 (7,3 ; 15,3)*	15,9 (13,6 ; 16,3)*+	<0,001

Tableau 3.4.b.1: Evolution des différents paramètres gazométriques au cours des différentes phases d'occlusions

Les données sont présentées sous forme de médiane (1er-3e quartile). BD: déficit de base
Analyse statistique : ¹Test de Friedman ; test de Wilcoxon : * $p<0,025$ versus A. + $p<0,025$ versus B

On retrouvait une corrélation significative de la pCO_2 avec les lésions du cortex cérébral et de l'hippocampe en phase A (respectivement 0,800 ; $p=0,010$ et 0,685 ; $p=0,042$) et en phase B (0,741 ; $p=0,022$ et 0,712 ; $p=0,032$) (Tableau 3.4.b.2). Les lactates étaient corrélés en phase B avec les lésions du cervelet (-0,756 ; $p=0,019$). On ne retrouvait pas de corrélations entre les paramètres gazométriques et le nombre total de lésions cérébrales, les lésions des NGC et les lésions du tronc cérébral, quel que soit la phase.

	Phase	Lésions cérébrales totales	Noyaux gris centraux	Tronc cérébral	Cervelet	Cortex cérébral	Hippocampe
pH	A	0,134 ; 0,731	0,094 ; 0,811	0,279 ; 0,467	0,598 ; 0,089	-0,162 ; 0,678	-0,009 ; 0,982
	B	0,332 ; 0,383	0,282 ; 0,462	0,520 ; 0,151	0,588 ; 0,096	-0,038 ; 0,922	0,079 ; 0,839
	C	-0,479 ; 0,420	-0,195 ; 0,643	-0,371 ; 0,365	-0,12 ; 0,977	-0,479 ; 0,230	-0,038 ; 0,922
PCO2 (mmHg)	A	0,594 ; 0,092	0,477 ; 0,194	-0,04 ; 0,919	-0,222 ; 0,565	0,800 ; 0,010	0,685 ; 0,042
	B	0,485 ; 0,185	0,383 ; 0,309	-0,04 ; 0,919	-0,504 ; 0,166	0,741 ; 0,022	0,712 ; 0,032
	C	0,647 ; 0,083	0,366 ; 0,373	0,509 ; 0,198	0,206 ; 0,624	0,577 ; 0,134	0,524 ; 0,183
PO2 (mmHg)	A	-0,158 ; 0,684	-0,043 ; 0,912	0,148 ; 0,705	0,546 ; 0,128	-0,413 ; 0,269	-0,440 ; 0,236
	B	-0,105 ; 0,787	0,000 ; 1,000	-0,02 ; 0,959	0,405 ; 0,279	-0,343 ; 0,366	-0,350 ; 0,356
	C	0,078 ; 0,854	0,221 ; 0,599	0,242 ; 0,564	0,372 ; 0,364	0,049 ; 0,908	0,186 ; 0,659
BD (mmol/l)	A	0,265 ; 0,491	0,231 ; 0,550	0,06 ; 0,878	0,477 ; 0,195	0,038 ; 0,922	0,168 ; 0,666
	B	0,308 ; 0,420	0,240 ; 0,533	0,467 ; 0,205	0,573 ; 0,107	-0,060 ; 0,878	0,053 ; 0,892
	C	-0,339 ; 0,411	-0,111 ; 0,793	-0,306 ; 0,461	0,319 ; 0,441	-0,441 ; 0,274	-0,349 ; 0,397
Lactate (mmol/l)	A	-0,151 ; 0,669	-0,128 ; 0,743	-0,090 ; 0,819	-0,530 ; 0,142	0,051 ; 0,896	-0,088 ; 0,822
	B	-0,424 ; 0,255	-0,363 ; 0,337	-0,52 ; 0,151	-0,756 ; 0,019	-0,068 ; 0,861	-0,123 ; 0,752
	C	-0,012 ; 0,978	0,049 ; 0,909	0,082 ; 0,846	-0,533 ; 0,173	0,147 ; 0,728	0,026 ; 0,952

Tableau 3.4.b.2 : Corrélation entre les paramètres gazométriques et les lésions cérébrales anoxo-ischémiques selon les phases et les régions cérébrales.

Les résultats sont présentés en r ; p. p était significatif si < 0,05

a) Paramètres hémodynamiques et lésions cérébrales

Il n'y avait pas de différence de fréquence cardiaque de base entre les phases A, B et C, avec des valeurs de FC de 178 bpm, 189 bpm et 175 bpm, respectivement (p=0,687) (tableau 3.4.c.1). Les décélérations du RCF pendant les occlusions semblaient de plus en plus profondes selon les phases A, B et C (Figure 3.4.c.1).

	Phases d'occlusion			
	A (n=9)	B (n=9)	C (n=8)	p ¹
FC (bpm)	178 (151 ; 187)	189 (158 ; 202)	175 (150 ; 192)	0,687
PAM (mmHg)	58 (47 ; 65)	62 (51 ; 66)	64 (54 ; 68)	0,239
FCocc (bpm)	90 (91 ; 96)	82 (68 ; 96)	79 (54 ; 92)	0,368
PAMocc (mmHg)	56 (51 ; 62)	54 (43 ; 62)	37 (20 ; 50)*+	0,004

Tableau 3.4.c.1 : Evolution des différents paramètres hémodynamiques au cours des différentes phases d'occlusions

Les données sont présentées sous forme de médiane (1er-3e quartile). FC: fréquence cardiaque; PAM: pression artérielle moyenne; Analyse statistique : ¹Test de Friedman ; test de Wilcoxon : * p<0,025 versus A. + p<0,025 versus B

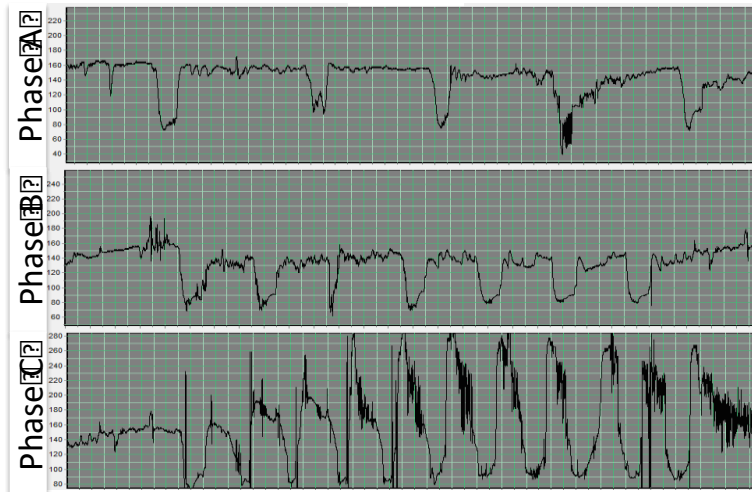


Figure 3.4.c.1 : Évolution des ralentissements lors des occlusions cordinales an phase A, B et C. Les occlusions étaient répétées toutes les 5 minutes en phase A, toutes les 3 minutes en phase B et toutes les 2 minutes en phase C.

Il n'y avait pas de différence de PAM de base entre les phases A, B et C, avec des valeurs respectivement 58, 62 et 64mmHg, respectivement ($p=0,239$). La PAM per-occlusions diminuait progressivement entre les phases A et C de 19mmHg (34%) (56mmHg vs 37mmHg, $p=0,004$), indiquant une hypotension sévère en phase C (Tableau 3.4.c.1).

Les corrélations entre les lésions cérébrales et les paramètres hémodynamiques sont décrites dans le tableau 4. La FC per-occlusions était significativement corrélée aux lésions cérébrales totales en phase B (0,812 ; $p=0,008$) (tableau 3.4.c.2). La PAM per-occlusions était significativement corrélée avec les lésions du tronc cérébral en phase A (-0,871 ; $p=0,005$), avec les lésions du cortex cérébral et les lésions de l'hippocampe en phase B (respectivement -0,782 ; $p=0,022$ et -0,777 ; $p=0,023$) et avec les lésions cérébrales totales et les lésions du cortex cérébral en phase C (respectivement -0,893 ; $p=0,007$ et -0,927 ; $p=0,003$). En phase C, les coefficients de corrélation entre la PAM per-occlusion et les lésions des NGC et de l'hippocampe étaient élevés, même s'ils étaient non significatifs avec respectivement -0,703 ; $p=0,078$ et -0,730 ; $p=0,063$.

	Phase	Lésions cérébrales totales	Lésions des NGC	Lésions du tronc cérébral	Lésions du cervelet	Lésions du cortex cérébral	Lésions de l'hippocampe
FC (bpm)	A	0,225 ; 0,561	0,181 ; 0,641	0,182 ; 0,640	-0,095 ; 0,807	0,254 ; 0,509	0,067 ; 0,865
	B	0,385 ; 0,306	0,519 ; 0,152	-0,139 ; 0,720	0,180 ; 0,644	0,451 ; 0,223	0,167 ; 0,668
	C	0,012 ; 0,977	0,147 ; 0,728	-0,221 ; 0,598	-0,598 ; 0,118	0,167 ; 0,693	0,000 ; 1,000
PAM (mmHg)	A	-0,613 ; 0,079	-0,568 ; 0,110	-0,475 ; 0,196	-0,708 ; 0,033	-0,338 ; 0,374	-0,338 ; 0,374
	B	-0,371 ; 0,325	-0,614 ; 0,079	-0,306 ; 0,423	-0,358 ; 0,344	-0,240 ; 0,533	-0,186 ; 0,632
	C	-0,263 ; 0,528	-0,464 ; 0,247	-0,165 ; 0,696	0,170 ; 0,688	-0,344 ; 0,404	-0,332 ; 0,422
FCocc (bpm)	A	0,477 ; 0,194	0,386 ; 0,304	0,070 ; 0,857	0,341 ; 0,370	0,391 ; 0,299	0,089 ; 0,821
	B	0,812 ; 0,008	0,621 ; 0,074	0,448 ; 0,226	0,496 ; 0,175	0,724 ; 0,028	0,518 ; 0,153
	C	-0,479 ; 0,230	-0,342 ; 0,408	-0,550 ; 0,158	0,267 ; 0,523	-0,479 ; 0,230	-0,664 ; 0,073
PAM occ (mmHg)	A	-0,575 ; 0,136	-0,274 ; 0,511	-0,871 ; 0,005	-0,427 ; 0,292	-0,442 ; 0,272	-0,491 ; 0,217
	B	-0,635 ; 0,091	-0,679 ; 0,064	-0,498 ; 0,209	0,195 ; 0,643	-0,782 ; 0,022	-0,777 ; 0,023
	C	-0,893 ; 0,007	-0,703 ; 0,078	-0,418 ; 0,350	-0,036 ; 0,938	-0,927 ; 0,003	-0,730 ; 0,063

Tableau 3.4.c.2 : Corrélation entre les paramètres hémodynamiques et les lésions cérébrales totales et selon les différentes régions du cerveau.

Les résultats sont présentés en r; p. p était significatif si < 0,05

b) Paramètres de la VFC et lésions cérébrales

La plupart des indices de la VFC ne variaient pas de manière significative au cours du temps entre les phases A, B et C (Tableau 3.4.d.1). Seul le FSI augmentait de manière significative entre les phases A et C (54,9 [46,8 ; 70,5] vs 75,8 [66 ; 80,2], $p < 0,01$) et entre les phases B et C (55 [47,3 ; 67,8] vs 75,8 [66 ; 80,2], $p < 0,01$).

	Phases d'occlusion			
	A (n=9)	B (n=9)	C (n=8)	p ¹
FSI	54,9 (46,8 ; 70,5)	55 (47,3 ; 67,8)*	75,8 (66 ; 80,2)*+	0,01
VCT (ms)	3,3 (3,0 ; 5,4)	4,6 (4,0 ; 5,2)	4,4 (2,6 ; 7,5)	0,197
VLT (ms)	35,3 (29,3 ; 44,2)	48,9 (41,8 ; 68,4)	45,8 (25,3 ; 64,3)	0,197
SDNN	12,7 (7,3 ; 17,6)	14,4 (10,8 ; 22,8)	17,8 (13,3 ; 29,7)	0,607
RMSSD	11,3 (5,1 ; 20,2)	12,2 (11 ; 16,3)	19,1 (15,5 ; 24,7)	0,687
LF	0,1 (0,04 ; 0,22)	0,13 (0,07 ; 0,2)	0,20 (0,12 ; 0,53)	0,687
HF	0,06 (0,02 ; 0,13)	0,06 (0,04 ; 0,12)	0,12 (0,08 ; 0,27)	0,417

Tableau 3.4.d.1 : Evolution des différents paramètres de variabilité du rythme cardiaque fœtal au cours des différentes phases d'occlusions

Les données sont présentées sous forme de médiane (1er-3e quartile). Analyse statistique : ¹Test de Friedman ; test de Wilcoxon : * $p < 0,025$ versus A. + $p < 0,025$ versus B

On retrouvait des corrélations significatives entre le FSI, la VCT et la VLT et le nombre de lésions cérébrales au niveau du tronc cérébral, en phase C pour le FSI (-0,784 ; $p=0,021$) et en phase B pour la VLT (-0,677 ; $p=0,045$) et la VCT (-0,837 ; $p=0,005$) (Tableau 3.4.d.2). Il n'y avait pas de corrélation significative entre les lésions cérébrales et les autres paramètres de la VFC (RMSSD, SDNN, HF, LF), et ce quel que soit la région du cerveau.

	Phase	Lésions cérébrales totales	Lésions des NGC	Lésions du tronc cérébral	Lésions du cervelet	Lésions du cortex cérébral	Lésions de l'hippocampe
FSI	A	-0,393 ; 0,295	-0,162 ; 0,678	0,120 ; 0,759	0,248 ; 0,520	-0,553 ; 0,122	-0,571 ; 0,108
	B	-0,494 ; 0,177	-0,443 ; 0,233	0,139 ; 0,720	-0,256 ; 0,505	-0,434 ; 0,243	-0,369 ; 0,329
	C	-0,515 ; 0,192	-0,464 ; 0,247	-0,784 ; 0,021	0,279 ; 0,504	-0,577 ; 0,134	-0,677 ; 0,065
VLT	A	0,151 ; 0,699	0,238 ; 0,537	0,299 ; 0,435	-0,077 ; 0,844	0,306 ; 0,423	0,281 ; 0,464
	B	-0,075 ; 0,847	-0,077 ; 0,845	-0,677 ; 0,045	0,171 ; 0,660	0,034 ; 0,931	-0,167 ; 0,668
	C	-0,108 ; 0,799	-0,146 ; 0,729	-0,481 ; 0,227	0,036 ; 0,932	-0,123 ; 0,772	-0,396 ; 0,332
VCT	A	-0,025 ; 0,949	0,187 ; 0,629	0,169 ; 0,663	-0,009 ; 0,983	0,094 ; 0,811	0,070 ; 0,857
	B	-0,402 ; 0,284	-0,255 ; 0,507	-0,837 ; 0,005	-0,051 ; 0,896	-0,255 ; 0,507	-0,483 ; 0,188
	C	-0,228 ; 0,588	-0,244 ; 0,560	-0,440 ; 0,275	0,073 ; 0,864	-0,270 ; 0,518	-0,511 ; 0,196
SDNN	A	-0,527 ; 0,145	-0,247 ; 0,522	-0,100 ; 0,799	-0,410 ; 0,273	-0,417 ; 0,264	-0,369 ; 0,329
	B	-0,159 ; 0,683	0,009 ; 0,983	-0,488 ; 0,183	-0,034 ; 0,930	-0,043 ; 0,913	-0,316 ; 0,407
	C	-0,072 ; 0,866	-0,146 ; 0,729	-0,481 ; 0,227	0,061 ; 0,887	-0,110 ; 0,795	-0,370 ; 0,366
RMSSD	A	-0,377 ; 0,318	-0,128 ; 0,743	0,060 ; 0,879	-0,402 ; 0,284	-0,281 ; 0,464	-0,255 ; 0,508
	B	-0,301 ; 0,431	-0,111 ; 0,777	-0,020 ; 0,959	0,239 ; 0,535	-0,323 ; 0,396	-0,474 ; 0,197
	C	0,072 ; 0,866	-0,049 ; 0,909	-0,481 ; 0,227	0,279 ; 0,504	0,025 ; 0,954	-0,268 ; 0,521
LF	A	-0,444 ; 0,232	-0,221 ; 0,567	-0,239 ; 0,536	-0,581 ; 0,101	-0,196 ; 0,614	-0,176 ; 0,651
	B	0,017 ; 0,966	0,102 ; 0,794	-0,518 ; 0,153	-0,034 ; 0,930	0,187 ; 0,629	-0,079 ; 0,840
	C	-0,072 ; 0,866	-0,049 ; 0,909	-0,481 ; 0,227	0,061 ; 0,887	-0,110 ; 0,795	-0,370 ; 0,366
HF	A	-0,460 ; 0,213	-0,187 ; 0,629	-0,020 ; 0,959	-0,359 ; 0,343	-0,383 ; 0,309	-0,369 ; 0,329
	B	-0,033 ; 0,932	0,128 ; 0,743	-0,408 ; 0,275	0,017 ; 0,965	0,077 ; 0,845	-0,228 ; 0,554
	C	0,060 ; 0,888	-0,073 ; 0,863	-0,385 ; 0,346	0,097 ; 0,819	0,012 ; 0,977	-0,230 ; 0,584

Tableau 3.4.d.2 : Corrélation entre les paramètres d'analyse de la variabilité du rythme cardiaque fœtal et les lésions cérébrales totales et selon les différentes régions du cerveau.
Les résultats sont présentés en r; p. p était significatif si $< 0,05$

Les figure 3.4.d.1 et 3.4.d.2 représentent le nombre de lésions cérébrales totales et celles du tronc cérébral par fœtus en fonction des valeurs de FSI, VLT et VST. En phase B (Figure 3.4.d.1), les 3 fœtus avec lésions du tronc cérébral présentaient une VCT plus basse (4,3 ms de moins). Le FSI et la VLT ne permettaient pas de distinguer les fœtus avec ou sans lésions

cérébrales en phase B. En phase C (Figure 3.4.d.2), seul le FSI permettait de distinguer les 3 fœtus avec lésions du tronc cérébral, avec un FSI plus faible (75 de moins). La VCT et la VLT ne permettaient pas de distinguer les fœtus avec ou sans lésions cérébrales en phase C.

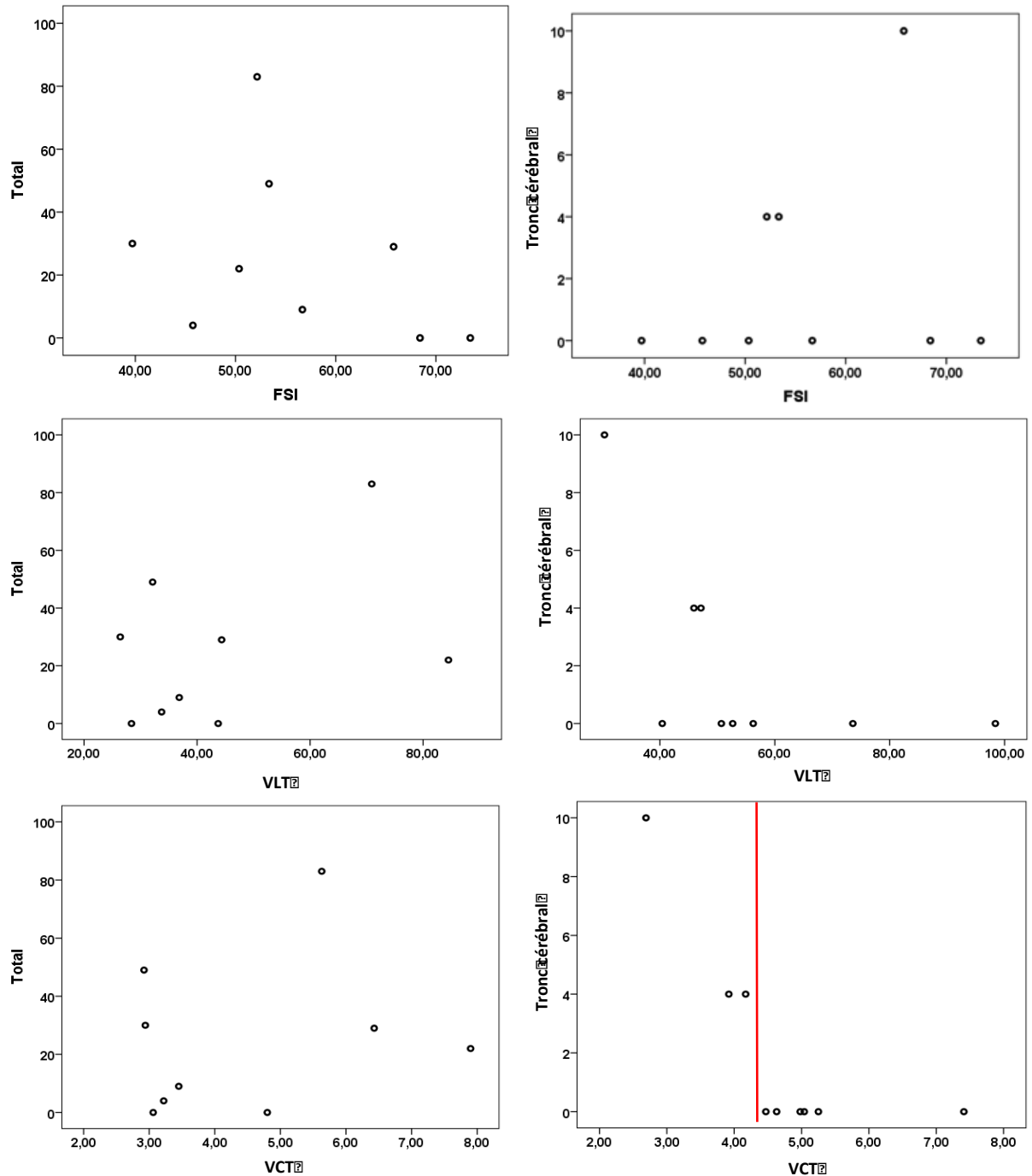


Figure 3.4.d.1 : Nombre de lésions cérébrales totales et de lésions du tronc cérébral par fœtus en **phase B** en fonction des valeurs du FSI, de la VLT et de la VCT. Un point représente un fœtus.

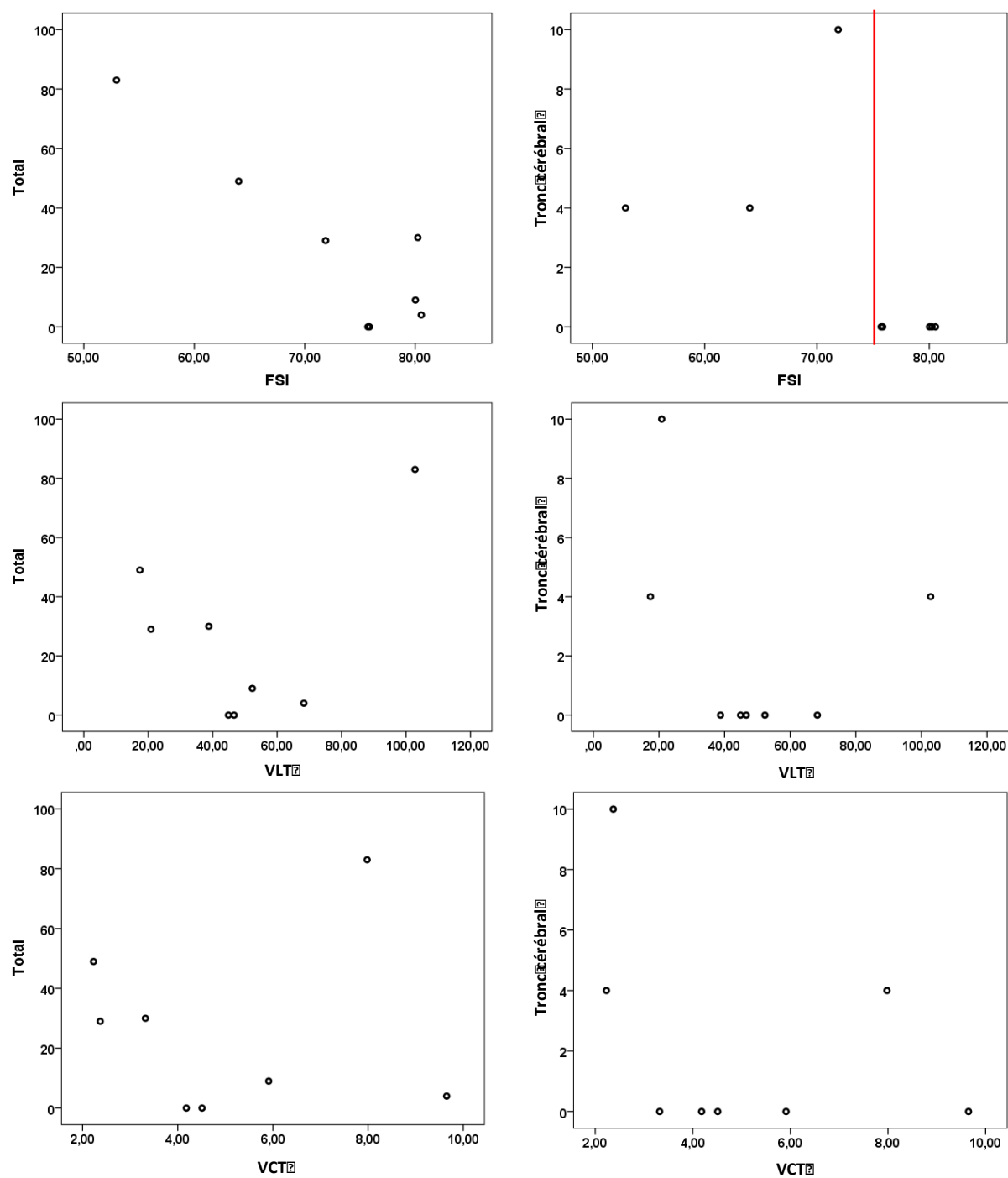


Figure 3.4.d.2 : Nombre de lésions cérébrales totales et de lésions du tronc cérébral par fœtus en **phase C** en fonction des valeurs du FSI, de la VLT et de la VCT.
Un point représente un fœtus.

Il était intéressant de constater que chez les fœtus avec lésions du tronc cérébral, le FSI était soit inchangé, soit modérément augmenté, à partir de la phase B, contrairement aux fœtus où il n'y avait pas de lésion du tronc cérébral où le FSI augmentait de manière importante entre la phase B et C (Figure 3.4.d.3). Cette constatation n'était pas retrouvée avec la VCT (Figure 3.4.d.4).

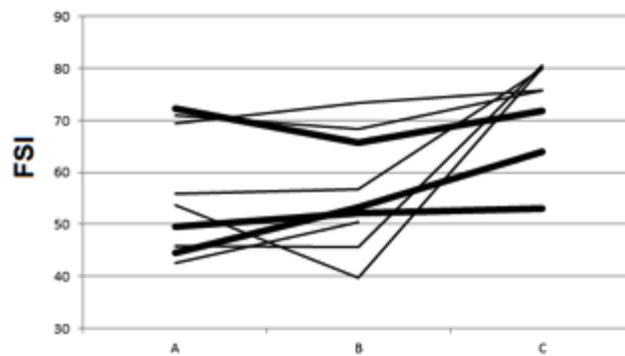


Figure 3.4.d.3: Tracés individuels par fœtus de l'évolution du FSI au cours des phases d'occlusion A, B et C.

Ligne épaisse = fœtus avec des lésions ischémiques du tronc cérébral.

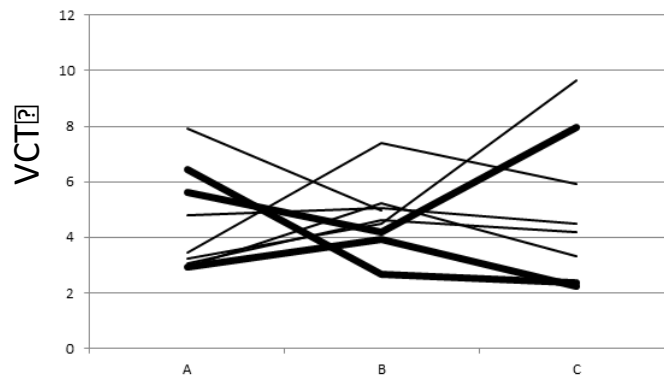


Figure 3.4.d.4: Tracés individuels par fœtus de l'évolution de la VCT au cours des phases d'occlusion A, B et C.

Ligne épaisse = fœtus avec des lésions ischémiques du tronc cérébral.

2) Discussion

a) Résultats principaux

Dans ce modèle d'acidose fœtale sévère chez le fœtus de brebis à terme, des lésions cérébrales anoxo-ischémiques étaient observées, notamment au niveau du cortex cérébral. Il n'y avait pas de corrélations entre le pH artériel et les lésions cérébrales.

A l'inverse, nous avons observé une corrélation entre les lésions cérébrales et les variations hémodynamiques ainsi qu'avec certains paramètres de la VFC. En effet, les lésions du tronc cérébral, du cortex cérébral et de l'hippocampe étaient corrélées à la PAM per-occlusion. Les lésions du tronc cérébral étaient également corrélées aux modifications de la VCT, de la VLT et du FSI.

Le FSI augmentait de manière significative lors de l'apparition d'une acidose fœtale, confirmant l'activité accrue du système parasympathique dans une situation d'acidose fœtale. Cependant, il était intéressant de constater qu'en cas de lésions du tronc cérébral, le FSI semblait soit inchangé, soit modérément augmenté, pouvant ainsi refléter l'incapacité du SNA, notamment parasympathique, de s'adapter en cas de lésions du tronc cérébral.

b) Interprétation

Paramètre gazométrique et prédiction de l'EAI.

La prédiction de l'EAI pendant le travail est un problème majeur. L'EAI est définie comme une encéphalopathie néonatale secondaire à une hypoxie systémique et à une perfusion cérébrale réduite, entraînant une lésion ischémique qui peut être focale ou diffuse. L'identification précoce des nouveau-nés à risque de complications telles que l'encéphalopathie est importante pour mettre en place une intervention rapide comme l'hypothermie post-natale dans les premiers jours de vie, qui a montré un intérêt majeur

(95,101). L'acidose fœtale est un facteur de risque décrit par certains auteurs de complications neurologiques (convulsions et encéphalopathie néonatale) mais qui est controversé. Kelly et al. ont montré une relation dose-effet entre l'importance de l'acidose dans l'heure qui suit la naissance et les conséquences neuro-développementales (108). Dans cette étude, la prévalence de décès périnataux et/ou d'infirmité motrice cérébrale était de 3 %, 10 % et 39 % pour des nadirs de pH de 6,9-6,99, 6,8-6,89 et <6,8, respectivement. Cependant, de nombreux nouveau-nés présentant des valeurs de pH très basses et/ou un déficit de base élevé à la naissance sont asymptomatiques et ne nécessitent pas de soins néonataux particuliers (109). Cette idée est renforcée par des études sur le neuro-développement à long terme. Hafström et al. ont étudié 234 nouveau-nés présentant un pH artériel ombilical <7,05 et un déficit en bases >12,0mmol/L à la naissance et un examen clinique rassurant (87). A l'âge de 6,5 ans, il n'y avait pas de différence de complications neurologiques et/ou comportementales par rapport à un groupe témoin. Ruth et al ont montré dans leur étude portant sur 883 nouveau-nés que le pH et les lactates à la naissance étaient un mauvais reflet des lésions cérébrales périnatales (85). En effet, dans leur étude, la sensibilité et la valeur prédictive positive du pH et des lactates d'une issue néonatale défavorable étaient respectivement de 21% et 8% pour le pH, et de 12% et 5% pour les lactates. Dans notre étude, on retrouvait également une mauvaise prédiction du pH artériel des lésions cérébrales avec une absence de corrélation entre le nombre de lésions et le pH.

Paramètres hémodynamiques.

A l'inverse, nous avons observé une association entre l'hypotension per-occlusion et les lésions cérébrales. En effet, l'hypotension obtenue en phase C (-19mmHg (56mmHg en phase A vs 37mmHg en phase C, $p=0.004$)) était corrélée avec le nombre total de lésions cérébrales et surtout avec celles du cortex cérébral. On retrouvait également un coefficient de

corrélation proche de la significativité entre l'hypotension per-occlusion en phase C et les lésions des NGC et de l'hippocampe.

Lors d'une hypoxie, l'augmentation initiale de la pression artérielle permet de maintenir le flux sanguin cérébral (86,110). Lorsque les mécanismes de compensation myocardique sont dépassés, cette élévation de la pression artérielle passe à une pression normale ou subnormale, le flux sanguin cérébral (et donc les apports en nutriments et en oxygène) est perturbé. Des études expérimentales réalisées chez le fœtus de brebis, retrouvaient, dans des modèles d'occlusions cordinales différents du nôtre (OCT prolongée de 15min ou OCT répétées de 1minute toutes les 2 minutes et 30 secondes jusqu'à l'obtention d'une hypotension), qu'une hypotension artérielle sévère (définie comme une baisse de $>20\text{mmHg}$) altérerait la perfusion cérébrale et entraînerait des lésions anoxo-ischémiques ainsi que des convulsions (110–112). Les lésions cérébrales étaient surtout au niveau du cortex cérébral, de l'hippocampe et des noyaux gris centraux (82,113). Il semblerait donc important de pouvoir identifier les fœtus à risque d'hypotension pendant le travail devant le risque de lésions anoxo-ischémiques (110). Malheureusement, actuellement, il n'y a pas de moyen de surveillance de la pression artérielle fœtale pendant le travail.

Analyse de la VFC.

Devant la faible capacité du pH à prédire les lésions d'EAI, plusieurs auteurs se sont intéressés à l'analyse de la VFC comme marqueur potentiel (86,114). Gold et al. ont retrouvé dans leurs études sur fœtus de brebis que l'analyse de la VFC (RMSSD) permettait de détecter le début d'une décompensation cardiovasculaire fœtale. Yamaguchi et al. ont également montré l'importance de cette nouvelle approche par l'analyse de la VFC pour prédire les lésions cérébrales par anoxo-ischémie ou par d'autres mécanismes (115). Le mécanisme physiopathologique potentiel expliqué par ces auteurs est celui par lequel une

lésion directe sous-corticale ou du tronc cérébral entraîne un dysfonctionnement autonome et donc de la VFC. Ces résultats étaient retrouvés dans notre étude avec des corrélations significatives retrouvées entre plusieurs marqueurs de VFC, le FSI, la VCT et la VLT, et les lésions du tronc cérébral. Aucun de ces trois marqueurs n'était supérieur aux autres pour prédire les lésions cérébrales.

La VFC est le reflet de l'activité du système sympathique et parasympathique qui sont également en interaction avec les barorécepteurs et les chémorécepteurs (7,83,84). Lors d'une hypoxie aigue, les chémorécepteurs du sinus carotidien vont stimuler le SNA au niveau du tronc cérébral. Cela va alors augmenter l'activité sympathique et parasympathique, avec une prédominance du tonus parasympathique (76–78). On retrouvait dans notre étude, une tendance à l'augmentation pour tous les marqueurs de la VFC mais seule l'augmentation du FSI était significative. En revanche, en phase C, le FSI était corrélé inversement de manière significative avec les lésions ischémiques au niveau du tronc cérébral. Les lésions du tronc cérébral entraîneraient un dysfonctionnement du SNA et ainsi des modifications de la VFC. George et al dans leur étude sur fœtus de brebis retrouvaient lors d'occlusions cordinales prolongées une réduction de la VFC lors du début de la phase de reperfusion après la levée d'occlusion et à l'analyse anatomopathologique de ces cerveaux, des lésions cérébrales sévères, notamment au niveau du tronc cérébral (113).

Ainsi les modifications de la VFC ne seraient pas forcément liées à des lésions cérébrales sévères mais plutôt aux lésions du tronc cérébral. Le FSI et la VCT dans notre étude étaient tous les deux plus élevés en cas d'absence de lésions du tronc cérébral. Ainsi l'augmentation du FSI et de la VCT témoignerait d'une bonne adaptation du fœtus à l'hypoxie et l'absence de lésions cérébrales.

c) Forces et limites

La principale force de cette étude était d'étudier l'association entre les paramètres hémodynamiques, gazométriques et d'analyse de VFC avec les lésions cérébrales anoxo-ischémiques. Une des questions principales souvent discutée dans la littérature et dans les différents groupes d'experts est : quel est meilleur outil à utiliser lors de la surveillance per-partum pour diminuer la morbidité néonatale (116)? Il n'y a actuellement pas de consensus international concernant la surveillance fœtale per-partum, et en particulier concernant le rôle de l'acidose fœtale dans l'étiologie des lésions cérébrales aiguës d'EAI. Ainsi la surveillance par les paramètres gazométriques et notamment le pH artériel ne semble pas prévenir le risque d'EAI.

Les seules corrélations significatives trouvées dans notre étude étaient entre les lésions du tronc cérébral et certains marqueurs de VFC. Sur le plan physiopathologique, comme vu précédemment, cela semble cohérent puisque le tronc cérébral participe au SNA qui régule la VFC. Cependant, les lésions du tronc cérébral n'étaient pas les lésions les plus fréquentes (3/9 fœtus) et sont décrites dans la littérature comme étant plus tardives et le signe d'une hypoxie sévère (117). Notre analyse histologique a trouvé beaucoup plus de lésions au niveau du cortex cérébral et des NGC, ce qui montre que ces zones du cerveau sont plus sensibles à l'hypoxie. Nous n'avons pas trouvé de corrélation entre ces lésions et la VFC. On peut émettre l'hypothèse que la VFC ne serait sensible qu'aux lésions cérébrales sévères, mais cela reste à confirmer par d'autres études.

Notre étude comporte toutefois des limites. Seuls deux fœtus n'avaient pas de lésions cérébrales, ce qui limite l'interprétation des résultats en termes de puissance. Une autre limite de l'étude est l'utilisation de nombreux tests de corrélation au niveau statistique. Les résultats obtenus devraient être confirmés dans une plus grande population pour une validation externe.

En effet, la petite taille de notre population peut constituer un biais dans l'interprétation de ces tests de corrélation.

Même si la brebis reste le modèle le plus utilisé pour comprendre les mécanismes physiologiques mis en jeu par le fœtus pour répondre à une situation de stress, cette réponse n'est probablement pas exactement la même que chez le fœtus humain du fait de la différence de placentation et de maturation du SNA. L'extrapolation de nos résultats doit donc être prudente (118). L'hypoxie fœtale a été obtenue par compression du cordon ombilical, comme décrit dans de nombreuses études antérieures menées par d'autres équipes (38,103,119,120). Cependant la compression cordonale ne reflète qu'une partie du mécanisme de l'hypoxie lors du travail et des contractions, l'autre partie étant causée par la compression des vaisseaux utéro-placentaires, qu'il n'était pas possible de reproduire dans ce modèle animal (82). De plus, l'âge gestationnel que nous avons évalué est le plus proche possible du terme que l'on puisse actuellement évaluer chez le mouton ; comme décrit par d'autres, une chirurgie plus proche du terme est difficile en raison du risque élevé de déclencher le travail sans réaliser l'expérience (17,38,39). Enfin, nous avons choisi comme seuil d'arrêt des manipulations un $\text{pH} < 6,90$ et non un seuil d'hypotension comme certains auteurs (119). Cependant, nous avons observé une hypotension significative durant la phase C ce qui valide notre modèle d'hypoxie sévère.

3) Conclusion

Cette étude confirme que les paramètres gazométriques ne permettent pas de prédire de manière correcte les lésions d'EAI. L'hypotension fœtale et certains marqueurs de VFC étaient par contre associés à la présence de lésions d'EAI. Ainsi, l'analyse de certains marqueurs de VFC (le FSI, la VLT et la VCT), pourrait être un outil prometteur pour détecter les lésions d'EAI.

Partie 4 : Etudes ancillaires

Lors des différentes expérimentations réalisées dans le cadre des études précédemment décrites, nous avons mené en parallèle deux autres études:

- La première était la mise en place d'un modèle d'enregistrement de l'EEG fœtal
- La deuxième était le dosage du SB100 et de la troponine dans une situation d'acidose fœtale

A) Enregistrement de l'électro-encéphalogramme (EEG) fœtal : nouvelle technique de pose des électrodes.

1) Introduction

Les premiers enregistrements EEG chez le fœtus de brebis ont été décrits dans le début des années 1970. La maturation du cerveau chez le fœtus de brebis est plus rapide que le fœtus humain mais suit le même modèle avec une activité électrique corticale comparable. Ainsi, plusieurs études expérimentales se sont intéressées à l'enregistrement de l'EEG chez le fœtus de brebis et en particulier dans des situations d'hypoxie afin d'évaluer si des modifications précoces de l'EEG permettaient de prévenir les lésions d'EAI. La technique princeps de pose d'électrode d'EEG chez le fœtus de brebis a été décrite en 1972 (121). Une incision médiane était réalisée, le périoste retiré et des trous de trépan à travers la tablette osseuse étaient réalisés permettant d'accueillir des vis en acier inoxydable autour desquelles étaient enroulée l'électrode. Le tout était fixé grâce à du ciment dentaire qui assurait la stabilité mécanique de l'électrode et son isolation du liquide amniotique. Lors de la mise en place de ce modèle au sein de l'équipe, 2 décès *in utero* précoces et 1 mise en travail spontané

en post-opératoire sont survenus. Les autopsies ont mis en évidence des hématomes au niveau de la dure-mère, en regard des zones de trépanation. L'hypothèse principale était donc celle d'une technique chirurgicale trop invasive bien qu'utilisée par d'autres équipes de recherche travaillant sur le même modèle.

A notre connaissance, seule une équipe a réussi à enregistrer le signal EEG fœtal sans forer la table osseuse. Une électrode au scalp modifiée était placée directement sur le cuir chevelu (122). Leurs résultats confirmaient que le signal acquis à partir d'électrodes supradurales était similaire malgré une amplitude réduite et des artefacts plus nombreux. Dès lors l'utilisation des propriétés du périoste nous a semblé être un bon compromis entre une technique plus invasive et un signal microvolté. L'objectif de cette étude était alors de développer cette technique et de tester l'enregistrement EEG lors d'une situation d'occlusions cordoniales totales et répétées chez le fœtus de brebis.

2) Matériel et méthodes

a) Modèle chirurgical

Le modèle chirurgical animal expérimental est celui décrit dans la partie 1.3 (page 26, Modèle animal). L'étude expérimentale a été approuvée par le Comité d'Éthique Local d'Expérimentation Animale (Agrément N° 2016121312148878).

Après avoir réalisé la laparotomie, l'hystérotomie, la pose des cathéters artériels, des électrodes cardiaques et de l'occluteur, nous terminions par la pose des électrodes EEG. Pour cela, la tête fœtale était exposée en regard de l'hystérotomie. En cas de difficulté d'abord, celle-ci pouvait être extériorisée et était alors placée dans un gant stérile afin d'éviter le passage d'air sur un mouvement respiratoire fœtal. 3 paires d'électrodes (MYWIRE 10, MAQUET, Allemagne) étaient mises en place sous le périoste de part et d'autre de la ligne médiane pour le recueil du signal EEG : 2 paires placées respectivement 5mm en avant et

10mm en arrière du bregma, la 3ème paire servant d'électrodes de référence et de terre au niveau de l'occiput (Figure 4.A.2.a.1). Des incisions cutanées électives de 5 mm étaient réalisées en assurant le bon contrôle de l'hémostase au niveau du scalp afin de limiter tout risque d'hématome. L'électrode était placée par un point en X sur le périoste de telle sorte que la zone dénudée conductrice se retrouvait sous le périoste et en contact avec la table osseuse (Figure 4.A.2.a.2). L'ouverture cutanée était ensuite refermée par un point en X au vircyl 2/0 Rapide et l'électrode fixée.

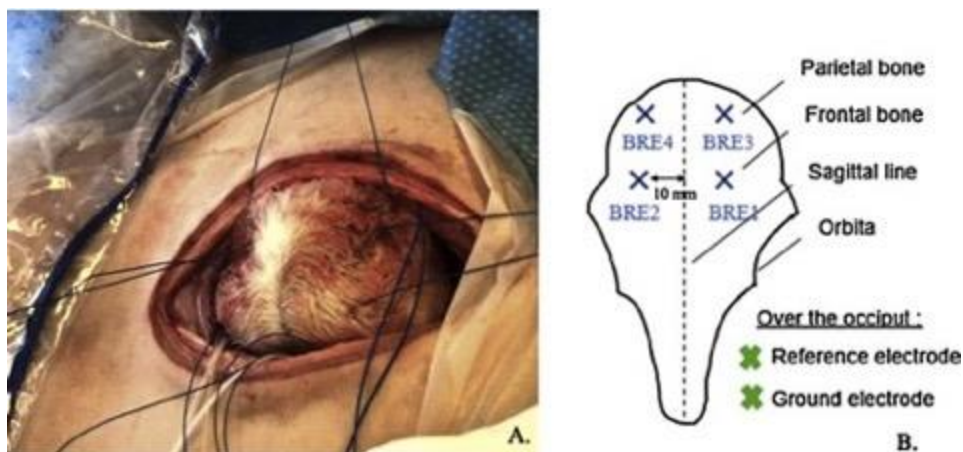


Figure 4.A.2.a.1 : Placements des électrodes sur la tête fœtale. Issue de l'article de Lacan et al (123).

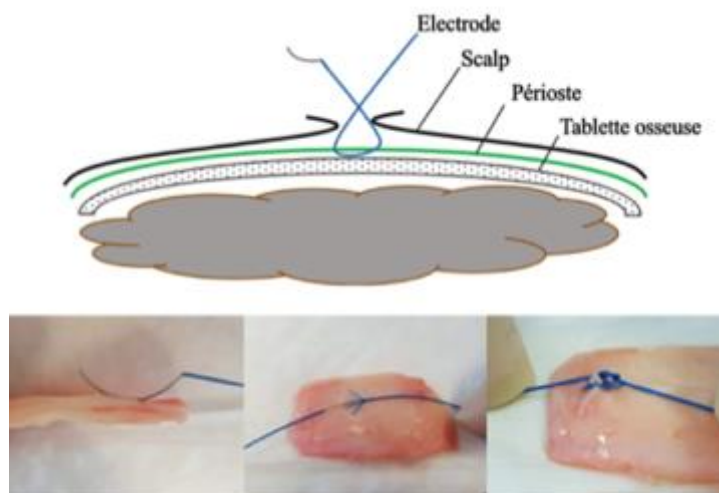


Figure 4.A.2.a.2: Technique de pose des électrodes sur le périoste. Issue de l'article de Lacan et al.

b) Protocole expérimental

Le protocole expérimental débutait ensuite 4 jours après la chirurgie et correspondait au protocole d'occlusions cordonales tel que décrit précédemment (phase de stabilité, phase d'occlusions légères (1min toutes les 5minutes), phase d'occlusions modérées (1min toutes les 3minutes), phase d'occlusions sévères (1min toutes les 2minutes), phase de récupération). L'enregistrement de l'EEG était réalisé en continu durant l'heure de stabilité, durant la phase d'occlusions cordonales, durant 6h en post-occlusion et durant une heure à 24h et 48h de la fin des occlusions cordonales. Les 6 électrodes EEG étaient reliées à une boîte tête, elle-même reliée à une unité d'acquisition du signal EEG System Plus de Micromed® (Micromed SAS, Macon, France).

L'EEG était enregistré en continu par bloc de 6 heures. Le signal était filtré entre 0,5 et 70 Hz et numérisé à une fréquence d'échantillonnage de 256 Hz. Dans un premier temps, une analyse visuelle était réalisée par un électro-physiologiste. Une analyse quantitative était ensuite réalisée à partir des tracés EEG bruts à l'aide de différents marqueurs EEG quantitatifs reflétant notamment l'amplitude et le contenu fréquentiel du tracé de fond, disponibles dans le logiciel EEG Analyser, System Plus Evolution de Micromed® (Micromed SAS, Macon, France). L'amplitude était mesurée par les index d'amplitude minimal et maximal (IA min et IA max) et le contenu fréquentiel par la Spectral Edge Frequency (95%SEF) qui représente la fréquence délimitant 95% de la puissance spectrale totale (Figure 4.A.2.b.1). Les marqueurs étaient calculés toutes les 2 secondes puis moyennés toutes les 20 secondes sur les dérives bipolaires BRE1-BRE2 et BRE3-BRE4 puis la moyenne de l'ensemble des dérives était calculée (Figure 4.A.2.b.2). Les périodes suivantes étaient analysées : les 5 minutes de pause entre chaque série d'occlusion, en per-occlusion et sur des périodes de 20 minutes sur les phases de stabilité et de récupération

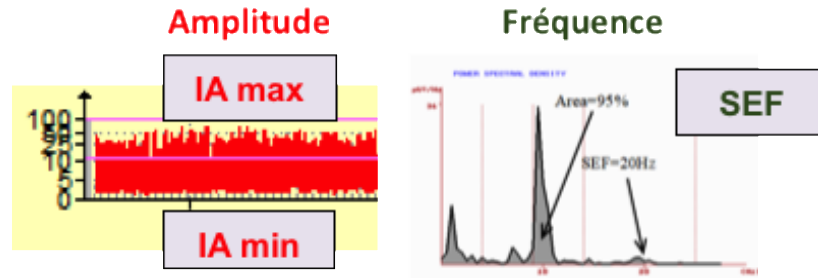


Figure 4.A.2.b.1 : Exemples de mesure de l'amplitude (IA max et min) et de la fréquence (SEF) pour l'analyse quantitative de l'EEG

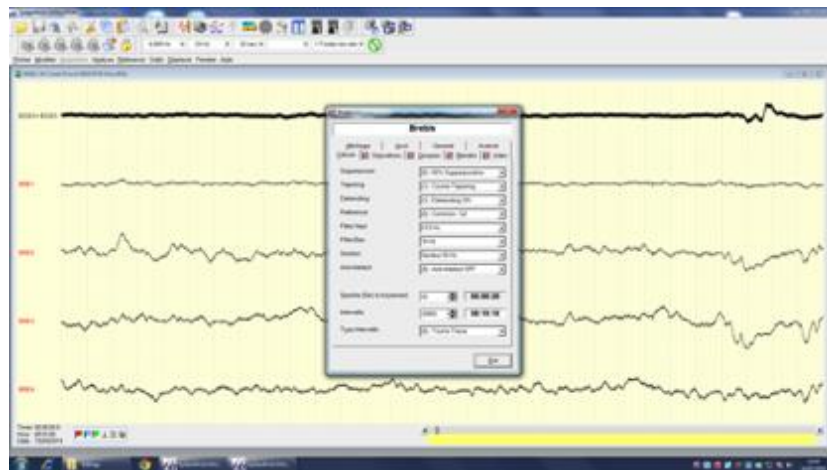


Figure 4.A.2.b.1: Fenêtre du Logiciel EEG System plus Evolution de Micromed® permettant le paramétrage de l'analyse quantitative

3) Résultats

12 agneaux ont eu le protocole expérimental d'occlusion cordonale. Parmi eux, 1 n'a pas complété les séries d'occlusions prévues en raison de la rupture d'un occluteur et 1 a été exclu après la survenue d'un décès non expliqué per protocole. La cause du décès était inexpliquée mais il n'était pas retrouvé de complication au niveau de la pose des électrodes pouvant expliquer le décès de l'agneau. Ainsi, 10 manipulations complètes ont été réalisées au total.

Le temps moyen de pose des électrodes était d'environ 5 minutes par électrodes, soit un

total de 15-30 min pour la pose des 6 électrodes, en fonction de nombre d'opérateurs (un ou deux). L'enregistrement du signal EEG était de qualité suffisante pour l'analyse visuelle et quantitative. Il y avait des artéfacts intermittents, composés principalement de grandes ondes liées aux mouvements de la brebis ou de l'agneau, mais qui ne gênaient pas l'analyse visuelle de l'EEG (Figure 4.A.3.1).

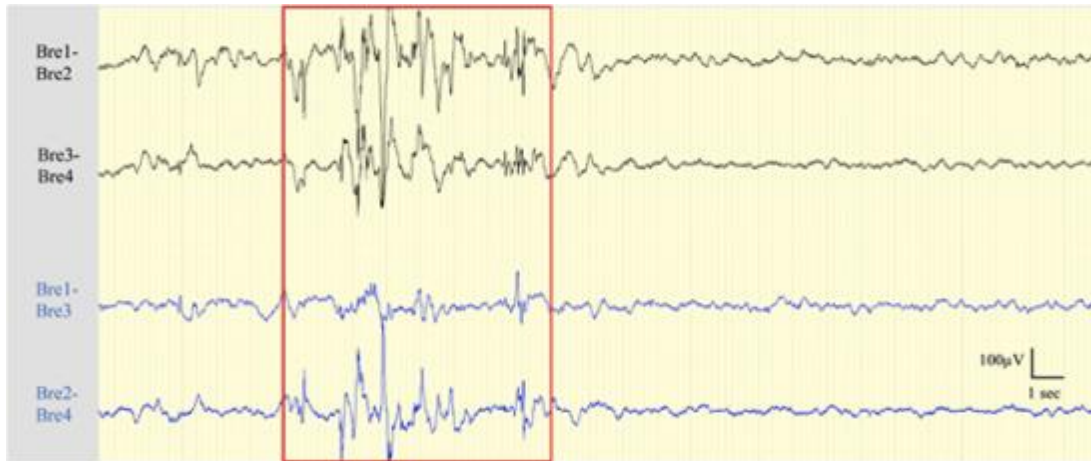


Figure 4.A.3.1 : Exemple de tracé EEG avec un signal artéfacté (encadré en rouge). L'artefact (encadré en rouge) a été enregistré pendant la période de stabilité et était concomitant avec les mouvements des brebis. Il est représentatif des artéfacts intermittents que nous avons généralement enregistrés avec une grande amplitude en moyenne de 250 μV ici et une fréquence lente (fréquence de pointe à 1 Hz).

En analyse visuelle qualitative, le signal EEG était continu et labile en phase de stabilité. Deux types d'activités électriques étaient retrouvées: une activité lente de grande amplitude et une activité rapide de basse amplitude (Figure 4.A.3.b : tracés A et B). Lors des OCT, on retrouvait visuellement une diminution de l'amplitude du signal, souvent suivie par des artéfacts (ondes amples) (Figure 4.A.3.b : tracé C). Au début de la phase de récupération, l'amplitude du signal était généralement aplatie avec des fréquences plus lentes. Au cours des six heures de récupération, on observait un enrichissement progressif du signal. Des pointes et des périodes d'activité rythmique ont été observées dans certains tracés durant cette phase, ce qui pourrait correspondre à des crises (Figure 4.A.3.b : tracé D). Après le sacrifice maternel,

l'amplitude du signal EEG diminuait jusqu'à un tracé aréactif en moins de 20 minutes (7,50 minutes en moyenne $\pm 5,32$ [1,2-19,0]) (Figure 4.A.3.b : tracé E).

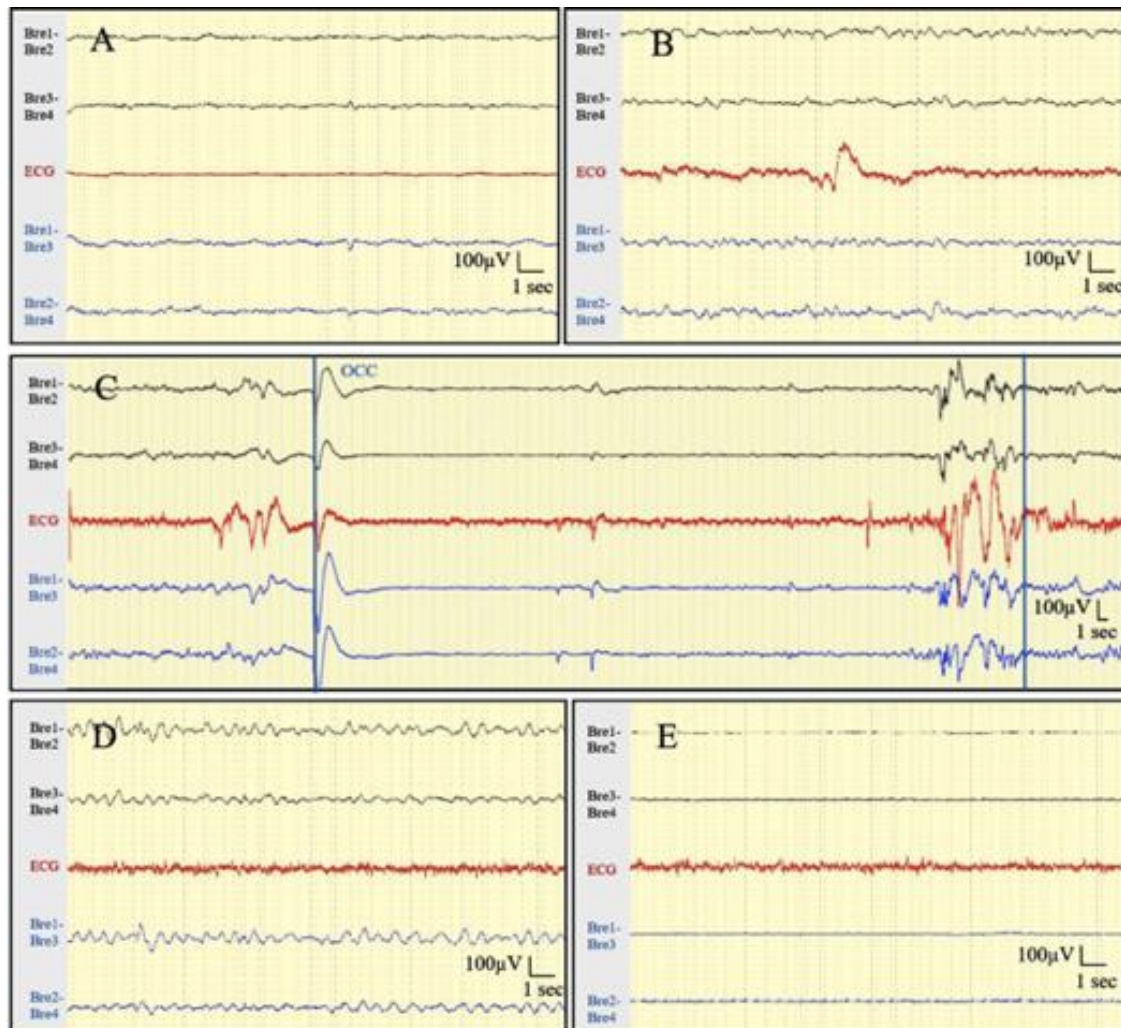


Figure 4.A.3.2: Exemples de tracés EEG selon les différentes phases du protocole.

Montage bipolaire transversal (noir) et longitudinal (bleu) avec Bre1 à 4 correspondant aux électrodes EEG de la Fig. X. ECG en rouge.

A : Phase de stabilité (analyse sur 20sec) : activité rapide de faible voltage avec une amplitude maximale du signal autour de 20 μV , fréquence 10-13 Hz.

B : Phase de stabilité (analyse sur 20sec) : activité lente de haut voltage avec une amplitude maximale du signal autour de 60 μV , fréquence 2-5 Hz.

C : Phase d'occlusions modérées (1minute toutes les 3minutes, le début et la fin de l'occlusion (occ) sont marqués par les barres bleues) : diminution de l'amplitude du signal; artefacts au début et à la fin de l'occlusion du cordon ombilical (analyse sur 90 s).

D : Phase de récupération (H2 post-occlusions, analyse sur 20sec) : activité rythmique, enregistrée sur toutes les dérivation.

E : Tracé inactif (analyse sur 20sec) 7 minutes après le sacrifice

Les mesures quantitatives de l'EEG sont présentées dans le Tableau 4.A.3.1 et la Figure 4.A.3.3 mais ne font pas l'objet d'une analyse statistique car ce n'était pas l'objectif de ce travail.

	Stabilité	Phase d'occlusions légères		Phase d'occlusions modérées		Phase d'occlusions sévères	
		Entre les OCT	Per OCT	Entre les OCT	Per OCT	Entre les OCT	Per OCT
Min Amp (µv)	3,5 ± 1,6	2,7 ± 1,4	3,4 ± 2,8	2,0 ± 1,2	4,2 ± 10,3	1,7 ± 1,3	1,4 ± 1,6
Max Amp (µv)	79 ± 17	78 ± 16	76 ± 20	78 ± 15	77 ± 20	80 ± 12	76 ± 21
95% SEF (Hz)	8,7 ± 3,8	7,6 ± 2,8	7,9 ± 3,3	7,2 ± 3,0	7,5 ± 3,6	6,3 ± 2,1	6,0 ± 2,8

Tableau 4.A.3.1 : Mesures quantitatives de l'EEG fœtal à l'aide du système Micromed®
Les valeurs sont exprimées en moyenne +/- écart type. N=10. OCT = occlusion cordonale totale. Min Amp = amplitude minimale ; Max Amp = amplitude maximale ; 95% SEF = 95% de la puissance spectrale totale

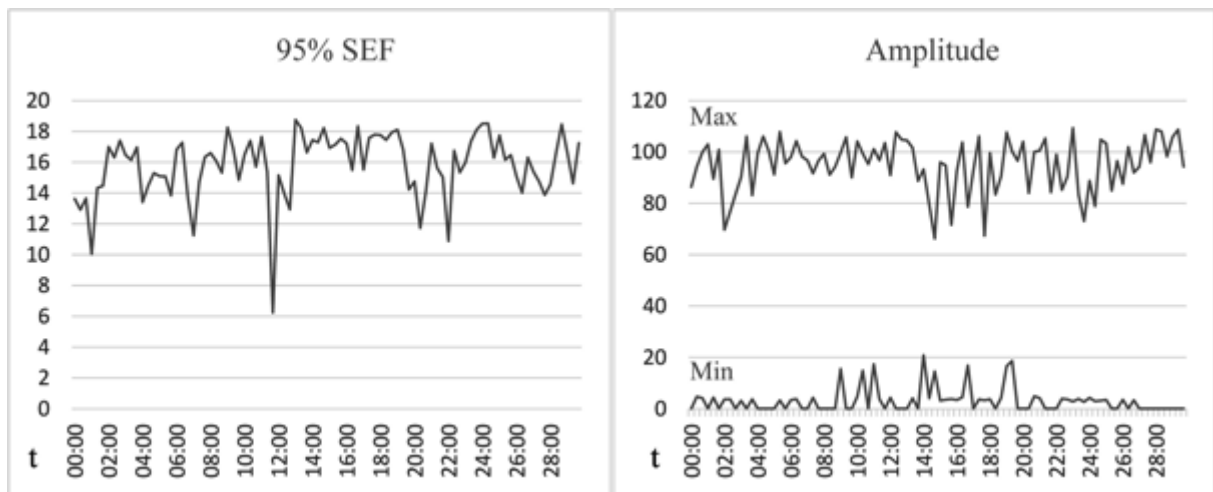


Figure 4.A.3.3: Exemple de tracés pour la mesure quantitative de l'EEG en phase de stabilité.
Min Amp = amplitude minimale (µv) sur 20 sec ; Max Amp = amplitude maximale sur 20 sec (µv) ;
95% SEF = 95% de la puissance spectrale totale sur 20 sec (Hz) ; t = temps (mm:ss)

4) Discussion

a) Résultats principaux

L'utilisation d'un modèle animal de fœtus de brebis nécessite un coût important et une préparation spécifique. Les modèles doivent donc être reproductibles et doivent essayer d'avoir une morbi-mortalité faible afin de réduire le nombre d'animaux nécessaires (124). Ainsi nous avons proposé une nouvelle technique de pose des électrodes EEG, chez le fœtus de brebis, moins morbide et qui évite de forer le crâne fœtal. Cette procédure était ainsi moins invasive et plus simple chirurgicalement. La courbe d'apprentissage de la technique fut courte, ce qui l'a rendu facile et rapide à mettre en place dans notre équipe qui ne comporte pas de neurochirurgien. Le signal EEG enregistré à l'aide de cette technique nous a semblé être d'une qualité suffisante pour l'analyse visuelle et quantitative des fœtus de l'activité corticale (Figure 4.A.5.1).

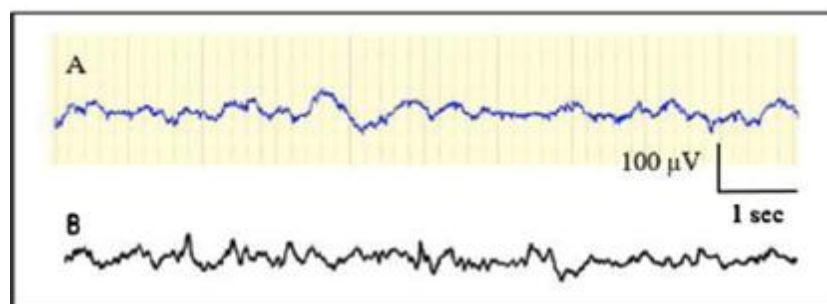


Figure 4.A.5.1: Comparaison des tracés : Technique EEG vs technique ECOG.
 A. Exemple de tracé EEG enregistré in utero chez un fœtus de brebis à l'aide de la technique EEG (âge gestationnel 128 jours, phase de stabilité).
 B. Tracé ECOG présenté dans "EEG, ECG, and acid-base observations during acute fetal hypoxia", Mann 1970 (âge gestationnel 130 jours, phase de stabilité).

b) Interprétation

Bien que le signal EEG obtenu par cette technique comportait des artefacts, ceux-ci étaient intermittents et facilement détectables visuellement, ce qui n'a pas interféré pour l'analyse visuelle. En comparaison avec les tracés bruts de l'électrocorticogramme (ECOG)

présentés dans les études précédentes (Fig. 6), le signal EEG obtenu était comparable, continu et labile en phase de stabilité, comme décrit pour cet âge gestationnel chez le fœtus de brebis (125–128). Visuellement, il était possible de distinguer les deux types d'activité décrites dans la littérature chez le fœtus de brebis, même si pour être certain que ces activités soit liées à l'activité corticale, une analyse plus approfondie avec enregistrement des mouvements des yeux, de l'électromyogramme et des mouvements respiratoires pendant ces activités seraient nécessaires (121,125–127,129–131).

Nos mesures quantitatives de l'EEG en phase de stabilité étaient comparables avec les données de l'ECOG au même âge gestationnel dans des études précédentes (122,132–134). L'amplitude du signal EEG semblait être un peu plus basse, ce qui était attendu puisque l'activité corticale est enregistrée au-dessus de l'os dans notre technique. Les données expérimentales obtenues pendant les phases d'occlusion n'ont pas été comparées avec les études précédentes car les protocoles d'occlusion étaient différents selon les études.

À notre connaissance, une seule équipe a réussi à enregistrer l'activité cérébrale chez le fœtus de brebis sans forer le crâne, en utilisant une électrode spiralée, placée directement sur le cuir chevelu. Leurs résultats confirmaient que l'activité ECOG acquise par des électrodes supra-durales et l'activité EEG acquise par des électrodes de cuir chevelu étaient similaires, malgré une amplitude réduite et davantage d'artefacts techniques dans ce dernier cas. Notre technique utilisant le périoste pour fixer les électrodes EEG semble être un bon compromis entre ces deux techniques (sous-dural et cuir chevelu) avec une technique légèrement plus invasive que la pose sur le cuir chevelu mais un signal moins artefacté.

c) Force et limites

Cette étude propose donc une technique de pose d'électrodes EEG qui semble acceptable en comparaison à la technique princeps. Cependant, nous n'avons pas comparé dans notre étude les deux techniques et notre nombre d'enregistrement EEG reste faible (N=10). D'autre part, le cuir chevelu est un tissu très irrigué qui saigne facilement, notre technique nécessite donc d'être particulièrement vigilant sur l'hémostase, l'apparition d'un hématome du cuir chevelu pouvant atténuer le signal EEG.

d) Perspective

L'enregistrement in utero de l'activité EEG représente un intérêt pour notre équipe afin d'étudier les mécanismes physiologiques impliqués dans la réponse cérébrale à l'hypoxie périnatale et de prédire l'encéphalopathie anoxo-ischémique (EAI). En effet, un de nos objectifs principaux est la prévention de l'EAI mais aucun marqueur actuellement n'a fait la preuve de son efficacité. L'EEG étant connu pour être prédictif du pronostic clinique chez les nouveau-nés (135), l'identification de marqueurs EEG per-partum pertinents chez le fœtus de brebis pourrait potentiellement être utilisée chez l'homme pour prédire l'apparition de l'EAI, en utilisant par exemple une électrode au cuir chevelu pour l'enregistrement EEG. Mais actuellement il n'y a pas de dispositif disponible.

Par ailleurs, Frasch et al. ont montré une synchronisation de l'activité de la VFC et du signal EEG avant l'apparition d'une acidose sévère chez le fœtus de brebis dans un protocole d'occlusion cordonale (122). Il serait alors intéressant de regarder la corrélation entre notre marqueur, le FSI, et l'EEG fœtal lors d'une situation d'hypoxie fœtale.

5) Conclusion

Nous proposons une méthode d'enregistrement EEG in utero chez le fœtus de brebis utilisant des électrodes fixées au-dessus de l'os crânien, sur le périoste. Cette méthode est moins invasive que la technique princeps et le signal EEG enregistré est de qualité suffisante avec des caractéristiques visuelles et quantitatives comparables à celles de l'ECOG. Cette méthode semble être une alternative acceptable à la méthode d'enregistrement standard ECOG et peut être utilisée pour de futures études.

B) Dosage de la protéine S100B et des troponines dans un modèle d'acidose fœtale.

1) Introduction

Les contractions utérines peuvent réduire la perfusion utéro-placentaire jusqu'à 60 %, ce qui entraîne une hypoxie fœtale progressive (82). À terme, les fœtus sains sont capables de supporter cette hypoxie transitoire en réduisant la consommation d'oxygène et en redirigeant le sang oxygéné vers les organes nobles (cœur, cerveau et surrénales) par l'activation du chemoréflexe (81,120). Si le temps entre les contractions est suffisant, une reperfusion foeto-placentaire est possible. Ce mécanisme permet de protéger les fœtus de lésions hypoxiques graves et irréversibles. Cependant, certains fœtus développent en per-partum une acidose métabolique dans des contextes d'hypoxie, qui reste une cause majeure de complications néonatales, telles que l'encéphalopathie anoxo-ischémique (EAI) et la paralysie cérébrale.

Une défaillance multiviscérale peut être observée dans ces contextes, les organes principalement touchés étant le cerveau et le cœur (136). Des marqueurs biochimiques spécifiques de dommages de ces tissus, tels que la protéine S100B et la troponine T cardiaque (c-TnT) ont été étudiés dans le sang du cordon ombilical à la naissance ces dernières années (137,138). La protéine S100B est une protéine acide de liaison au calcium principalement concentrée dans les cellules gliales du système nerveux. Le S100B semble être un neurobiomarqueur prometteur chez les nouveau-nés ayant présenté une asphyxie à la naissance (139). En effet, l'augmentation de sa concentration dans les liquides biologiques (liquide céphalo-rachidien, sang ou urines) est un marqueur fiable de lésions cérébrales après une asphyxie chez les nouveau-nés (140). L'hypothèse avancée est qu'en cas de lésions cérébrales une partie du S100B libéré par le tissu atteint pourrait se propager à travers la barrière hémato-encéphalique dans la circulation systémique fœtale. Chez les nouveau-nés

atteints d'une forme sévère d'EAI, le S100B a été retrouvée élevée dans les échantillons de sang du cordon ombilical à la naissance et était associée à la sévérité de l'EAI et au risque de séquelles neurodéveloppementales (141). Il a également été montré que l'augmentation du taux de S100B fœtal était détectable dans la circulation maternelle (142).

La troponine T cardiaque (c-TnT) est couramment utilisée comme marqueur de l'ischémie myocardique chez les adultes et les nouveau-nés. L'atteinte cardiaque est le reflet d'une hypoxie sévère, le cœur étant l'organe noble préservé le plus longtemps. En cas de souffrance myocardique, la Troponine T s'élève (143). D'autre part, en cas d'asphyxie périnatale, elle pourrait être un marqueur prédictif fort de lésions myocardiques et d'EAI (144). Costa et al. ont ainsi montré que les nouveau-nés présentant une hypoxie per-partum avaient des taux de c-TnT plus élevés, associés à une diminution du débit cardiaque, par rapport aux nouveau-nés sans hypoxie (145).

Le dosage *in utero* de ces biomarqueurs en réponse à l'acidose n'est pas connu dans la littérature. Ainsi, l'objectif de cette étude était d'évaluer les taux sanguins de S100B et de c-TnT fœtal et maternel dans un modèle expérimental d'acidose sévère chez le fœtus de brebis.

2) Matériel et méthodes

a) Modèle chirurgical

Le modèle chirurgical animal était tel que décrit dans la partie 1.3 (page 26, Modèle animal). L'étude expérimentale a été approuvée par le Comité d'Éthique Local d'Expérimentation Animale (Agrément N° 2016121312148878).

b) Protocole expérimental

Le protocole expérimental était celui décrit précédemment avec des occlusions cordinales totales répétées selon 3 phases : phase A, phase B, phase C. A la fin de chaque phase, était

respecté un plateau sans occlusion de 5 minutes afin de permettre le recueil des données gazométriques et hémodynamiques (Figure 1.4.d.1, partie 1.4.d, page 39). Un prélèvement de 0,6 ml de sang fœtal et maternel sur tube sec pour le dosage de la protéine S100B et de la c-TnT, était réalisé pendant la phase de stabilité et à la fin de chaque phase d'occlusion, lors des plateaux de 5 minutes sans occlusion (figure 2.2.b.1, partie 2.2.b, page 51). Les dosages biochimiques étaient réalisés par électrochimiluminescence (kit Elecsys S100B, Roche Diagnostics, Meylan, France). Le dosage de la protéine S100B était réalisé chez la mère (S100B M) et chez le fœtus (S100B F). Les échantillons de sang ont été centrifugés à 3500 g pendant 10 minutes et le surnageant a été conservé à -80° C jusqu'à l'analyse. Les delta S100B et c-TnT étaient définis comme la différence en pourcentage d'augmentation ou de diminution par rapport à la phase de stabilité (Δ S100B F ou Δ S100B M et Δ c-TnT F ou Δ c-TnT M).

A la fin de chaque expérimentation, les cerveaux des fœtus de brebis étaient prélevés afin de réaliser une analyse anatomopathologique, selon la technique décrite précédemment (Partie 3.3.c, page 77), à la recherche de neurones ischémiés selon les régions du cerveau.

c) Analyse statistique

Les variables numériques gaussiennes ont été décrites en termes de moyenne et de déviation standard et les variables numériques non gaussiennes en termes de médiane et d'intervalles interquartiles. La normalité des variables numériques a été vérifiée graphiquement et testée à l'aide du test de Shapiro-Wilk.

Les évolutions des paramètres pendant les phases d'occlusion (A, B et C) ont été évaluées à l'aide d'un modèle linéaire mixte avec une structure de covariance non structurée pour tenir compte de la corrélation entre les mesures répétées et incluant le temps et les données de la phase de stabilité comme effets fixes. Les comparaisons post-hoc entre les 3 phases d'occlusion ont été réalisées à l'aide de contrastes linéaires. La normalité des résidus a été

vérifiée graphiquement. En cas d'écart de normalité (sans transformation log possible), les comparaisons entre les 3 phases d'occlusion ont été réalisées à l'aide de test des rangs signés de Wilcoxon. Des tests bilatéraux ont été réalisés avec un niveau de significativité de 5%. Les corrélations entre les paramètres gazométriques et les marqueurs biologiques ont été évaluées à l'aide de modèles linéaires mixtes en prenant chaque brebis comme effet aléatoire et le temps comme effet fixe. Les analyses statistiques ont été effectuées à l'aide du logiciel SAS (SAS Institute version 9.4).

3) Résultats

Quatorze brebis gestantes ont été opérées dans le cadre du protocole. Quatre ont été exclues de l'analyse : 2 agneaux sont morts *in utero* à J1 et J2 post-opératoire, 1 brebis s'est mise en travail spontané à J2 post-opératoire et 1 n'a pas complété les séries d'occlusions prévues en raison de la rupture d'un occluteur. Ainsi, 10 manipulations complètes ont été réalisées au total.

a) Paramètres gazométriques et hémodynamiques

En phase de stabilité, tous les fœtus présentaient un état hémodynamique satisfaisant et des paramètres de gazométrie normaux.

Aucune différence significative n'était observée entre les phases A, B, et C pour la fréquence cardiaque et pour la PAM (Tableau 4.B.3.1). Il y avait une différence significative pour la PAM per-occlusion entre les phases A et C ($54,7 \pm 6,2$ versus $36,1 \pm 17,2$ mmHg, $p = 0,009$) et entre les phases B et C ($47,1 \pm 15,1$ versus $36,1 \pm 17,2$ mmHg, $p = 0,006$). Au cours des différentes phases d'occlusions, le pH baissait progressivement : 7,29 (7,23-7 ;34) en phase A vs 7,15 (7,06-7,25) en phase B vs 6,99 (6,89-7,09) en phase C ($p < 0,05$). La pO_2

n'était pas modifiée tandis que la pCO₂ augmentait significativement entre la phase A et la phase C (53mmHg $\pm$ 5.1 vs 69.9mmHg $\pm$ 16.7, p= 0.006). L'excès de base et les lactates augmentaient significativement entre les 3 phases d'occlusions.

	Stabilité	Période d'occlusion			p		
	S	A	B	C	A vs B	A vs C	B vs C
Hémodynamique							
FC	183,3 $\pm$ 10,6	172,2 $\pm$ 16,6	181,3 $\pm$ 23,1	176,4 $\pm$ 22,5	0,17	0,79	0,45
PAM (mmHg)	47,4 $\pm$ 10,8	55,3 $\pm$ 10,5	58,1 $\pm$ 8,0	59,7 $\pm$ 9,3	0,35	0,35	0,52
PAM per-occ (mmHg)		54,7 $\pm$ 6,2	47,1 $\pm$ 15,1	36,1 $\pm$ 17,2	0,15	0,009	0,006
Gazométrie							
pH	7,39 $\pm$ 0,03	7,29 $\pm$ 0,08	7,15 $\pm$ 0,13	6,99 $\pm$ 0,13	0,001	<0,001	0,002
PO ₂	13,6 $\pm$ 5,5	14,0 $\pm$ 3,8	15,2 $\pm$ 2,9	16,3 $\pm$ 2,7	0,12	0,078	0,17
PCO ₂	46,8 $\pm$ 6,2	53,0 $\pm$ 5,1	57,2 $\pm$ 7,0	69,9 $\pm$ 16,7	0,002	0,006	0,013
BE	3,1 $\pm$ 4,6	-1,2 $\pm$ 6,3	-8,5 $\pm$ 7,3	-14,8 $\pm$ 5,0	<0,001	<0,001	<0,001
Lactate	2,51 $\pm$ 0,74	5,88 $\pm$ 2,35	11,14 $\pm$ 3,93	15,25 $\pm$ 1,56	<0,001	<0,001	0,008
Biochimie							
c-TnT F (ng/L) ¹	73 (49 ; 105)	102 (58 ; 119)	119 (103 ; 198)	169 (128 ; 268)	0,012	0,008	0,008
Δ c-TnT F % ¹		5 (-3 ; 45)	51 (4 ; 263)	77 (56,5 ; 269)	0,012	0,008	0,008
c-TnT M (ng/L) ¹	8 (6 ; 14)	8,5 (6 ; 12)	9 (6 ; 14)	10,5 (6 ; 15)	0,75	1	1
Δ c-TnTM %		6,3 $\pm$ 7,9	3,3 $\pm$ 11,5	3,5 $\pm$ 15,7	0,33	0,87	0,51
S100B F (μ g/L)	10,7 $\pm$ 3,4	11,5 $\pm$ 3,8	12,7 $\pm$ 4,7	12,9 $\pm$ 4,4	0,032	0,01	0,14
Δ S100B F %		7 $\pm$ 4	17 $\pm$ 13	24 $\pm$ 8	0,030	<0,001	0,18
S100B M (μ g/L)	0,44 $\pm$ 0,16	0,47 $\pm$ 0,14	0,43 $\pm$ 0,16	0,45 $\pm$ 0,19	0,70	0,67	0,48
Δ S100B M		-1,9 $\pm$ 2,7	-2 $\pm$ 5,6	-0,8 $\pm$ 0,13	0,93	0,98	0,95

Tableau 4.B.3.1 - Évolution des paramètres selon la phase d'occlusions

Les données sont présentées en moyenne $\pm$ déviation standard ou médiane (intervalle interquartile).
p significatif si $< 0,005$; ¹P-values ont été calculées à l'aide du test des rangs signés de Wilcoxon
FC = Fréquence cardiaque ; PAM = Pression Artérielle Moyenne ; BE= Base Excess (Excès de base)
; S100B F = S100B fœtal ; Δ S100B F= Delta S100B fœtal ; S100B M = S100B Maternel ; Δ S100B M= Delta S100B Maternel ; c-TnT F = Troponine T Foetal ; Δ c-TnT F = Delta de c-TnT foetal ; c-TnT M = Troponine T Maternel ; Δ c-TnT M = Delta c-TnT maternel

b) Paramètres biologiques

Les taux sériques de S100B fœtale augmentaient progressivement entre les phases A et B, $11,5 \mu\text{g/L} \pm 3,8$ vs $12,7 \mu\text{g/L} \pm 4,7$, $p < 0,001$. On observait une différence significative dans le delta de S100B fœtal par rapport au dosage en phase de stabilité, avec une augmentation progressive entre la phase A et la phase B ($7 \% \pm 4$ vs 17 ± 13 , $p = 0,030$) et entre la phase A et la phase C ($7 \% \pm 4$ vs $24\% \pm 8$, $p < 0,001$). Le taux de Troponine T fœtal augmentait durant les occlusions : 102 ng/L (58- 119) en phase A, vs 119 ng/L (103-198) en phase B vs 169 ng/L (128-268) en phase C. Cette augmentation était significative entre les différentes phases ($p < 0,05$). En comparaison de la TnT fœtale lors de la période de stabilité, on notait une augmentation au cours des phases d'occlusions : $5,0 \%$ (-3 ; 45) en phase A, 51% (4 ; 263) en phase B et 77% (56,5 ; 269) en phase C ($p < 0,05$). Il n'y avait pas de différence pour les dosages de S100B et de Troponine T maternel. Enfin, on retrouvait une corrélation significative entre l'évolution des biomarqueurs au cours du temps et certains paramètres gazométriques tels que le pH, les lactates et l'excès de bases (tableau 4.B.3.2).

	pH	p	Lactate	p	BE	p
Δ S100B F	$-0,049 \pm 0,16$	0,007	$1,271 \pm 0,295$	<0,001	$-2,193 \pm 0,559$	0,002
Δ c-TnT F	$-0,001 \pm 0,001$	0,034	$0,016 \pm 0,005$	0,004	$-0,024 \pm 0,009$	0,021

Tableau 4.B.3.2 - Corrélation des différents paramètres analysés pendant les occlusions cordinales.

Les données sont exprimées en coefficient de corrélation de Spearman puis p . p est significatif si $< 0,05$.

4) Discussion

a) Résultats principaux

Lors d'une situation d'hypoxie progressive chez le fœtus de brebis par OCT et répétées, nous avons retrouvé une augmentation significative des taux sériques de S100B et de c-TnT chez le fœtus, associés à l'apparition d'une acidose métabolique.

b) Interprétation

L'EAI est définie comme la manifestation clinique d'une altération de la fonction cérébrale néonatale à la suite d'une asphyxie due à un événement indésirable anténatal et/ou périnatal (146). Divers critères (biologiques, cliniques et parfois électrophysiologiques) sont utilisés pour définir la gravité de l'atteinte neurologique, dont beaucoup sont inclus dans la classification originale de Sarnat (146). La physiopathologie de l'EAI est relativement complexe et est encore mal comprise. Au cours d'une anoxo-ischémie, différents mécanismes intracellulaires sont activés, ce qui conduit à des lésions cellulaires focales ou diffuses, associées à une augmentation significative des neurobiomarqueurs tels que le S100B (147). Le S100B est une protéine de liaison au calcium spécifique du système nerveux central. Elle est notamment présente au niveau des cellules de Schwann, des cellules gliales et des neurones. Récemment, une série d'études a montré que l'évaluation du S100B dans différents liquides biologiques pouvait aider au diagnostic précoce d'EAI chez les nouveau-nés présentant une asphyxie périnatale (140,141). En particulier, Zaigham et al retrouvait dans leur étude, sur des prélèvements de sang de cordon à la naissance, que le S100B était plus élevé chez les nourrissons atteints d'EAI modérée ou grave (N=13, stade Sarnat 2-3) en comparaison à un groupe contrôle (N=21) (0,55 µg/L (0,23-3,22) versus 0,32 µg/L (0,18-5,27), p=0,056). Cette différence était à la limite de la significativité et devenait significative lorsque deux valeurs aberrantes du groupe contrôle étaient exclues (p=0,013) (141). Des concentrations élevées de S100B ont été détectées 48 à 72 heures avant tous signes cliniques, biologiques ou échographiques de lésions cérébrales. A notre connaissance, la modification des niveaux de S100B au cours d'une acidose *per-partum* n'a pas été évaluée dans la littérature. Dans notre étude d'OCT répétées mimant les contractions, nous avons observé une augmentation du taux de S100B au cours des différentes phases de l'expérience et cette

augmentation était détectable dès l'apparition de l'hypoxie. Dans un modèle d'hypoxie fœtale obtenue par hypoxie maternelle (les brebis respiraient de l'air pauvre en oxygène durant 30 minutes), Giussani et al. ont signalé que les concentrations de S100B augmentaient de manière significative au cours de l'hypoxémie aiguë, de $24,9 \pm 2,9 \%$ (148). Cette augmentation de la concentration sanguine de S100B fœtale pourrait être un signe précoce d'atteinte cérébrale post-hypoxique détectable in utero. Une des hypothèses expliquant ce passage systémique massif est une augmentation de synthèse associée à une effraction de la barrière hémato-encéphalique, sensible à l'hypoxie (149). Dans les études sur l'être humain, la différence de concentration de S100B à la naissance était significativement différente entre les nouveau-nés atteints d'EAI et les témoins (141).

Concernant le S100B dans le sang maternel, il a été décrit dans la littérature une augmentation de sa concentration dans les 3 heures suivant un épisode hypoxique fœtal. Comme aucun dommage n'avait été constaté dans le cerveau maternel des animaux utilisés, les auteurs avaient conclu qu'une partie des taux plus élevés de S100B chez la mère était d'origine fœtale avec un probable passage passif gradient-dépendant du fœtus au sang maternel à travers la barrière placentaire (142). Dans notre étude nous n'avons pas mis en évidence d'augmentation des taux sériques maternels de S100B en réponse à l'hypoxie sévère. La placentation chez la brebis est différente de l'humain. Leur placenta est constitué de nombreuses unités appelées placentômes, comparables aux cotylédons du placenta humain, mais ayant chacun une vascularisation indépendante. La possibilité d'un transport placentaire du S100B espèce dépendante pourrait expliquer nos différences par rapport à la littérature retrouvée.

Pendant le travail, plusieurs mécanismes d'adaptation à l'hypoxie, tels que les décélérations de la fréquence cardiaque ou la tachycardie, sont nécessaires (120,150). Après un épisode périnatal d'anoxo-ischémie, des lésions myocardiques peuvent apparaître quand les

mécanismes de compensation sont dépassés et les nouveau-nés développent alors une dysfonction cardiovasculaire et une défaillance multi-organique (151,152). Dans leur étude, Jones et al. ont retrouvé une concentration de cTnT plus élevée chez les nouveau-nés (N=13) qui développaient une EAI modérée à sévère en comparaison à ceux qui ne développaient aucune complication (N=66) (145 ng/L (114-649) versus 93 ng/L (80-114), AUC 0,81 (0,64-0,98), $p<0,04$) (144). Dans notre étude, nous avons constaté que la concentration de c-TnT augmentait dès que le pH commençait à descendre en dessous de 7.15. Ces résultats renforcent l'hypothèse d'un métabolisme cardiaque anaérobie secondaire à l'hypoxie fœtale. Sweetman et al. ont montré que les nouveau-nés présentant une hypoxie néonatale sévère avaient des concentrations sériques de c-TnT significativement plus élevées que les autres (138). Ainsi, la troponine T semble être un marqueur fiable de l'hypoxie.

c) Forces et limites

Cette étude nous a permis d'apporter des données sur l'évolution des biomarqueurs S100B et c-TNT chez le fœtus lors d'une situation d'hypoxie et d'acidose fœtale mimant le travail. Cependant, le faible nombre d'expériences et l'importante variabilité des résultats sont un biais important pour en tirer une forte conclusion. L'absence d'un groupe contrôle manque aussi dans nos résultats, mais les changements de biomarqueurs ont été comparés aux valeurs de base. Enfin, la réalisation du dosage du S100B fœtal en anténatal chez l'humain est à l'heure actuelle impossible du fait de la nécessité d'une quantité de sérum importante.

5) Conclusion

Le S100B et la c-TnT augmentaient en cas d'acidose fœtale, reflétant ainsi les lésions neurologiques et cardiovasculaires potentiels du fœtus. Il sera intéressant de corréler ces changements à une analyse anatomopathologique dans un échantillon plus large.

Conclusion – Perspectives

L'utilisation de la VFC ne semble prédire l'acidose que de façon imparfaite, même en utilisant des systèmes de machine learning. Les systèmes de ML n'ont pas à ce jour montrer leur intérêt dans l'amélioration du pronostic fœtal. Ces systèmes semblent néanmoins prometteurs et ont l'avantage de s'affranchir de la variabilité inter-observateur. Ils ont également l'avantage d'intégrer l'analyse de la VFC, reflet du SNA, qui a un rôle important dans l'adaptation fœtale à l'hypoxie.

La plupart des études prennent pour gold standard pour la classification des RCF, le pH à la naissance. Cependant l'acidose fœtale n'était pas corrélée aux lésions d'EAI dans notre étude, ce qui est en accord avec la littérature récente. Or ce sont ces situations à risque d'EAI que l'on veut dépister en salle de naissance. Seuls certains marqueurs de la VFC et la PAM étaient corrélés aux lésions cérébrales. L'utilisation de la VFC semble donc être une piste intéressante pour le dépistage des situations à risque d'EAI.

A la suite de ces travaux expérimentaux, plusieurs perspectives se dégagent tant au niveau expérimental et clinique.

1) Expérimental

a) Enregistrement de l'EEG fœtal, lésions cérébrales et VFC

A ce jour, l'EEG reste l'examen de référence pour évaluer la sévérité de l'atteinte cérébrale et guider la prise en charge précoce chez le nouveau-né. Plusieurs équipes se sont intéressées à la réponse adaptative du cerveau en réponse à l'hypoxie dans un modèle de brebis gestante, en analysant les modifications EEG (125,153–155). Frasch et al. décrivent

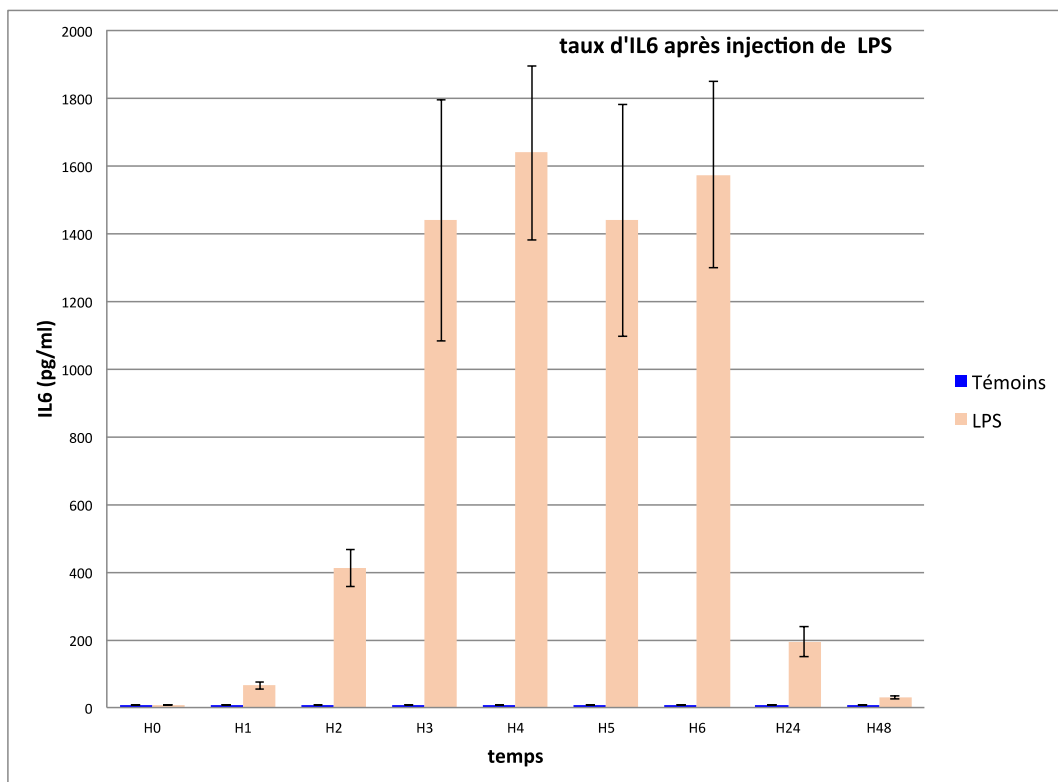
une baisse significative de la SEF (Spectral Edge Frequency, représente la fréquence délimitant 95% de la puissance spectrale totale) en phase d'occlusion cordonale modérée et sévère dans un protocole expérimental similaire, survenant en moyenne 1H avant l'obtention d'un pH <7.00 (133). Ces modifications cérébrales sont le signe d'une réduction de l'activité neuronale corticale afin de réduire la consommation énergétique en situation d'hypoxie.

Ainsi, la mise en place de notre technique d'enregistrement de l'EEG fœtal nous permettra d'étudier l'EEG fœtal lors de protocole d'hypoxie chez le fœtus de brebis afin de déterminer à la fois si celui-ci est prédictif des lésions d'EAI, mais aussi d'évaluer d'un point de vue physiologique la réponse cérébrale à la survenue de ralentissements.

b) Analyse expérimentale des variations de la VFC en cas d'acidose dans un contexte d'infection intra-utérine

L'infection intra-utérine (IIU) peut être à l'origine d'une infection fœtale, elle-même responsable de complications neurologiques chez le nouveau-né, et notamment d'encéphalopathie néonatale (EN) (156). Lors d'une IIU, on observe un syndrome de réponse inflammatoire fœtal, facteur de risque connu de morbi-mortalité (détresse respiratoire, sepsis néonatal, entérocolite ulcéro-nécrosante et complications neurologiques) (157). La reconnaissance et la prise en charge précoce de l'IIU est essentielle pour diminuer ces mais les signes cliniques sont souvent frustrés et aucun marqueur à ce jour ne permet de la dépister de manière satisfaisante. Il a été montré que le SNA était impliqué dans la régulation de l'inflammation dans un contexte infectieux (158). De même, chez les nouveau-nés, l'analyse de la VFC permet de prédire précocement le risque de sepsis (159) et d'en diminuer sa mortalité (160). Ainsi il nous a paru important d'évaluer les indices de VFC comme marqueurs de l'infection fœtale afin de permettre un dépistage plus précoce de l'IIU pour diminuer le risque de complications neurologiques.

Pour cela, nous avons mis en place un modèle d'IIU chez le fœtus de brebis à terme par des injections intraveineuse de Lipopolysaccharides (LPS) d'E-Coli. Ce modèle a été validé lors de nos expérimentations avec des modifications gazométriques, hémodynamiques et biologiques dans le groupe injection de LPS en comparaison au groupe témoins. En effet, on observait une tachycardie fœtale, une acidose métabolique et une augmentation de l'interleukine 6 (IL6) dans le groupe injection de LPS (Figure 1).



*Figure 1 : Taux d'interleukine 6 (IL6) dans le groupe témoin et dans le groupe injection de Lipopolysaccharides (LPS) d'E-Coli.
On retrouve des taux importants d'IL6 dans le groupe injection de LPS, confirmant l'obtention d'un syndrome de réponse inflammatoire fœtale dans notre modèle.*

Les marqueurs de la VFC ont également été modifiés après l'injection de LPS. Ces marqueurs sont ainsi une piste intéressante pour le dépistage précoce de l'infection intra utérine et la prévention des complications fœtales et néonatales qui en découlent.

Par ailleurs, l'hypoxie fœtale dans un contexte d'IIU pourrait être à l'origine de lésions cérébrales plus sévères ou plus précoces (161). Un des projets de l'équipe est donc d'étudier les variations des marqueurs de la VFC dans une situation combinée d'hypoxie et d'IIU. Un modèle expérimental avec injection de LPS et occlusions cordonales sera utilisé.

2) Clinique

Une autre étude préliminaire rétrospective a été réalisée pour évaluer la faisabilité de la mesure chez le fœtus humain (37). Ainsi, nous avons calculé le FSI sur 552 enregistrements de rythme cardiaque fœtaux issus de cardiotocographes (73). Les enregistrements étaient ensuite classés selon leur pH comme normal ou acidotique. Les valeurs maximum, minimum et moyenne du FSI étaient étudiées pendant les 30 minutes précédant la délivrance (pendant les efforts expulsifs). Nous avons montré des variations du FSI plus importantes chez les fœtus présentant une acidose. Cependant, même si cette différence était significative, la différence entre les deux groupes était mitigée et ne permettait pas d'établir un seuil de prédiction de l'acidose (162).

L'explication de cette faible différence peut s'expliquer par les spécificités techniques du cardiotocographe. En effet, ce dernier ne permet pas d'obtenir la fréquence cardiaque fœtale instantanée battement à battement. En général, ce type d'appareil fournit une fréquence cardiaque moyennée sur 3 à 5 battements et ré-échantillonnée à 4 Hz. Or, ce type de moyennage/échantillonnage supprime une partie du contenu fréquentiel HF nécessaire à notre analyse. Suite à cette étude, il apparaît clairement que l'implémentation clinique du FSI passe aussi par l'obtention d'une mesure fiable et battement à battement de la fréquence cardiaque fœtale.

Des systèmes non invasifs d'ECG transabdominal permettent aujourd'hui une détection précise des battements cardiaques fœtaux par analyse de l'ECG (163). A partir

d'électrodes ECG classiques positionnées sur l'abdomen maternel, ces systèmes récupèrent un signal composite de l'ECG maternel, de l'ECG fœtal et du myogramme abdominal (mouvements maternels et fœtaux, contraction utérine). Des algorithmes d'extraction permettent ensuite de séparer les différents signaux et d'extraire l'ECG fœtal. Cependant, bien que plusieurs outils de ce genre soit d'ores et déjà commercialisés (<http://www.mindchild.com/>), ils ne permettent pas d'obtenir le RCF battement à battement nécessaire à notre analyse. Pour lever ces différents verrous, nous avons obtenu un financement de l'ANR pour développer une nouvelle technologie permettant l'acquisition et le traitement continu du signal cardiaque fœtal (projet PrevAP - ANR-18-CE19-0015-01). Ce projet, coordonné par le CHU de Lille en collaboration avec la société BIOSERENITY et l'université de Lille, a débuté en octobre 2018 et a permis de développer un prototype permettant l'acquisition non invasif du rythme cardiaque fœtal par voie transabdominale (Figure 2).

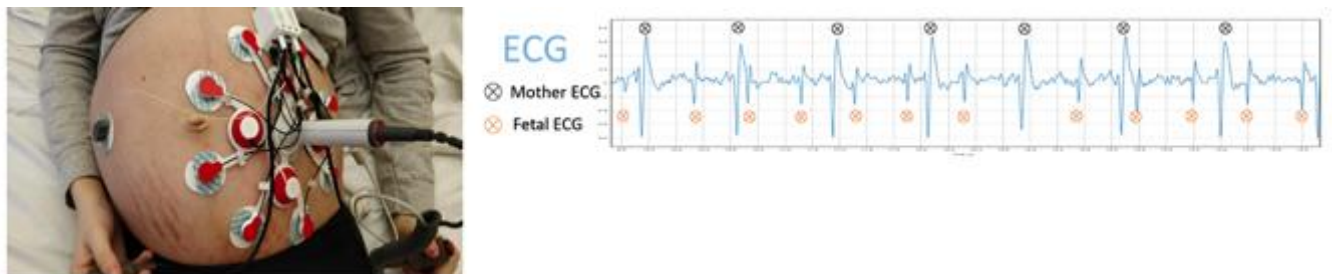


Figure 2 : Prototype utilisé pour l'acquisition de l'ECG fœtal avec exemple de tracé d'ECG fœtal.

Cette technologie se base sur l'utilisation de plusieurs électrodes ECG positionnées sur l'abdomen maternel. Au cours d'une première étude clinique (RCF-abdo), nous avons récupéré les signaux transabdominaux chez 90 parturientes de la maternité Jeanne de Flandre. Cette base de données de signaux a permis, dans un premier temps, de développer les

algorithmes nécessaires à l'extraction des signaux de RCF battement à battement et de contractions utérines.

A partir de ces travaux, nous avons développé un nouveau dispositif capable de mesurer en continue et en temps réel le RCF et les contractions utérines via une électrode ECG spécifique développée par la société Bioserenity. Un protocole de recherche clinique ayant pour but de valider ce système en contexte réel d'utilisation pendant le travail obstétrical en comparaison au CTG a été soumis aux instances réglementaires et devrait commencer fin 2021 (essai MOMA). Ainsi, seront évalués :

- les performances de la mesure du RCF,
- les performances de la mesure de contraction utérine et
- la faisabilité du calcul du FSI à partir de ce dispositif.

En conclusion, nos projets expérimentaux sur l'hypoxie fœtale chez le fœtus de brebis à terme nous ont permis de mieux comprendre la physiologie fœtale et l'adaptation fœtale à l'hypoxie. Nous avons mis en évidence l'importance du SNA et notamment du système parasympathique lors d'une hypoxie fœtale par OCT répétées, mimant les contractions utérines. L'acquisition du système d'enregistrement de l'ECG fœtal chez la femme enceinte va nous permettre maintenant de confirmer ces travaux en clinique humaine.

Par ailleurs, une autre situation à risque de morbidité lors de la grossesse est l'infection intra-utérine. Nos travaux de recherche expérimentaux s'intéresseront à cette situation pour les prochaines années. Le diagramme ci-dessous résume nos différents travaux expérimentaux et cliniques effectués et à venir (Figure 3).

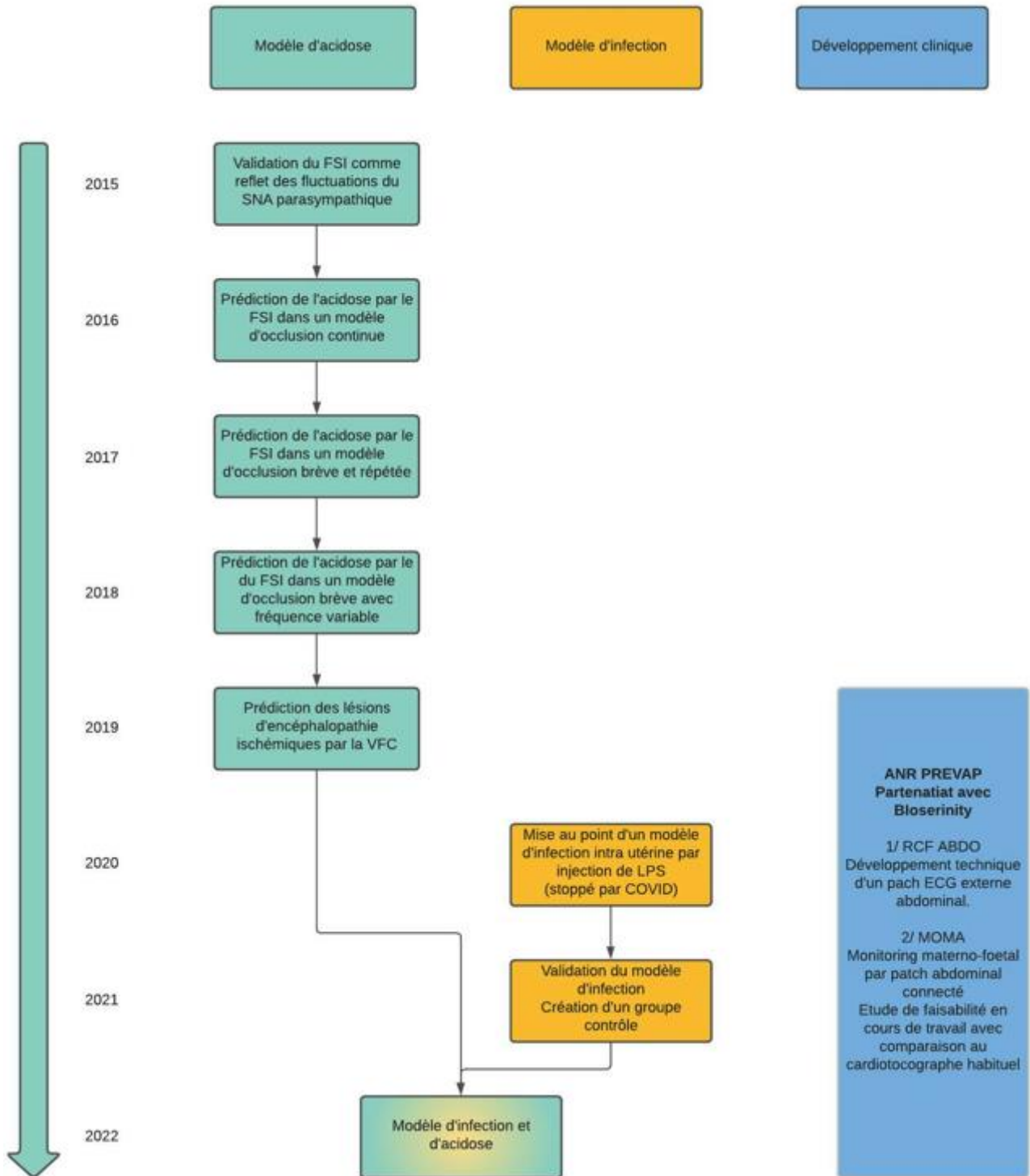


Figure 3: Travaux expérimentaux et cliniques effectués et futurs du laboratoire depuis 2015

Références

1. Nelson KB, Leviton A. How much of neonatal encephalopathy is due to birth asphyxia? *Am J Dis Child* 1960. nov 1991;145(11):1325-31.
2. Kurinczuk JJ, White-Koning M, Badawi N. Epidemiology of neonatal encephalopathy and hypoxic-ischaemic encephalopathy. *Early Hum Dev.* juin 2010;86(6):329-38.
3. Hankins GDV, Speer M. Defining the pathogenesis and pathophysiology of neonatal encephalopathy and cerebral palsy. *Obstet Gynecol.* sept 2003;102(3):628-36.
4. Prior T, Kumar S. Expert review--identification of intra-partum fetal compromise. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* juill 2015;190:1-6.
5. Romano M, Iuppariello L, Ponsiglione AM, Improta G, Bifulco P, Cesarelli M. Frequency and Time Domain Analysis of Foetal Heart Rate Variability with Traditional Indexes: A Critical Survey. *Comput Math Methods Med.* 2016;2016:9585431.
6. Garabedian C, Butruille L, Servan-Schreiber E, Ficheur G, Storme L, Deruelle P, et al. Fetal heart-rate variability: validation of a new continuous, noninvasive computerized analysis. *Gynecol Obstet Invest.* 2017;82(5):500-7.
7. Garabedian C, Clermont-Hama Y, Sharma D, Aubry E, Butruille L, Deruelle P, et al. Correlation of a new index reflecting the fluctuation of parasympathetic tone and fetal acidosis in an experimental study in a sheep model. *PloS One.* 2018;13(1):e0190463.
8. Zhao Z, Zhang Y, Comert Z, Deng Y. Computer-Aided Diagnosis System of Fetal Hypoxia Incorporating Recurrence Plot With Convolutional Neural Network. *Front Physiol.* 12 mars 2019;10:255.
9. Zhao Z, Zhang Y, Deng Y. A Comprehensive Feature Analysis of the Fetal Heart Rate Signal for the Intelligent Assessment of Fetal State. *J Clin Med.* 20 août 2018;7(8):E223.
10. Fergus P, Selvaraj M, Chalmers C. Machine learning ensemble modelling to classify caesarean section and vaginal delivery types using Cardiotocography traces. *Comput Biol Med.* 1 févr 2018;93:7-16.
11. Oliveira V, Martins R, Liow N, Teiserskas J, von Rosenberg W, Adjei T, et al. Prognostic Accuracy of Heart Rate Variability Analysis in Neonatal Encephalopathy: A Systematic Review. *Neonatology.* 2019;115(1):59-67.
12. Booth LC, Malpas SC, Barrett CJ, Guild S-J, Gunn AJ, Bennet L. Is baroreflex control of sympathetic activity and heart rate active in the preterm fetal sheep? *Am J Physiol - Regul Integr Comp Physiol.* 1 mars 2009;296(3):R603-9.

13. Frasch MG, Müller T, Hoyer D, Weiss C, Schubert H, Schwab M. Nonlinear properties of vagal and sympathetic modulations of heart rate variability in ovine fetus near term. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.* mars 2009;296(3):R702-707.
14. Galinsky R, Jensen EC, Bennet L, Mitchell CJ, Gunn ER, Wassink G, et al. Sustained sympathetic nervous system support of arterial blood pressure during repeated brief umbilical cord occlusions in near-term fetal sheep. *Am J Physiol - Regul Integr Comp Physiol.* 1 juin 2014;306(11):R787-95.
15. Keunen H, Hasaart THM. Fetal arterial pressure and heart rate changes in surviving and non-surviving immature fetal sheep following brief repeated total umbilical cord occlusions. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* déc 1999;87(2):151-7.
16. Min S-W, Ko H, Kim C-S. Power spectral analysis of heart rate variability during acute hypoxia in fetal lambs. *Acta Obstet Gynecol Scand.* 1 nov 2002;81(11):1001-5.
17. Bennet L, Westgate JA, Liu Y-CJ, Wassink G, Gunn AJ. Fetal acidosis and hypotension during repeated umbilical cord occlusions are associated with enhanced chemoreflex responses in near-term fetal sheep. *J Appl Physiol Bethesda Md* 1985. oct 2005;99(4):1477-82.
18. Ross MG, Jessie M, Amaya K, Matuszewski B, Durosier LD, Frasch MG, et al. Correlation of arterial fetal base deficit and lactate changes with severity of variable heart rate decelerations in the near-term ovine fetus. *Am J Obstet Gynecol.* avr 2013;208(4):285.e1-285.e6.
19. Doret M, Constans A, Gaucherand P. Bases physiologiques de l'analyse du rythme cardiaque fœtal au cours du travail. *J Gynécologie Obstétrique Biol Reprod.* juin 2010;39(4):276-83.
20. Clerici G, Luzietti R, Di Renzo GC. Monitoring of antepartum and intrapartum fetal hypoxemia: pathophysiological basis and available techniques. *Biol Neonate.* 2001;79(3-4):246-53.
21. Wassink G, Bennet L, Booth LC, Jensen EC, Wibbens B, Dean JM, et al. The ontogeny of hemodynamic responses to prolonged umbilical cord occlusion in fetal sheep. *J Appl Physiol Bethesda Md* 1985. oct 2007;103(4):1311-7.
22. Jensen A, Garnier Y, Berger R. Dynamics of fetal circulatory responses to hypoxia and asphyxia. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* juin 1999;84(2):155-72.
23. Yu Z-Y, Lumbers ER. Effects of birth on baroreceptor-mediated changes in heart rate variability in lambs and fetal sheep. *Clin Exp Pharmacol Physiol.* juin 2002;29(5-6):455-63.
24. Uzan S, Berkane N, Verstraete L, Mathieu E, Bréart G. [Acid base balance in the fetus during labor: pathophysiology and exploration methods]. *J Gynécologie Obstétrique Biol Reprod.* févr 2003;32(1 Suppl):1S68-78.

25. Benarroch EE. Pain-autonomic interactions. *Neurol Sci Off J Ital Neurol Soc Ital Soc Clin Neurophysiol.* mai 2006;27 Suppl 2:S130-133.
26. Oberlander TF, Grunau RE, Pitfield S, Whitfield MF, Saul JP. The developmental character of cardiac autonomic responses to an acute noxious event in 4- and 8-month-old healthy infants. *Pediatr Res.* avr 1999;45(4 Pt 1):519- 25.
27. Singh D, Vinod K, Saxena SC. Sampling frequency of the RR interval time series for spectral analysis of heart rate variability. *J Med Eng Technol.* déc 2004;28(6):263- 72.
28. van Ravenswaaij-Arts CM, Kollée LA, Hopman JC, Stoelinga GB, van Geijn HP. Heart rate variability. *Ann Intern Med.* 15 mars 1993;118(6):436- 47.
29. Cesarelli M, Romano M, Bifulco P. Comparison of short term variability indexes in cardiotocographic foetal monitoring. *Comput Biol Med.* févr 2009;39(2):106- 18.
30. Serra V, Moulden M, Bellver J, Redman CWG. The value of the short-term fetal heart rate variation for timing the delivery of growth-retarded fetuses. *BJOG Int J Obstet Gynaecol.* août 2008;115(9):1101- 7.
31. van Ravenswaaij-Arts CMA, Kollee LAA, Hopman JCW, Stoelinga GBA, van Geijn HP. Heart Rate Variability. *Ann Intern Med.* 15 mars 1993;118(6):436- 47.
32. Verklan MT, Padhye NS. Spectral analysis of heart rate variability: an emerging tool for assessing stability during transition to extrauterine life. *J Obstet Gynecol Neonatal Nurs JOGNN NAACOG.* avr 2004;33(2):256- 65.
33. Oppenheimer LW, Lewinsky RM. Power spectral analysis of fetal heart rate. *Baillières Clin Obstet Gynaecol.* sept 1994;8(3):643- 61.
34. Van Laar JOEH, Porath MM, Peters CHL, Oei SG. Spectral analysis of fetal heart rate variability for fetal surveillance: review of the literature. *Acta Obstet Gynecol Scand.* 2008;87(3):300- 6.
35. De Jonckheere J, Rakza T, Logier R, Jeanne M, Jounwaz R, Storme L. Heart rate variability analysis for newborn infants prolonged pain assessment. *Conf Proc Annu Int Conf IEEE Eng Med Biol Soc IEEE Eng Med Biol Soc Annu Conf.* 2011;2011:7747- 50.
36. De Jonckheere J, Logier R, Dassonneville A, Delmar G, Vasseur C. PhysioTrace: An efficient toolkit for biomedical signal processing. *Conf Proc Annu Int Conf IEEE Eng Med Biol Soc IEEE Eng Med Biol Soc Annu Conf.* 2005;7:6739- 41.
37. Butruille L, De Jonckheere J, Flocteil M, Garabedian C, Houfflin-Debarge V, Storme L, et al. Parasympathetic tone variations according to umbilical cord pH at birth: a computerized fetal heart rate variability analysis. *J Clin Monit Comput.* 15 nov 2016;
38. Frasch MG, Mansano RZ, Gagnon R, Richardson BS, Ross MG. Measures of acidosis with repetitive umbilical cord occlusions leading to fetal asphyxia in the near-term ovine fetus. *Am J Obstet Gynecol.* févr 2009;200(2):200.e1-200.e7.

39. Prout AP, Frasc MG, Veldhuizen RAW, Hammond R, Ross MG, Richardson BS. Systemic and cerebral inflammatory response to umbilical cord occlusions with worsening acidosis in the ovine fetus. *Am J Obstet Gynecol.* janv 2010;202(1):82.e1-82.e9.
40. Westgate JA, Bennet L, Gunn AJ. Fetal heart rate variability changes during brief repeated umbilical cord occlusion in near term fetal sheep. *Br J Obstet Gynaecol.* juill 1999;106(7):664-71.
41. Jeanne M, Clément C, De Jonckheere J, Logier R, Tavernier B. Variations of the analgesia nociception index during general anaesthesia for laparoscopic abdominal surgery. *J Clin Monit Comput.* août 2012;26(4):289-94.
42. Avez-Couturier J, De Jonckheere J, Jeanne M, Vallée L, Cuisset J-M, Logier R. Assessment of Procedural Pain in Children Using Analgesia Nociception Index: A Pilot Study. *Clin J Pain.* déc 2016;32(12):1100-4.
43. De jonckheere J, Delecroix M, Jeanne M, Keribedj A, Couturier N, Logier R. Automated analgesic drugs delivery guided by vagal tone evaluation: interest of the Analgesia Nociception Index (ANI). *Annu Int Conf IEEE Eng Med Biol Soc IEEE Eng Med Biol Soc Annu Int Conf.* 2013;2013:1952-5.
44. Logier R, Jeanne M, De Jonckheere J, Dassonneville A, Delecroix M, Tavernier B. PhysioDoloris: a monitoring device for analgesia / nociception balance evaluation using heart rate variability analysis. *Annu Int Conf IEEE Eng Med Biol Soc IEEE Eng Med Biol Soc Annu Int Conf.* 2010;2010:1194-7.
45. Garabedian C, Aubry E, Sharma D, Bleu G, Clermont-Hama Y, Ghesquière L, et al. Exploring fetal response to acidosis in ewes: Choosing an adequate experimental model. *J Gynecol Obstet Hum Reprod.* 2018 Oct;47(8):397-403.
46. Martí Gamboa S, Pascual Mancho J, Lapresta Moros M, Rodríguez Lázaro L, de Bonrostro Torralba C, Castán Mateo S. Atypical decelerations: do they matter? *J Matern-Fetal Neonatal Med Off J Eur Assoc Perinat Med Fed Asia Ocean Perinat Soc Int Soc Perinat Obstet.* janv 2017;30(2):240-4.
47. Sholapurkar SL. Critical Imperative for the Reform of British Interpretation of Fetal Heart Rate Decelerations: Analysis of FIGO and NICE Guidelines, Post-Truth Foundations, Cognitive Fallacies, Myths and Occam's Razor. *J Clin Med Res.* avr 2017;9(4):253-65.
48. Cahill AG, Tuuli MG, Stout MJ, López JD, Macones GA. A prospective cohort study of fetal heart rate monitoring: deceleration area is predictive of fetal acidemia. *Am J Obstet Gynecol.* 1 mai 2018;218(5):523.e1-523.e12.
49. Apprentissage automatique. In: Wikipédia [Internet]. 2021 [cité 24 août 2021]. Disponible sur: https://fr.wikipedia.org/w/index.php?title=Apprentissage_automatique&oldid=183690102
50. Dick S. Artificial Intelligence. *Harv Data Sci Rev.* 1 juill 2019. Disponible sur: <https://hdsr.mitpress.mit.edu/pub/0aytgrau/release/2>

51. Quelle différence entre Machine Learning et Deep Learning ? [Internet]. Formation Data Science | DataScientest.com. 2020 [cité 24 août 2021]. Disponible sur: <https://datascientest.com/quelle-difference-entre-le-machine-learning-et-deep-learning>
52. Beam AL, Kohane IS. Big Data and Machine Learning in Health Care. *JAMA*. 3 avr 2018;319(13):1317-8.
53. Ravi D, Wong C, Deligianni F, Berthelot M, Andreu-Perez J, Lo B, et al. Deep Learning for Health Informatics. *IEEE J Biomed Health Inform*. janv 2017;21(1):4-21.
54. Johnson KW, Torres Soto J, Glicksberg BS, Shameer K, Miotto R, Ali M, et al. Artificial Intelligence in Cardiology. *J Am Coll Cardiol*. 12 juin 2018;71(23):2668-79.
55. Rodriguez-Ruiz A, Lång K, Gubern-Merida A, Broeders M, Gennaro G, Clauser P, et al. Stand-Alone Artificial Intelligence for Breast Cancer Detection in Mammography: Comparison With 101 Radiologists. *J Natl Cancer Inst*. 1 sept 2019;111(9):916-22.
56. Balayla J, Shrem G. Use of artificial intelligence (AI) in the interpretation of intrapartum fetal heart rate (FHR) tracings: a systematic review and meta-analysis. *Arch Gynecol Obstet*. juill 2019;300(1):7-14.
57. Robertson L, Knight H, Prosser Snelling E, Petch E, Knight M, Cameron A, et al. Each baby counts: National quality improvement programme to reduce intrapartum-related deaths and brain injuries in term babies. *Semin Fetal Neonatal Med*. juin 2017;22(3):193-8.
58. Alfievic Z, Devane D, Gyte GML. Continuous cardiotocography (CTG) as a form of electronic fetal monitoring (EFM) for fetal assessment during labour. *Cochrane Database Syst Rev*. 2013;5:CD006066.
59. Ayres-de-Campos D, Spong CY, Chandrachan E, FIGO Intrapartum Fetal Monitoring Expert Consensus Panel. FIGO consensus guidelines on intrapartum fetal monitoring: Cardiotocography. *Int J Gynaecol Obstet Off Organ Int Fed Gynaecol Obstet*. oct 2015;131(1):13-24.
60. Everett TR, Peebles DM. Antenatal tests of fetal wellbeing. *Semin Fetal Neonatal Med*. juin 2015;20(3):138-43.
61. Bernardes J, Costa-Pereira A, Ayres-de-Campos D, van Geijn HP, Pereira-Leite L. Evaluation of interobserver agreement of cardiotocograms. *Int J Gynaecol Obstet Off Organ Int Fed Gynaecol Obstet*. avr 1997;57(1):33-7.
62. Ayres-de-Campos D, Costa-Santos C, Bernardes J, SisPorto Multicentre Validation Study Group. Prediction of neonatal state by computer analysis of fetal heart rate tracings: the antepartum arm of the SisPorto multicentre validation study. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*. 10 janv 2005;118(1):52-60.
63. Devoe L, Golde S, Kilman Y, Morton D, Shea K, Waller J. A comparison of visual analyses of intrapartum fetal heart rate tracings according to the new national institute of

- child health and human development guidelines with computer analyses by an automated fetal heart rate monitoring system. *Am J Obstet Gynecol.* août 2000;183(2):361-6.
64. Reduce labour errors and poor birth outcome | K2 INFANT-Guardian® [Internet]. [cité 24 août 2021]. Disponible sur: <https://www.k2ms.com/infant-guardian/infant-guardian.aspx>
 65. Steer PJ, Kovar I, McKenzie C, Griffin M, Linsell L. Computerised analysis of intrapartum fetal heart rate patterns and adverse outcomes in the INFANT trial. *BJOG Int J Obstet Gynaecol.* oct 2019;126(11):1354-61.
 66. Ayres-de-Campos D, Rei M, Nunes I, Sousa P, Bernardes J. SisPorto 4.0 – computer analysis following the 2015 FIGO Guidelines for intrapartum fetal monitoring. *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2017 Jan;30(1):62-67
 67. Nunes I, Ayres-de-Campos D, Ugwumadu A, Amin P, Banfield P, Nicoll A, et al. Central Fetal Monitoring With and Without Computer Analysis: A Randomized Controlled Trial. *Obstet Gynecol.* janv 2017;129(1):83-90.
 68. Lopes-Pereira J, Costa A, Ayres-De-Campos D, Costa-Santos C, Amaral J, Bernardes J. Computerized analysis of cardiotocograms and ST signals is associated with significant reductions in hypoxic-ischemic encephalopathy and cesarean delivery: an observational study in 38,466 deliveries. *Am J Obstet Gynecol.* 1 mars 2019;220(3):269.e1-269.e8.
 69. Sauerbrei W, Schumacher M. A bootstrap resampling procedure for model building: Application to the cox regression model. *Stat Med.* 1992;11(16):2093-109.
 70. Chen C-Y, Yu C, Chang C-C, Lin C-W. Comparison of a novel computerized analysis program and visual interpretation of cardiotocography. *PloS One.* 2014;9(12):e112296.
 71. Cömert Z, Şengür A, Budak Ü, Kocamaz AF. Prediction of intrapartum fetal hypoxia considering feature selection algorithms and machine learning models. *Health Inf Sci Syst.* déc 2019;7(1):17.
 72. Hoodbhoy Z, Noman M, Shafique A, Nasim A, Chowdhury D, Hasan B. Use of machine learning algorithms for prediction of fetal risk using cardiotocographic data. *Int J Appl Basic Med Res.* 2019;9(4):226.
 73. Chudáček V, Spilka J, Burša M, Janků P, Hruban L, Huptych M, et al. Open access intrapartum CTG database. *BMC Pregnancy Childbirth.* 13 janv 2014;14:16.
 74. Zhao Z, Deng Y, Zhang Y, Zhang Y, Zhang X, Shao L. DeepFHR: intelligent prediction of fetal Acidemia using fetal heart rate signals based on convolutional neural network. *BMC Med Inform Decis Mak.* 30 déc 2019;19(1):286.
 75. Ayres-de Campos D, Bernardes J, Garrido A, Marques-de-Sá J, Pereira-Leite L. SisPorto 2.0: a program for automated analysis of cardiotocograms. *J Matern Fetal Med.* oct 2000;9(5):311-8.

76. Lear CA, Westgate JA, Kasai M, Beacom MJ, Maeda Y, Magawa S, et al. Parasympathetic activity is the key regulator of heart rate variability between decelerations during brief repeated umbilical cord occlusions in fetal sheep. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*. 1 nov 2020;319(5):R541-50.
77. Ghesquière L, De Jonckheere J, Drumez E, Sharma D, Aubry E, Deruelle P, et al. Parasympathetic nervous system response to acidosis: Evaluation in an experimental fetal sheep model. *Acta Obstet Gynecol Scand*. 2019;98(4):433-9.
78. Ghesquière L, De Jonckheere J, Storme L, Garabedian C. Measurement of fetal parasympathetic activity during labor: a new pathway for evaluation of fetal well-being? *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*. 1 avr 2021;320(4):R467-8.
79. Ugwumadu A. Are we (mis)guided by current guidelines on intrapartum fetal heart rate monitoring? Case for a more physiological approach to interpretation. *BJOG Int J Obstet Gynaecol*. août 2014;121(9):1063-70.
80. Pinas A, Chandrachan E. Continuous cardiotocography during labour: Analysis, classification and management. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol*. janv 2016;30:33-47.
81. Garabedian C, De Jonckheere J, Butruille L, Deruelle P, Storme L, Houfflin-Debarge V. Understanding fetal physiology and second line monitoring during labor. *J Gynecol Obstet Hum Reprod*. févr 2017;46(2):113-7.
82. Turner JM, Mitchell MD, Kumar SS. The physiology of intrapartum fetal compromise at term. *Am J Obstet Gynecol*. juill 2019;S0002937819309378.
83. Lear CA, Galinsky R, Wassink G, Yamaguchi K, Davidson JO, Westgate JA, et al. The myths and physiology surrounding intrapartum decelerations: the critical role of the peripheral chemoreflex. *J Physiol*. 1 sept 2016;594(17):4711-25.
84. Lear CA, Galinsky R, Wassink G, Mitchell CJ, Davidson JO, Westgate JA, et al. Sympathetic neural activation does not mediate heart rate variability during repeated brief umbilical cord occlusions in near-term fetal sheep. *J Physiol*. 1 mars 2016;594(5):1265-77.
85. Ruth VJ, Raivio KO. Perinatal brain damage: predictive value of metabolic acidosis and the Apgar score. *BMJ*. 2 juill 1988;297(6640):24-7.
86. Gold N, Frasch MG. Fetal cerebral perfusion is better than fetal acidemia for the prediction of brain injury and might be assessable by sophisticated fetal heart rate metrics. *BJOG Int J Obstet Gynaecol*. 5 mars 2021;
87. Hafström M, Ehnberg S, Blad S, Norén H, Renman C, Rosén KG, et al. Developmental Outcome at 6.5 Years After Acidosis in Term Newborns: A Population-Based Study. *Pediatrics*. 1 juin 2012;129(6):e1501-7.

88. De Raedt S, De Vos A, De Keyser J. Autonomic dysfunction in acute ischemic stroke: an underexplored therapeutic area? *J Neurol Sci.* 15 janv 2015;348(1-2):24- 34.
89. Yperzeele L, van Hooff R-J, Nagels G, De Smedt A, De Keyser J, Brouns R. Heart Rate Variability and Baroreceptor Sensitivity in Acute Stroke: A Systematic Review. *Int J Stroke.* 1 août 2015;10(6):796-800.
90. Block L, El-Merhi A, Liljencrantz J, Naredi S, Staron M, Odenstedt Hergès H. Cerebral ischemia detection using artificial intelligence (CIDAI)—A study protocol. *Acta Anaesthesiol Scand.* 2 juill 2020;aas.13657.
91. Belfort MA, Saade GR, Thom E, Blackwell SC, Reddy UM, Thorp JM, et al. A Randomized Trial of Intrapartum Fetal ECG ST-Segment Analysis. *N Engl J Med.* 13 août 2015;373(7):632-41.
92. Chandrachan E. Fetal scalp blood sampling during labour: is it a useful diagnostic test or a historical test that no longer has a place in modern clinical obstetrics? *BJOG Int J Obstet Gynaecol.* août 2014;121(9):1056- 60; discussion 1060-1062.
93. Graham EM, Adami RR, McKenney SL, Jennings JM, Burd I, Witter FR. Diagnostic accuracy of fetal heart rate monitoring in the identification of neonatal encephalopathy. *Obstet Gynecol.* sept 2014;124(3):507- 13.
94. Peeples ES, Rao R, Dizon MLV, Johnson YR, Joe P, Flibotte J, et al. Predictive Models of Neurodevelopmental Outcomes After Neonatal Hypoxic-Ischemic Encephalopathy. *Pediatrics.* févr 2021;147(2):e2020022962.
95. Tokuhisa T, Ibara S, Minakami H, Maede Y, Ishihara C, Matsui T. Outcome of infants with hypoxic ischemic encephalopathy treated with brain hypothermia. *J Obstet Gynaecol Res.* févr 2015;41(2):229- 37.
96. Bersani I, Piersigilli F, Gazzolo D, Campi F, Savarese I, Dotta A, et al. Heart rate variability as possible marker of brain damage in neonates with hypoxic ischemic encephalopathy: a systematic review. *Eur J Pediatr.* 2021 May;180(5):1335-1345
97. Sarnat HB, Sarnat MS. Neonatal Encephalopathy Following Fetal Distress: A Clinical and Electroencephalographic Study. *Arch Neurol.* 1 oct 1976;33(10):696- 705.
98. Syutkina EV. Effect of Autonomic Nervous System Blockade and Acute Asphyxia on Heart Rate Variability in the Fetal Rat. *Gynecol Obstet Invest.* 1988;25(4):249- 57.
99. Richardson BS, Rurak D, Patrick JE, Homan J, Carmichael L. Cerebral oxidative metabolism during sustained hypoxaemia in fetal sheep. *J Dev Physiol.* janv 1989;11(1):37-43.
100. Richardson BS, Carmichael L, Homan J, Johnston L, Gagnon R. Fetal cerebral, circulatory, and metabolic responses during heart rate decelerations with umbilical cord compression. *Am J Obstet Gynecol.* oct 1996;175(4 Pt 1):929- 36.

101. Drury PP, Gunn ER, Bennet L, Gunn AJ. Mechanisms of hypothermic neuroprotection. *Clin Perinatol.* mars 2014;41(1):161-75.
102. Wassink G, Gunn ER, Drury PP, Bennet L, Gunn AJ. The mechanisms and treatment of asphyxial encephalopathy. *Front Neurosci.* 2014;8:40.
103. Prout AP, Frasch MG, Veldhuizen RAW, Hammond R, Ross MG, Richardson BS. Systemic and cerebral inflammatory response to umbilical cord occlusions with worsening acidosis in the ovine fetus. *Am J Obstet Gynecol.* janv 2010;202(1):82.e1-9.
104. Mena H, Cadavid D, Rushing EJ. Human cerebral infarct: a proposed histopathologic classification based on 137 cases. *Acta Neuropathol (Berl).* déc 2004;108(6):524-30.
105. Garcia JH, Yoshida Y, Chen H, Li Y, Zhang ZG, Lian J, et al. Progression from ischemic injury to infarct following middle cerebral artery occlusion in the rat. *Am J Pathol.* févr 1993;142(2):623-35.
106. Garcia JH, Kamijyo Y. Cerebral infarction. Evolution of histopathological changes after occlusion of a middle cerebral artery in primates. *J Neuropathol Exp Neurol.* juill 1974;33(3):408-21.
107. Chuaqui R, Tapia J. Histologic assessment of the age of recent brain infarcts in man. *J Neuropathol Exp Neurol.* sept 1993;52(5):481-9.
108. Kelly R, Ramaiah SM, Sheridan H, Cruickshank H, Rudnicka M, Kissack C, et al. Dose-dependent relationship between acidosis at birth and likelihood of death or cerebral palsy. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed.* nov 2018;103(6):F567-72.
109. Clark SL, Hamilton EF, Garite TJ, Timmins A, Warrick PA, Smith S. The limits of electronic fetal heart rate monitoring in the prevention of neonatal metabolic acidemia. *Am J Obstet Gynecol.* févr 2017;216(2):163.e1-163.e6.
110. Georgieva A, Lear CA, Westgate JA, Kasai M, Miyagi E, Ikeda T, et al. Deceleration area and capacity during labour-like umbilical cord occlusions identify evolving hypotension: a controlled study in fetal sheep. *BJOG.* 2021 Aug;128(9):1433-1442.
111. Lear CA, Kasai M, Drury PP, Davidson JO, Miyagi E, Bennet L, et al. Plasma vasopressin levels are closely associated with fetal hypotension and neuronal injury after hypoxia-ischemia in near-term fetal sheep. *Pediatr Res.* déc 2020;88(6):857-64.
112. Gunn AJ, Maxwell L, De Haan HH, Bennet L, Williams CE, Gluckman PD, et al. Delayed hypotension and subendocardial injury after repeated umbilical cord occlusion in near-term fetal lambs. *Am J Obstet Gynecol.* déc 2000;183(6):1564-72.
113. George S, Gunn AJ, Westgate JA, Brabyn C, Guan J, Bennet L. Fetal heart rate variability and brain stem injury after asphyxia in preterm fetal sheep. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.* oct 2004;287(4):R925-933.
114. Evans MI, Eden RD, Britt DW, Evans SM, Schiffrin BS. Re-engineering the interpretation of electronic fetal monitoring to identify reversible risk for cerebral palsy: a

- case control series. *J Matern-Fetal Neonatal Med Off J Eur Assoc Perinat Med Fed Asia Ocean Perinat Soc Int Soc Perinat Obstet.* août 2019;32(15):2561-9.
115. Yamaguchi K, Lear CA, Beacom MJ, Ikeda T, Gunn AJ, Bennet L. Evolving changes in fetal heart rate variability and brain injury after hypoxia-ischaemia in preterm fetal sheep. *J Physiol.* 8 janv 2018;
 116. Georgieva A, Abry P, Chudáček V, Djurić PM, Frasch MG, Kok R, et al. Computer-based intrapartum fetal monitoring and beyond: A review of the 2nd Workshop on Signal Processing and Monitoring in Labor (October 2017, Oxford, UK). *Acta Obstet Gynecol Scand.* sept 2019;98(9):1207-17.
 117. Koehler RC, Yang Z-J, Lee JK, Martin LJ. Perinatal hypoxic-ischemic brain injury in large animal models: Relevance to human neonatal encephalopathy. *J Cereb Blood Flow Metab.* déc 2018;38(12):2092-111.
 118. Morrison JL, Berry MJ, Botting KJ, Darby JRT, Frasch MG, Gatford KL, et al. Improving pregnancy outcomes in humans through studies in sheep. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.* 1 déc 2018;315(6):R1123-53.
 119. Bennet L, Westgate JA, Liu Y-CJ, Wassink G, Gunn AJ. Fetal acidosis and hypotension during repeated umbilical cord occlusions are associated with enhanced chemoreflex responses in near-term fetal sheep. *J Appl Physiol Bethesda Md* 1985. oct 2005;99(4):1477-82.
 120. Lear CA, Galinsky R, Wassink G, Yamaguchi K, Davidson JO, Westgate JA, et al. The myths and physiology surrounding intrapartum decelerations: the critical role of the peripheral chemoreflex. *J Physiol.* 1 sept 2016;594(17):4711-25.
 121. Dawes GS, Fox HE, Leduc BM, Liggins GC, Richards RT. Respiratory movements and rapid eye movement sleep in the foetal lamb. *J Physiol.* janv 1972;220(1):119-43.
 122. Frasch MG, Durosier LD, Gold N, Cao M, Matuszewski B, Keenlside L, et al. Adaptive shut-down of EEG activity predicts critical acidemia in the near-term ovine fetus. *Physiol Rep.* juill 2015;3(7).
 123. Lacan L, Hamoud Y, Nguyen S, De Jonckheere J, Storme L, Houfflin-Debarge V, et al. Fetal sheep cerebral electrical activity: A new technique to record EEG. *J Neurosci Methods.* 1 nov 2020;345:108888.
 124. Back SA, Riddle A, Dean J, Hohimer AR. The instrumented fetal sheep as a model of cerebral white matter injury in the premature infant. *Neurother J Am Soc Exp Neurother.* avr 2012;9(2):359-70.
 125. Mann LI, Prichard JW, Symmes D. EEG, ECG, and acid-base observations during acute fetal hypoxia. *Am J Obstet Gynecol.* 1 janv 1970;106(1):39-51.
 126. Ruckebusch Y. Development of sleep and wakefulness in the foetal lamb. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol.* févr 1972;32(2):119-28.

127. Clewlow F, Dawes GS, Johnston BM, Walker DW. Changes in breathing, electrocortical and muscle activity in unanaesthetized fetal lambs with age. *J Physiol.* août 1983;341:463-76.
128. Bernhard CG, Kolmodin GM, Meyerson BA. On the prenatal development of function and structure in the somesthetic cortex of the sheep. *Prog Brain Res.* 1967;26:60-77.
129. Ioffe S, Jansen AH, Russell BJ, Chernick V. Sleep, wakefulness and the monosynaptic reflex in fetal and newborn lambs. *Pflugers Arch.* nov 1980;388(2):149-57.
130. Jost RG, Quilligan EJ, Yeh SY, Anderson GG. Intrauterine electroencephalogram of the sheep fetus. *Am J Obstet Gynecol.* 15 oct 1972;114(4):535-9.
131. Rao N, Keen A, Czikk M, Frasch M, Richardson BS. Behavioural state linkage in the ovine fetus near term. *Brain Res.* 23 janv 2009;1250:149-56.
132. Lee SJ, Hatran DP, Tomimatsu T, Peña JP, McAuley G, Longo LD. Fetal cerebral blood flow, electrocorticographic activity, and oxygenation: responses to acute hypoxia. *J Physiol.* 1 mai 2009;587(Pt 9):2033-47.
133. Frasch MG, Keen AE, Gagnon R, Ross MG, Richardson BS. Monitoring fetal electrocortical activity during labour for predicting worsening acidemia: a prospective study in the ovine fetus near term. *PloS One.* 2011;6(7):e22100.
134. Keen AE, Frasch MG, Sheehan MA, Matuszewski BJ, Richardson BS. Electrocortical activity in the near-term ovine fetus: automated analysis using amplitude frequency components. *Brain Res.* 21 juill 2011;1402:30-7.
135. Azzopardi D, TOBY study group. Predictive value of the amplitude integrated EEG in infants with hypoxic ischaemic encephalopathy: data from a randomised trial of therapeutic hypothermia. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed.* janv 2014;99(1):F80-82.
136. Antonucci R, Porcella A, Pilloni MD. Perinatal asphyxia in the term newborn. In 2014.
137. Beharier O, Kahn J, Shusterman E, Sheiner E. S100B - a potential biomarker for early detection of neonatal brain damage following asphyxia. *J Matern-Fetal Neonatal Med Off J Eur Assoc Perinat Med Fed Asia Ocean Perinat Soc Int Soc Perinat Obstet.* sept 2012;25(9):1523-8.
138. Sweetman D, Armstrong K, Murphy JFA, Molloy EJ. Cardiac biomarkers in neonatal hypoxic ischaemia. *Acta Paediatr Oslo Nor* 1992. avr 2012;101(4):338-43.
139. Satriano A, Pluchinotta F, Gazzolo F, Serpero L, Gazzolo D. The potentials and limitations of neuro-biomarkers as predictors of outcome in neonates with birth asphyxia. *Early Hum Dev.* févr 2017;105:63-7.

140. Gazzolo D, Pluchinotta F, Lapergola G, Franchini S. The Ca²⁺-Binding S100B Protein: An Important Diagnostic and Prognostic Neurobiomarker in Pediatric Laboratory Medicine. *Methods Mol Biol Clifton NJ*. 2019;1929:701-28.
141. Zaigham M, Lundberg F, Olofsson P. Protein S100B in umbilical cord blood as a potential biomarker of hypoxic-ischemic encephalopathy in asphyxiated newborns. *Early Hum Dev*. 2017;112:48-53.
142. Garnier Y, Frigiola A, Li Volti G, Florio P, Frulio R, Berger R, et al. Increased maternal/fetal blood S100B levels following systemic endotoxin administration and periventricular white matter injury in preterm fetal sheep. *Reprod Sci Thousand Oaks Calif*. août 2009;16(8):758-66.
143. Yildirim A, Ozgen F, Ucar B, Alatas O, Tekin N, Kilic Z. The Diagnostic Value of Troponin T Level in the Determination of Cardiac Damage in Perinatal Asphyxia Newborns. *Fetal Pediatr Pathol*. 2016;35(1):29-36.
144. Jones R, Heep A, Odd D. Biochemical and clinical predictors of hypoxic-ischemic encephalopathy after perinatal asphyxia. *J Matern-Fetal Neonatal Med Off J Eur Assoc Perinat Med Fed Asia Ocean Perinat Soc Int Soc Perinat Obstet*. mars 2018;31(6):791-6.
145. Costa S, Zecca E, De Rosa G, De Luca D, Barbato G, Pardeo M, et al. Is serum troponin T a useful marker of myocardial damage in newborn infants with perinatal asphyxia? *Acta Paediatr Oslo Nor* 1992. févr 2007;96(2):181-4.
146. Debillon T, Bednarek N, Ego A, LyTONEPAL Writing Group. LyTONEPAL: long term outcome of neonatal hypoxic encephalopathy in the era of neuroprotective treatment with hypothermia: a French population-based cohort. *BMC Pediatr*. 1 août 2018;18(1):255.
147. Lv H, Wang Q, Wu S, Yang L, Ren P, Yang Y, et al. Neonatal hypoxic ischemic encephalopathy-related biomarkers in serum and cerebrospinal fluid. *Clin Chim Acta Int J Clin Chem*. 23 oct 2015;450:282-97.
148. Giussani DA, Thakor AS, Frulio R, Gazzolo D. Acute Hypoxia Increases S100 β Protein in Association with Blood Flow Redistribution away from Peripheral Circulations in Fetal Sheep. *Pediatr Res*. août 2005;58(2):179-84.
149. Mallard C, Ek CJ, Vexler ZS. The myth of the immature barrier systems in the developing brain: role in perinatal brain injury. *J Physiol*. déc 2018;596(23):5655-64.
150. Giussani DA. The fetal brain sparing response to hypoxia: physiological mechanisms. *J Physiol*. 1 mars 2016;594(5):1215-30.
151. Polglase GR, Ong T, Hillman NH. Cardiovascular Alterations and Multiorgan Dysfunction After Birth Asphyxia. *Clin Perinatol*. sept 2016;43(3):469-83.

152. Badurdeen S, Roberts C, Blank D, Miller S, Stojanovska V, Davis P, et al. Haemodynamic Instability and Brain Injury in Neonates Exposed to Hypoxia-Ischaemia. *Brain Sci.* 27 févr 2019;9(3):E49.
153. Frasch MG, Durosier LD, Gold N, Cao M, Matuszewski B, Keenlside L, et al. Adaptive shut-down of EEG activity predicts critical acidemia in the near-term ovine fetus. *Physiol Rep.* juill 2015;3(7).
154. Goulding RM, Stevenson NJ, Murray DM, Livingstone V, Filan PM, Boylan GB. Heart rate variability in hypoxic ischemic encephalopathy: correlation with EEG grade and 2-y neurodevelopmental outcome. *Pediatr Res.* mai 2015;77(5):681-7.
155. Keogh MJ, Drury PP, Bennet L, Davidson JO, Mathai S, Gunn ER, et al. Limited predictive value of early changes in EEG spectral power for neural injury after asphyxia in preterm fetal sheep. *Pediatr Res.* avr 2012;71(4 Pt 1):345-53.
156. Nelson KB, Penn AA. Is infection a factor in neonatal encephalopathy? *Arch Dis Child - Fetal Neonatal Ed.* janv 2015;100(1):F8-10.
157. Jung E, Romero R, Yeo L, Diaz-Primera R, Marin-Concha J, Para R, et al. The fetal inflammatory response syndrome: the origins of a concept, pathophysiology, diagnosis, and obstetrical implications. *Semin Fetal Neonatal Med.* août 2020;25(4):101146.
158. Pavlov VA, Tracey KJ. The cholinergic anti-inflammatory pathway. *Brain Behav Immun.* nov 2005;19(6):493-9.
159. Griffin MP, Lake DE, Bissonette EA, Harrell FE, O'Shea TM, Moorman JR. Heart rate characteristics: novel physiomarkers to predict neonatal infection and death. *Pediatrics.* nov 2005;116(5):1070-4.
160. Fairchild KD, O'Shea TM. Heart rate characteristics: physiomarkers for detection of late-onset neonatal sepsis. *Clin Perinatol.* sept 2010;37(3):581-98.
161. Kendall G, Peebles D. Acute fetal hypoxia: the modulating effect of infection. *Early Hum Dev.* janv 2005;81(1):27-34.
162. Gatellier M-A, De Jonckheere J, Storme L, Houfflin-Debarge V, Ghesquiere L, Garabedian C. Fetal heart rate variability analysis for neonatal acidosis prediction. *J Clin Monit Comput.* août 2021;35(4):771-7.
163. van Laar JOEH, Warmerdam GJJ, Verdurmen KMJ, Vullings R, Peters CHL, Houterman S, et al. Fetal heart rate variability during pregnancy, obtained from non-invasive electrocardiogram recordings. *Acta Obstet Gynecol Scand.* janv 2014;93(1):93-101.

Publications

Articles originaux en premier ou dernier auteur :

- Ghesquière L, De Jonckheere J, Drumez E, Sharma D, Aubry E, Deruelle P, et al. Parasympathetic nervous system response to acidosis: Evaluation in an experimental fetal sheep model. *Acta Obstet Gynecol Scand*. 2019;98(4):433-9.
- Hamoud Y, Pekar JD, Drumez E, Lacan L, Maboudou P, De Jonckheere J, et al. Changes in S100B and troponin levels in a fetal sheep model of worsening acidosis. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*. 29 juin 2021;264:173-7.
- Lacan L, Hamoud Y, Nguyen S, De Jonckheere J, Storme L, Houfflin-Debarge V, et al. Fetal sheep cerebral electrical activity: A new technique to record EEG. *J Neurosci Methods*. 1 nov 2020;345:108888.

Lettre à l'éditeur :

- Ghesquière L, De Jonckheere J, Storme L, Garabedian C. Measurement of fetal parasympathetic activity during labor: a new pathway for evaluation of fetal well-being? *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*. 1 avr 2021;320(4):R467-8.

En cours de soumission :

- Ghesquière L, Perbet R, Lacan L, Hamoud Y, Stichelbout M, Sharma D, Nguyen S, Storme L, Houfflin-Debarge V, De Jonckheere J, Garabedian C. Associations between fetal heart rate variability and umbilical cord occlusions-induced neural injury: An experimental study in a fetal sheep model. (*Scientific reports*).
- Ghesquière L, Ternynck C, De Jonckheere J, Sharma D, Hamoud Y, Vanspranghels R, Houfflin-Debarge V, Storme L, Garabedian C. Analysis of fetal heart rate variability using machine learning as a predictive tool for fetal hypoxia. Experimental study in the fetus of sheep. (*Acta Obstet Gynecol Scand*).