



UNIVERSITE DE LILLE
ECOLE DOCTORALE BIOLOGIE SANTE DE LILLE

Année : 2024

THESE D'UNIVERSITE

**Analyse de la variabilité de la fréquence cardiaque en cas de syndrome de réponse
inflammatoire fœtale aigu isolé ou associé à une hypoxie**

Étude expérimentale chez le fœtus de brebis.

Présentée et soutenue publiquement le 20 décembre 2024 par

Geoffroy Chevalier

Thèse codirigée par Monsieur le Professeur Charles Garabedian et Madame le Docteur
Louise Ghesquière

Travail de recherche réalisé au sein de l'ULR 2694 METRICS - Evaluation des
technologies de santé et des pratiques médicales

JURY

Président de Jury : *Monsieur le Professeur Gilles Kayem*

Rapporteurs : *Madame le Professeur Camille Le Ray*
Monsieur le Professeur Christophe Vayssière

Jury : *Madame le Professeur Véronique Houfflin-Debargue*
Monsieur le Professeur Charles Garabedian
Madame le Docteur Louise Ghesquière

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 et ta disponibilité. Merci de m'avoir encadré et fait confiance, après ma thèse de médecine, pour cette thèse d'université. Merci pour toute l'expérience que tu m'as transmise pendant ce travail de recherche. Les moments de réflexion et de partage sur ce sujet ont été très enrichissants. J'ai beaucoup appris à tes côtés.

A ma directrice de thèse

Madame le Docteur Louise Ghesquière
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 pour tout ce que tu m'as apporté comme chef de clinique au diagnostic anténatal puis pendant ces travaux de recherche. C'est un réel plaisir de travailler avec toi. Merci pour ton investissement, ta disponibilité et tes conseils pendant mon master puis ma thèse d'université.

Au président de jury

Monsieur le Professeur Gilles Kayem
Professeur de Gynécologie-Obstétrique de l'Université de la Sorbonne
Hôpital Armand-Trousseau, Paris, France

Je vous remercie d'avoir accepté d'évaluer ce travail et pour les remarques constructives que vous avez partagées. Veuillez recevoir l'expression de mon profond respect.

Aux rapporteurs

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

Je vous remercie sincèrement d'avoir accepté d'évaluer ce travail, pour le temps que vous y avez consacré et pour l'attention que vous lui avez portée. Veuillez recevoir l'expression de mon profond respect.

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

Je vous remercie d'avoir accepté d'évaluer ce travail et pour l'intérêt que vous lui avez porté en tant qu'expert du rythme cardiaque fœtal. Recevez ce travail comme l'expression de mon profond respect.

Aux 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 et mon clinicat. Merci de m'avoir accompagné dans ma première publication. Merci pour votre bienveillance et votre douceur dans le quotidien. C'est avec plaisir que je fais maintenant partie de votre équipe.

Monsieur le Docteur Julien de Jonckheere
Docteur en traitement du signal
Centre Hospitalier Universitaire de Lille, France
Metrics ULR 2694, Universitaire de Lille, France

Merci Julien pour ton aide, ta disponibilité et ta bonne humeur durant ces années de master puis de thèse d'université. Merci de m'avoir aidé à extraire les marqueurs de variabilité, encore et encore... Ça a été un réel plaisir de pouvoir discuter avec toi et d'avancer dans ces travaux de recherches

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

Au Professeur Laurent Storme,

Merci de m'avoir accompagné pendant tout ce travail et pour vos échanges toujours très enrichissants concernant l'interprétation de nos résultats et la physiologie fœtale.

Au Professeur Guillemette Marot,

Merci pour votre implication et vos précieux conseils dans le choix des analyses statistiques.

Au Docteur Dyuti Sharma,

Merci de m'avoir appris et accompagné à opérer les brebis.

Au Docteur Roxane Gibert et au Docteur Ould Hamoud

Merci pour vos travaux antérieurs sur la variabilité du rythme cardiaque fœtal.

Au Docteur Delphine Le Hesran, au Dr Louis Galan et au Dr Alexane Tournier,

Merci pour votre année de master 2 au sein de notre unité, pour vos travaux expérimentaux qui nous ont permis d'avancer sur l'analyse du rythme cardiaque fœtal en cas d'infection.

Valeria De Stefano et Sébastien Insubri,

Merci pour votre implication pendant votre master 1. Puis pour toutes les analyses complémentaires qui ont suivies.

Capucine Besengez,

Merci pour ton implication dans ce projet de recherche. Tu gères la logistique d'une main de maître ! Merci pour ta présence quotidienne pendant mon master 2, interrompu trop tôt par le COVID.

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

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

Les participants de la réunion de laboratoire du mercredi midi,

Merci pour ces échanges qui font avancer le projet.

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

A ma famille, pour leur soutien pendant ce parcours

A mes amis et collègues,

Table des matières

Abréviations	3
Résumés	4
Introduction et objectifs de la thèse	8
<i>Partie 1 : Données générales</i>	10
1. L'infection périnatale	10
2. L'encéphalopathie néonatale et son lien avec l'infection périnatale	14
3. L'hypoxie fœtale pendant le travail	18
4. Les indices de variabilité de la fréquence cardiaque	20
5. Fetal stress index et historique laboratoire	29
<i>Partie 2 : Méthodologie</i>	33
1. Modèle animal	33
2. Choix du modèle de syndrome de réponse inflammatoire fœtale	37
3. Protocoles expérimentaux	41
4. Ethique	43
5. Données complémentaires	44
<i>Partie 3 : Validation de notre modèle de syndrome de réponse inflammatoire fœtale et étude de la variabilité de la fréquence cardiaque en cas de syndrome de réponse inflammatoire fœtale isolé</i>	48
1. Objectifs	48
2. Matériel et méthodes	48
3. Résultats	50
4. Discussion	60
5. Conclusion	65
6. Données complémentaires	66
<i>Partie 4 : modifications de variabilité de la fréquence cardiaque en cas de syndrome de réponse inflammatoire fœtale associée à une hypoxie</i>	71
1. Objectif	71
2. Matériel et méthodes	71
3. Résultats	74
4. Discussion	89
5. Conclusion	93
Conclusion générale et perspectives	93

<i>Etude Ancillaire : modifications de la protéine S100B en cas d'infection fœtale</i>	96
1. Introduction.....	96
2. Méthodologie.....	97
3. Résultats.....	97
4. Discussion.....	100
5. Conclusion	104
Bibliographie	105

Articles Originaux

Early heart rate variability changes during acute fetal inflammatory response syndrome: An experimental study in a fetal sheep model

Chevalier G, Garabedian C, Pekar JD, Wojtanowski A, Le Hesran D, Galan LE, Sharma D, Storme L, Houfflin-Debarge V, De Jonckheere J, Ghesquiere L.

PLoS One. 2023 Nov 30

How does fetal inflammatory response syndrome change fetal response to hypoxia? An experimental study in a fetal sheep model

G. Chevalier, C. Garabedian, V. De Stefano, A. Wojtanowski, Y. Ould Hamoud, L. Galan, D. Sharma, L. Storme, K. Le Duc, J. De Jonckheere, G. Marot, L. Ghesquiere

Acta Obstet Gynecol Scand. 2024 Sep 26.

Abréviations

ApEn	Entropie approximative / <i>Approximate Entropy</i>
BPM	Battements par minute
CIC-IT	Centre d'Investigation Clinique et d'Innovation Technologique
EN	Encéphalopathie néonatale
ECG	Electro cardiogramme
FC	Fréquence cardiaque
FSI	Fetal Stress Index
GDS	Gaz du sang
HF	Hautes fréquences de la variabilité du rythme cardiaque / <i>High Frequencies</i>
IIU	Inflammation/Infection intra utérine
IL6	Interleukine 6
IMOC	Infirmité motrice cérébrale
LF	Basses fréquences de la variabilité du rythme cardiaque / <i>Low Frequencies</i>
LPS	Lipopolysaccharide
OCT	Occlusions cordonales 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 / <i>Sample Entropy</i>
SD1	Déviations Standard 1 / <i>Standard Deviation 1</i>
SD2	Déviations Standard 2 / <i>Standard Deviation 2</i>
SDNN	Déviations Standard entre intervalles NN (« normal to normal ») successifs
SNA	Système nerveux autonome
SNC	Système nerveux central
SRIF	Syndrome de réponse inflammatoire foetal
VCT	Variabilité à court terme
VFC	Variabilité de la fréquence cardiaque
VLT	Variabilité à long terme

Résumé

Introduction : L'infection fœtale avec syndrome de réponse inflammatoire fœtale (SRIF) pendant le travail est associée au risque de développer une septicémie néonatale, des troubles du développement neurologique, une paralysie cérébrale, voire un décès. Lorsque l'acidose se surajoute au SRIF pendant le travail, cela induit une situation à très haut risque pour le fœtus. Les méthodes actuelles pour diagnostiquer le SRIF sont insuffisantes. Nous avons émis l'hypothèse que l'analyse de la variabilité de la fréquence cardiaque fœtale (VFC) pourrait être utilisée pour détecter le SRIF. Par conséquent, le premier objectif de notre travail était d'explorer si la VFC se modifiait au cours d'un SRIF. Le second objectif était d'étudier les changements de la VFC pendant une hypoxie progressive associée à un SRIF, en comparaison à une hypoxie isolée.

Matériel et méthodes : Le modèle de SRIF était obtenu par l'injection de lipopolysaccharide (LPS) par voie intraveineuse à des fœtus de brebis instrumentés, proches du terme. Un groupe témoin recevait une injection de sérum physiologique. Les paramètres hémodynamiques, les gaz du sang, le dosage d'interleukine-6 (IL-6) et 14 indices de VFC étaient enregistrés pendant six heures. Des comparaisons étaient faites entre les groupes LPS et le groupe témoin toutes les heures. Pour le second objectif, deux autres groupes ont été comparés : l'un avec une hypoxie isolée, l'autre avec une hypoxie associée à un SRIF. L'hypoxie progressive était induite par des occlusions répétées du cordon ombilical d'une minute pendant trois phases d'occlusions : légères, modérées et sévères. Les paramètres hémodynamiques et gazométriques ainsi que la VFC étaient comparés entre les groupes.

Résultats : Concernant le premier objectif, 15 agneaux ont été instrumentés. Dans le groupe LPS (n = 8), l'IL-6 augmentait significativement après l'injection de LPS ($p < 0,001$), confirmant ainsi le modèle SRIF. La fréquence cardiaque fœtale augmentait significativement à partir de H5 ($p < 0,01$). Cinq mesures de la VFC étaient significativement différentes entre le groupe LPS et le groupe témoin (le SDNN (déviatiion standard des intervalles NN / Standard Deviation of Normal to Normal), la SD2 (déviatiion standard 2 / Standard Deviation 2), le DFA (analyse des fluctuations sans tendances / Detrended Fluctuation Analysis) alpha 1 et 2 et la VLT (Variabilité à Long Terme). Concernant le second objectif, la mortalité était plus élevée dans le groupe hypoxie + SRIF (n = 4/9) en comparaison au groupe hypoxie isolée (n = 0/9). L'état

gazométrique était modifié plus tôt en cas d'hypoxie associé au SRIF. Après les occlusions légères, le pH était significativement plus bas (7,22 [7,12-7,24] vs 7,28 [7,23-7,34], $p = 0,01$) et les lactates étaient significativement plus élevés (10,3 mmol/L [9,4-11,0] vs 6,0 mmol/L [4,1-8,2], $p < 0,001$) dans le groupe hypoxie + SRIF. Après les occlusions légères, six indices de VFC étaient significativement augmentés dans le groupe hypoxie + SRIF en comparaison au groupe hypoxie isolée (le SDNN, le RMSSD (racine carrée de la moyenne des carrés des différences entre intervalles NN successif / Root Mean Square of Successive Differences), la VCT (Variabilité à court terme), la VLT, les LF (basses fréquences / Low Frequencies) et les HF (hautes fréquences / High frequencies)). Après les occlusions modérées, le SDNN et le RMSSD restaient significativement augmentés.

Conclusion : Au cours d'un SRIF aigu, isolé ou associé à une hypoxie, la VFC est significativement modifiée. Ces changements semblent être médiés par une augmentation de la variabilité globale et une perte de complexité de la VFC. Ainsi, la VFC pourrait être utilisée pour la détection précoce de ces deux situations à risque.

Abstract

Introduction: Fetal infection during labor, accompanied by fetal inflammatory response syndrome (FIRS), is linked to neurodevelopmental impairments, cerebral palsy, neonatal sepsis, and even mortality. Existing diagnostic methods for FIRS remain insufficient. Acidosis associated with FIRS during labor presents a significant risk to the fetus. This study hypothesizes that analysing fetal heart rate variability (HRV) could serve as a tool for detecting FIRS. Therefore, the first study aim was to explore whether fetal HRV change during FIRS and the second aim was to explore how HRV changes during acute FIRS-associated hypoxia, compared to isolated hypoxia.

Material and methods: In near-term fetal sheep with chronic instrumentation, lipopolysaccharide (LPS) was administered intravenously to simulate FIRS, while a control group received an injection of saline solution. Hemodynamic parameters, blood gas levels, interleukin-6 (IL-6), and 14 heart rate variability (HRV) indices were recorded during a stability period and for six hours after injection. For these different parameters, hourly comparisons were made between the LPS and control groups. For the second aim, two other groups were compared: one with isolated hypoxia, the other with hypoxia and FIRS. Worsening hypoxia was induced by repeated umbilical cord occlusions in three one-hour phases: mild, moderate, and severe. Hemodynamic, gasometric, and HRV parameters were compared between the groups.

Results: For the first aim, a total of 15 lambs were instrumented. In the LPS-treated group ($n = 8$), IL-6 levels significantly increased following LPS administration ($p < 0.001$), validating the FIRS model. Additionally, fetal heart rate showed a significant increase after H5 ($p < 0.01$). Significant differences between LPS and control groups were observed between H2 and H4 for five HRV measures (Standard Deviation of Normal to Normal (SDNN), Standard Deviation 2 (SD2), Detrended Fluctuation Analysis (DFA) alpha 1 and 2 and Long-Term Variability (LTV)). The hypoxia and FIRS group had a higher mortality rate ($n = 4/9$) compared with isolated hypoxia group ($n = 0/9$). Gasometric state was altered earlier in the hypoxia and FIRS group after mild occlusions (pH = 7.22 [7.12–7.24] vs 7.28 [7.23–7.34], $p = 0.01$; lactate = 10.3 mmol/L [9.4–11.0] vs 6.0 mmol/L [4.1–8.2], $p < 0.001$). After mild occlusions, the hypoxia and

FIRS group had higher values for six HRV parameters compared with the hypoxia group (SDNN, Root Mean Square of Successive Differences (RMSSD), Short Term Variability (STV), LTV, Low Frequencies (LF) and High frequencies (HF). After moderate occlusions, only SDNN and RMSSD remained significantly higher.

Conclusion: During acute FIRS, associated or not with hypoxia, HRV is significantly changed. These changes appear to be mediated by an increase of global variability and a loss of signal complexity. HRV indices may therefore be valuable for early detection in these two situations.

Introduction et objectifs de la thèse

La prévention de l'encéphalopathie néonatale (EN) est une préoccupation et un défi permanent en salle de naissance. Le travail puis l'accouchement sont des périodes à risque d'EN en raison du risque d'hypoxie fœtale. Celle-ci n'est cependant responsable que de 30% des EN dans les pays développés [1]. L'infection périnatale et en particulier le syndrome de réponse inflammatoire peuvent également être responsables d'EN [2]. Le Syndrome de Réponse Inflammatoire Fœtale (SRIF) correspond à une activation du système immunitaire inné du fœtus en réponse à la présence d'un agent pathogène. Il a été défini dès 1997 par une élévation de l'interleukine 6 (IL6) dans le plasma fœtal [3]. Il est l'équivalent du syndrome de réponse inflammatoire systémique de l'adulte retrouvé dans la définition du sepsis [2].

La détection du SRIF et de l'infection périnatale ne sont à ce jour pas satisfaisantes. La recherche d'une infection fœtale passe actuellement par le diagnostic d'une infection intra-utérine [4]. Les éléments cliniques permettant d'en faire le diagnostic sont la fièvre, la tachycardie fœtale, les contractions utérines et un liquide purulent. Cependant ces éléments ne sont que peu sensibles et spécifiques pour la détection d'un SRIF [4,5]. Ainsi, d'autres moyens de détection du SRIF sont nécessaires.

L'analyse de la variabilité de la fréquence cardiaque (VFC) pourrait être une piste intéressante. Il s'agit d'une méthode connue et non invasive de mesure de la régulation du système cardiovasculaire par le système nerveux autonome (SNA) [6]. Le SRIF peut s'accompagner à la fois d'une activation du système sympathique et à la fois du système parasympathique via la voie anti-inflammatoire cholinergique permettant une régulation de l'inflammation [7]. Certains indices de la VFC sont sous le contrôle du SNA et pourraient ainsi être modifiés en cas de SRIF. Ainsi, chez le nouveau-né, les modifications de la VFC ont déjà montré leur efficacité

pour un diagnostic plus précoce de l'infection néonatale [8]. Notre première hypothèse était donc que certains marqueurs de la VFC pourraient être modifiés en cas de réponse inflammatoire chez le fœtus.

Une autre situation à risque d'EN pendant le travail est l'hypoxie fœtale. Lorsque celle-ci survient en contexte d'infection fœtale, ce risque est fortement majoré. En effet, Impey et al retrouvait un risque d'encéphalopathie néonatale à 12.5% (aOR = 93.9 ; 95% CI, 28.7-307.2) lors de l'association d'une hypoxie fœtale (définie par un ph artériel <7.05 ou un pf veineux<7.12) et d'une hyperthermie maternelle (définie par une température > 37.5°) pendant le travail à terme [9]. Ainsi, dans la seconde partie de ce travail nous nous sommes intéressés aux modifications de la VFC lorsque le SRIF était surajouté à une hypoxie. Notre hypothèse était que la VFC serait modifiée différemment en cas de SRIF surajouté à l'hypoxie en comparaison à une hypoxie seule.

L'objectif de la thèse était donc double :

1/ Étudier les variations des indices de VFC en cas de SRIF isolé

2/ Étudier les variations des indices de VFC en cas de SRIF surajouté à une hypoxie fœtale en comparaison à une hypoxie seule

Partie 1 : Données générales

1. L'infection périnatale

L'infection périnatale correspond à plusieurs situations cliniques et biologiques nommées et diagnostiquées de façon variable dans la littérature [4] : la chorioamniotite clinique, infraclinique ou histologique, l'infection intra-utérine, l'infection materno-fœtale, l'infection intra-amniotique et le syndrome de réponse inflammatoire fœtale.

La chorioamniotite est définie stricto sensu par une inflammation/infection des membranes fœtales (chorion et amnios). S'y associe le plus souvent également une inflammation/infection de la decidua maternelle et/ou des autres composants de la cavité amniotique : le liquide amniotique, le fœtus, le placenta et le cordon ombilical [4]. La chorioamniotite a en pratique regroupée l'association de signes cliniques, comportant une fièvre maternelle mais également des signes biologiques dont le nombre et les valeurs seuils variaient en fonction des auteurs et des sociétés savantes [4,10]. Parmi ces signes biologiques, certains provenaient de l'analyse du liquide amniotique : la présence d'un germe à l'examen direct ou à la culture, une diminution du glucose, une augmentation de l'IL-6, la présence de leucocytes, de matrix metalloproteinase ou de leucocyte esterase [4]. Ces analyses nécessitaient donc un prélèvement invasif par amniocentèse. D'autres signes sur sang maternel ont été étudiés : une hyperleucocytose, une augmentation de la CRP ou de l'IL6. Cependant ces marqueurs n'étaient pas jugés assez spécifiques de la chorioamniotite [1]. D'autres marqueurs plus spécifiques ont été proposés : l'augmentation des protéines de liaisons aux polysaccharides ou l'augmentation de molécules d'adhésion intercellulaire ICAM-1. Ces marqueurs n'ont cependant pas montré leur intérêt en pratique clinique [1].

La chorioamniotite infraclinique est définie par une inflammation biologique du liquide amniotique et/ou du placenta sans signes cliniques maternels ou fœtaux. L'inflammation intra-amniotique est définie par la présence dans le liquide amniotique de médiateurs pro-inflammatoires (IL6) et/ou d'enzymes impliquées dans la dégradation de la matrice extracellulaire (collagénases) [4].

La chorioamniotite histologique est définie par l'infiltration de leucocytes dans le chorion ou l'amnios [11]. Un système de stadification et de classement a été proposé par Redline et al. (50). (Tableau 1.1)

Les stades maternels
Stade 1 : au moins un champ de haute puissance avec plus de 10 leucocytes polynucléaires dans la fibrine sous-chorionique mais pas dans le chorion ou l'amnios.
Stade 2 : leucocytes polynucléaires dans la plaque chorionique ou le chorion de la membrane extraplacentaire plus ou moins l'amnios mais pas de caryorrhexie (fragmentation destructive du noyau d'une cellule mourante) des leucocytes polynucléaires ni d'inflammation nécrosante.
Stade 3 : leucocytes polynucléaires dans la plaque chorionique et/ou le chorion et l'amnios de la membrane extraplacentaire, avec caryorrhexie et/ou inflammation nécrosante.
Les stades fœtaux
Stade 1 : au moins un champ de forte puissance avec des leucocytes polynucléaires dans les vaisseaux de la plaque chorionique fœtale, mais pas dans les vaisseaux ombilicaux.
Stade 2 : leucocytes polynucléaires dans la plaque chorionique ou le chorion de la membrane extraplacentaire plus ou moins l'amnios mais pas de caryorrhexie (fragmentation destructive du noyau d'une cellule mourante) des leucocytes polynucléaires ni d'inflammation nécrosante.
Stade 3 : leucocytes polynucléaires dans la plaque chorionique et/ou le chorion et l'amnios de la membrane extraplacentaire, avec caryorrhexie et/ou inflammation nécrosante.
Grade maternel et fœtal
Grade 1 : 1 à 10 leucocytes polynucléaires
Grade 2 : 11 à 30 leucocytes polynucléaires
Grade 3 : 31 à 100 leucocytes polynucléaires
Grade 4 : > 100 leucocytes polynucléaires

Tableau 1.1 : Stades et grades de la chorioamniotite histologique

Le terme de chorioamniotite, utilisé trop souvent dans la pratique clinique pour tout contexte infectieux bactérien, a été jugé trop imprécis par un consensus d'experts américains sous l'égide du National Institute of Child Health and Human Development (NICHD) en 2015 [10]. Ce groupe d'experts a proposé de remplacer le terme de chorioamniotite par l'une des appellations suivantes plus générale « Inflammation/Infection Intra-utérine », « Inflammation

ou Infection Intra-utérine ou les deux », ou « triple I ». Celles-ci sont définies par la présence d'une fièvre supérieure à 39°C au moins une fois ou supérieure à 38,5°C contrôlée à 30 minutes, associée à au moins un des quatre critères suivants :

- Une tachycardie fœtale > 160 bpm pendant plus de 10 minutes
- Une hyperleucocytose > 15 000/mm³ en l'absence de corticothérapie maternelle
- Un liquide purulent prélevé au niveau du col
- Des arguments biochimiques ou microbiologiques dans le liquide amniotique (examen direct positif, culture microbiologique positive, glycosaminine basse, hypercellularité du liquide).

La mise en évidence d'un agent infectieux dans le liquide amniotique (examen direct ou culture) ou dans le placenta (examen histologique rétrospectif) classait l'Inflammation/Infection Intra-utérine en « confirmée ».

Le Collège National des Gynécologues et Obstétriciens Français (CNGOF) a également formulé des recommandations sur la définition et le diagnostic de l'infection intra-utérine. Le diagnostic clinique d'infection intra-utérine est retenu quand les critères suivants sont réunis (accord professionnel) [4] : Une fièvre définie par une température maternelle supérieure ou égale à 38°C confirmée à 30 minutes d'intervalle, sans cause infectieuse extra-gynécologique identifiée, avec au moins deux critères suivants parmi :

- Une tachycardie fœtale > 160 bpm persistante
- Des douleurs utérines ou des contractions utérines douloureuses ou mise en travail spontanée
- Du liquide amniotique purulent.

L'infection materno-fœtale est définie comme une infection néonatale bactérienne précoce provoquée par des bactéries transmises par la mère, le plus souvent par voie génitale ou plus rarement par voie hématogène. L'infection néonatale bactérienne précoce peut être

secondaire à une infection intra utérine. Le caractère précoce est défini par la survenue des signes néonataux dans les 72 heures suivant l'accouchement [4].

L'infection intra-amniotique (IIA) a quant à elle une définition microbiologique. Elle est diagnostiquée par la présence de bactéries dans le liquide amniotique prélevé par amniocentèse ou par voie endocervicale [4].

Le Syndrome de Réponse Inflammatoire Fœtal (SRIF) correspond à une activation du système immunitaire inné du fœtus. Il est l'équivalent du syndrome de réponse inflammatoire systémique de l'adulte retrouvé dans la définition du sepsis. La définition du syndrome de réponse inflammatoire systémique de l'adulte comprend des éléments tels que l'hyperthermie, la fréquence respiratoire et l'hypocapnie, qui sont difficilement évaluables chez le fœtus. Le SRIF a donc été défini dès 1997 par l'élévation de l'IL6 dans le plasma fœtal [2,3]. L'IL6 ayant l'avantage d'être rapidement augmentée en cas d'inflammation et d'être facilement dosable sur un prélèvement de sang. Chez le fœtus, son analyse nécessite cependant un prélèvement invasif par ponction de sang fœtal, ce qui limite son intérêt en pratique clinique [2,3].

2. L'encéphalopathie néonatale et son lien avec l'infection périnatale

L'encéphalopathie néonatale (EN) se caractérise cliniquement par une altération des fonctions neurologiques chez le nouveau-né. Elle se manifeste par des difficultés de succion, des troubles respiratoires et alimentaires, ainsi que des changements de l'état de conscience (tels que l'irritabilité, la léthargie, l'obnubilation, voire le coma). Des perturbations de l'activité motrice globale, de la posture et du tonus musculaire sont également observées [12]. Dans les pays développés, l'incidence de l'encéphalopathie néonatale est estimée entre 2 et 6 pour 1 000 naissances à terme [13]. L'encéphalopathie néonatale peut entraîner des complications

graves, telles que des troubles du développement, l'épilepsie, une infirmité motrice d'origine cérébrale (IMOC), voire le décès [14]. Elle constitue la troisième cause de mortalité néonatale.

De multiples étiologies et facteurs de risque d'EN ont été identifiés. La principale étiologie d'EN est l'hypoxie fœtale per partum. Elle n'est cependant responsable que de 30% des EN dans les pays développés et de 60% dans les pays en développement [14]. Dans cette situation, l'encéphalopathie est dite anoxo-ischémique (EAI). L'infection périnatale est également une étiologie. Elle augmente par 4,1 (95%IC 1,3-16,2) le risque d'IMOC à terme [15]. La proportion d'IMOC attribuable à l'infection intra-utérine est estimée à 12% [16].

La première phase est caractérisée par une mort neuronale précoce, causée directement par l'anoxie et une carence énergétique aiguë, suivie d'une période de latence d'au moins six heures. La seconde phase implique une mort neuronale retardée, résultant d'une cascade métabolique nocive incluant la libération de médiateurs inflammatoires, de neurotransmetteurs et de radicaux libres, qui conduisent à des lésions permanentes [17].

Le rôle de l'inflammation dans l'encéphalopathie néonatale a été mis en évidence dans de nombreuses études [18]. L'encéphalopathie néonatale est accompagnée d'une augmentation de l'IL6, l'IL8 et IL-1B dans le liquide cérébro-spinal (LCS) [19]. L'augmentation de ces interleukines, dans le LCS et le sang, chez le nouveau-né à terme, est associée à un risque de séquelles neurologiques [20,21]. Il n'est cependant pas encore clairement établi que l'inflammation soit la cause ou la conséquence de l'EN [18].

Les études sont plus divergentes concernant l'association entre l'ancienne dénomination « chorioamniotite » et l'EN. Dans une méta analyse de 2000, Wu et al ont montré une association entre la chorioamniotite clinique (définie par l'association de fièvre +/- contractions utérines +/- tachycardie fœtale +/- liquide amniotique purulent) et le risque de

paralysie cérébrale (RR = 4.7, 95%IC (1.3-16.2)) chez des nouveaux nés à terme, basée sur les deux seules études disponibles. Pour Shi et al, dans une méta analyse de 2017, la preuve scientifique d'une causalité entre la chorioamniotite et la paralysie cérébrale était jugée faible [22]. Cette méta analyse incluait 17 études rapportant la survenue de paralysie cérébrale en cas de chorioamniotite (avec 125 256 cas de chorioamniotite). En cas de chorioamniotite histologique, on retrouvait un risque plus important de paralysie cérébrale (RR = 1,34, p < 0,01) chez les nouveaux nés prématurés. Ce surrisque n'était ni retrouvé pour la chorioamniotite clinique, ni à terme [22]. Dans cette même méta analyse, 22 études rapportaient la présence d'une chorioamniotite en cas de paralysie cérébrale (2 513 cas de paralysie cérébrale et 8 135 témoins). Chez les nouveaux nés prématurés, en cas de paralysie cérébrale, on retrouvait plus souvent une chorioamniotite clinique (RR = 1,43, P < 0,01) mais pas de chorioamniotite histologique. A terme, la chorioamniotite histologique (RR = 4,26, p < 0,05) et la chorioamniotite clinique (RR = 3,06, P < 0,01) était associée à un risque plus élevé de paralysie cérébrale chez les nouveaux nés [22].

Les résultats d'autres études sont également contradictoires sur ce sujet. Certaines retrouvent bien une augmentation du risque d'EN en cas de chorioamniotite [23–26], d'autres l'absence d'association [27]. D'autres encore retrouvent même un rôle protecteur de l'infection périnatale [28]. La diversité des infections périnatales et des situations cliniques est probablement à l'origine de la divergence de ces résultats.

L'invasion microbienne peut induire une réponse inflammatoire généralisée chez le fœtus. Ce SRIF va permettre de contenir l'infection mais au prix d'une augmentation de la morbidité néonatale [2]. Contrairement à la chorioamniotite, il a été clairement montré que le SRIF est

responsable de complications neurologiques. Selon Jung et al, les différents arguments en faveur de la causalité entre le SRIF et les complications neurologiques sont qu'il existe [29]:

- Une association entre le SRIF et les lésions de la substance blanche, la leucomalacie périventriculaire et la paralysie cérébrale chez le nouveau-né
- Une induction de leucomalacie périventriculaire et de lésions neuronales chez l'animal (brebis et rats principalement), à la suite de l'administration d'un agent infectieux ou de lipopolysaccharides [29]
- Un modèle de paralysie cérébrale obtenu par neuroinflammation après injection de LPS [29]
- Une régulation de la réaction inflammatoire par des molécules anti-inflammatoires (N-acetyl-cysteine) pour limiter le processus inflammatoire et les atteintes neurologiques.

Plusieurs hypothèses sur les mécanismes responsables d'EN en cas d'infection périnatale ont été avancées par Huleihel et al. [30] :

- L'hypoperfusion cérébrale induite par des modifications hémodynamiques
- La production de cytokines pro inflammatoires
- La dérégulation des facteurs angiogéniques et neurotrophiques

L'excès de cytokines proinflammatoires (IL-1, IL-6 et TNFalpha) est connu pour endommager les progéniteurs d'oligodendrocytes et induire une leucomalacie périventriculaire. Ces cytokines pro-inflammatoires pourraient, d'autre part, diminuer la production de facteurs neurotrophiques tels que le BDNF (brain derived neurotrophic factor) et le NGF (nerve growth factor) et augmenter la production d'oxyde nitrique et de prostaglandine. Ces facteurs augmentant l'apoptose et peuvent également conduire à des défauts de vascularisation d'angiogenèse [30].

Au total, l'infection périnatale semble être responsable de complications neurologiques et notamment d'EN. Les données de la littérature sont cependant divergentes à ce sujet, probablement en raison des nombreuses entités et définitions de l'infection périnatale. Les données sont plus clairement en faveur d'un lien de causalité entre le SRIF et les complications neurologiques tel que l'EN.

3. L'hypoxie fœtale pendant le travail

Avant le début du travail, le pH artériel normal du fœtus est d'environ 7,35, et la pO₂ artérielle se situe entre 20 et 30 mmHg [31]. Pendant le travail, une baisse physiologique du pH est observée, avec une moyenne de 7,25 à la naissance et un 10^e percentile autour de 7,15 [32].

Les contractions utérines exercent une compression sur les vaisseaux maternels du myomètre, ce qui réduit la perfusion placentaire et peut temporairement limiter les échanges gazeux entre la mère et le fœtus [33,34]. Elles peuvent aussi comprimer le cordon ombilical, perturbant ainsi la circulation fœtale. En cas de manque d'oxygène, le système cardiovasculaire du fœtus s'adapte pour maintenir un flux sanguin et une oxygénation adéquats, assurant un métabolisme cellulaire stable au niveau des organes vitaux, en particulier le cœur et le système nerveux central [33]. Face à une brève réduction de l'oxygénation, le fœtus active son système parasympathique pour diminuer le travail cardiaque et, par conséquent, sa consommation d'oxygène [35]. Les décélérations cardiaques sont alors les premiers signes de réponse à une hypoxie. Si l'hypoxie persiste ou s'aggrave, une tachycardie peut apparaître pour augmenter le débit cardiaque sous l'effet de la stimulation adrénergique. Ensuite, une réduction ou une absence de variabilité du rythme cardiaque fœtal (RCF) peut survenir, reflétant une diminution des réponses sympathique et parasympathique aux fluctuations de la pO₂ et de la pCO₂, due à une défaillance des cellules

impliquées dans les réflexes chémorécepteurs et barorécepteurs [36]. Finalement, l'atteinte myocardique causée par le manque d'oxygène entraîne une bradycardie. Si l'hypoxie est persistante elle peut être à l'origine de lésions cérébrales à l'origine d'une encéphalopathie néonatale anoxo-ischémique [37].

Les mesures de gazométrie au cordon ont une importance déterminante pour évaluer le retentissement néonatal du travail et de l'accouchement, particulièrement lorsque celui-ci a été compliqué [38]. L'acidose respiratoire, ou acidose gazeuse est liée à la présence intravasculaire d'ions hydrogènes libres issus d'un métabolisme aérobie, qui produit une accumulation de CO₂. Cette hypercapnie va être rapidement résolutive lorsque le nouveau-né aura commencé à s'oxygéner normalement en respirant. Ce type d'acidose s'installe et se dissipe rapidement, et n'est que très exceptionnellement associé à des complications ultérieures. Une réduction sévère de l'oxygénation fœtale déclenche le métabolisme anaérobie des cellules fœtales, entraînant l'accumulation d'acide lactique, ce qui abaisse le pH de l'artère ombilicale et augmente le déficit de base. Cette acidose est dite métabolique. L'acidose métabolique est à risque de séquelles, notamment de lésions neurologiques [39].

Les différents paramètres du gaz du sang (le pH, le déficit de base, les lactates, la pO₂ et la pCO₂) permettent d'évaluer, à un instant précis, les échanges materno-foetaux et leur retentissement fœtal. Avant travail, le pH artériel normal d'un fœtus eutrophe est proche de 7.37 (+/- 0.03 DS) avec une PO₂ à 28 (+/- 4,2DS) mmHg et une PCO₂ à 35 (+/- 2.DS) mmHg [31]. Pendant le travail, on observe une baisse physiologique du pH. Le pH moyen à la naissance est de 7.25, le 10ème percentile autour de 7.15 [32]

4. Les indices de variabilité de la fréquence cardiaque

La VFC est une méthode connue et non invasive de mesure de la régulation du système cardio-vasculaire par le SNA [40]. Elle correspond aux variations de l'intervalle de temps entre deux battements cardiaques (soit deux ondes R sur l'électrocardiogramme). Elle implique le nœud sinusal, innervé et régulé par les fibres des systèmes nerveux sympathiques et parasympathiques qui se contrebalancent et font ainsi fluctuer le rythme cardiaque (figure 1.4.1).

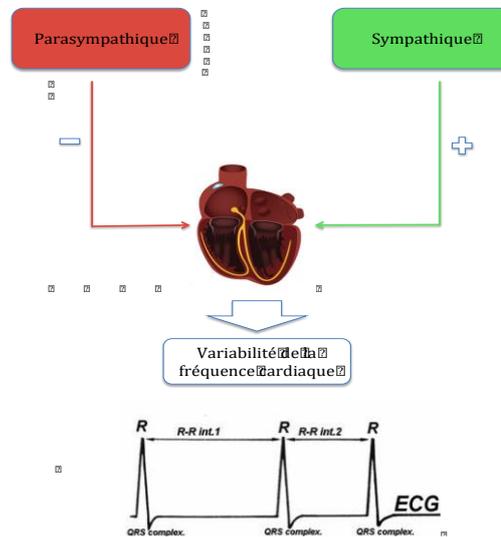


Figure I.4.1 : contrôle du nœud sinusal par le SNA. (Système Nerveux Autonome)

*+ : stimulation accélératrice par le système sympathique
- : stimulation décélératrice par le système parasympathique
Schéma issu de la thèse d'université de C. Garabedian.*

a) Acquisition de l'électrocardiogramme et création de la série RR

La première étape du processus est l'acquisition du signal ECG, qui sert à détecter l'onde R du complexe QRS. Ce complexe correspond à la dépolarisation et à la contraction des ventricules cardiaques, l'onde R en étant la composante positive. La détection de chaque onde R permet

de créer une série d'intervalles RR, rendant possible l'étude de la fréquence cardiaque au fil du temps en mesurant ces intervalles successifs.

Cette série RR est composée d'intervalles de temps irréguliers en raison des variations naturelles du rythme cardiaque. Or, certaines méthodes d'analyse, notamment celles basées sur la fréquence, nécessitent des signaux échantillonnés à intervalles réguliers. Ainsi, un rééchantillonnage de la série RR, réalisé par un algorithme d'interpolation sur le signal brut, devient nécessaire et a donc été réalisé. Pour une analyse optimale de la variabilité de la fréquence cardiaque (VFC), une fréquence d'échantillonnage d'au moins 4 Hz est recommandée, permettant d'évaluer la VFC dans la plage de 0 à 2 Hz [40].

L'analyse de la VFC peut se faire selon trois méthodes :

- l'analyse temporelle : elle est basée sur l'analyse de l'évolution des intervalles R-R
- l'analyse spectrale : elle est basée sur l'analyse fréquentielle des oscillations du rythme cardiaque
- l'analyse non linéaire.

Les différents indices étudiés sont présentés dans le tableau 1.4.2 :

Analyse temporelle	SDNN : Déviation Standard des intervalles NN RMSSD : Racine carrée de la Moyenne des carrés des différences entre intervalles NN successifs VCT : Variabilité à Court Terme VLT : Variabilité à Long Terme
Analyse spectrale	LF : basses fréquences (low frequencies) HF : hautes fréquences (high frequencies) Rapport LF/HF
Analyse temporelle et spectrale	FSI: Fetal Stress Index
Analyse non linéaire	ApEn : Entropie approchée (Approximate Entropy) SampEn : Entropie échantillonnée (Sample Entropy) SD1 : déviation standard 1 (Standard deviation 1) SD2 : déviation standard 2 (Standard deviation 2) Srratio : SD1/SD2 DFA $\alpha 1$: Analyse des fluctuations sans tendances (Detrended Fluctuation Analysis, $\alpha 1$) DFA $\alpha 2$: Analyse des fluctuations sans tendances (Detrended Fluctuation Analysis, $\alpha 2$)

Tableau I.4.2 : Classification des marqueurs de la VFC en fonction du type d'analyse

b) Analyse temporelle

Les mesures temporelles sont effectuées sur les intervalles de temps N-N (Normal à Normal) qui séparent deux ondes R consécutives. Ces intervalles, constituant une série, sont mesurés tout au long de la période d'enregistrement. Le SDNN représente l'écart-type de ces intervalles N-N, traduisant ainsi la variabilité globale de la fréquence cardiaque. Le RMSSD, pour sa part, indique la moyenne des variations entre deux intervalles R-R successifs ; il correspond à la racine carrée de la moyenne des carrés de ces différences entre intervalles N-N successifs. Il mesure la variabilité haute fréquence de la fréquence cardiaque. Le SDNN donne une image de l'activité globale du système nerveux autonome, tandis que le RMSSD reflète l'activité parasympathique [6].

La variabilité à long terme (VLT) et la variabilité à court terme (VCT) ont été conçues spécifiquement pour l'étude du rythme cardiaque fœtal. Le calcul de la VLT et de la VCT s'appuie sur la série d'intervalles R-R, rééchantillonnée à une fréquence de 4 Hz. Ces méthodes examinent le rythme cardiaque fœtal de manière périodique en établissant une valeur moyenne de la fréquence cardiaque pour chaque intervalle d'un seizième de minute. La VCT mesure les variations de fréquence cardiaque moyenne entre deux périodes consécutives sur un intervalle d'une minute, en se basant sur la moyenne de la valeur absolue de ces différences, divisée par deux.[41].

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

La VCT est utilisée en pratique courante en obstétrique. En effet, une VCT basse (<3,0ms) est utilisée pour la détection de l'acidose sévère chez les fœtus [42]. La VLT analyse la différence entre les valeurs minimales et maximales des moyennes des différentes époques sur un intervalle d'une minute.

c) Analyse spectrale

L'analyse spectrale est une méthode mathématique permettant d'identifier les diverses oscillations présentes dans un rythme. Pour la variabilité de la fréquence cardiaque (VFC), cette analyse consiste à décomposer la série des intervalles R-R en une somme de fonctions sinusoïdales de fréquences et d'amplitudes variées. L'amplitude des fluctuations du rythme cardiaque fœtal (RCF) est alors exprimée pour différentes fréquences d'oscillation. La transformée de Fourier rapide est l'outil employé pour ce type d'analyse. Cette transformation dans le domaine temps-fréquence permet d'obtenir le spectre de la VFC, qui

se divise en trois composantes correspondant aux principales fluctuations périodiques de la fréquence cardiaque (figure 1.4.b1).

- Les hautes fréquences (HF) : supérieures à 0,15 Hz

- Les basses fréquences (LF) : entre 0,04-0,15 Hz

- Les très basses fréquences (VLF) : inférieure à 0,04 Hz

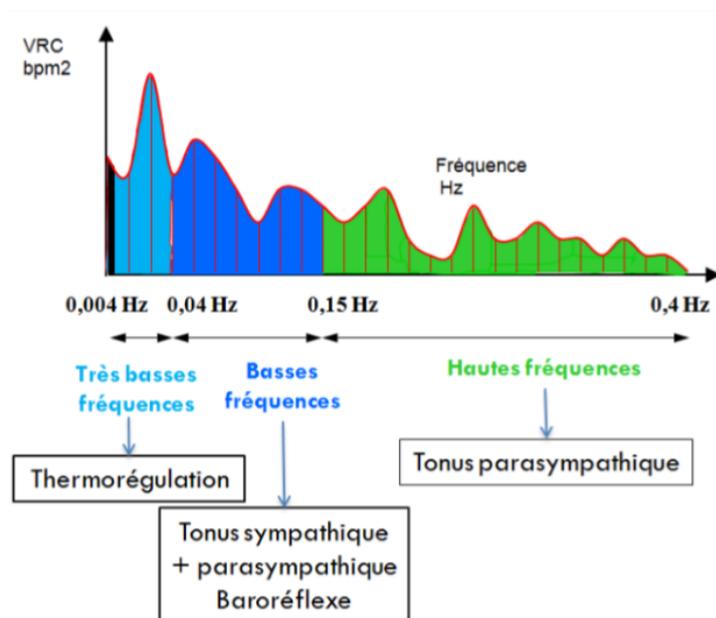


Figure 1.4.b1 : Fréquences de fluctuations de la FC

L'aire sous la courbe pour chaque fréquence correspond à l'amplitude de chaque fluctuation de la fréquence cardiaque

Schéma issu de la thèse d'université de C. Garabedian.

L'aire sous la courbe pour chaque fréquence indique l'amplitude de chaque fluctuation présente dans le rythme cardiaque fœtal. Ces variations de fréquence cardiaque dépendent de plusieurs facteurs, selon la fréquence concernée. Aux fréquences inférieures à 0,04 Hz, les fluctuations sont influencées par la thermorégulation. Entre 0,04 Hz et 0,15 Hz, elles sont régulées par le baroréflexe. Quant aux fréquences élevées, elles sont principalement liées aux mouvements respiratoires et au système parasymphatique [43].

Le rapport LF/HF augmente en cas d'activation différentiel du système sympathique par rapport au système parasympathique. Il est considéré comme le reflet de la balance sympathique/parasympathique [6].

d) Entropie

L'analyse non linéaire est une branche des mathématiques qui s'intéresse aux systèmes, équations, et phénomènes où la relation entre les variables n'est pas linéaire. Contrairement à l'analyse linéaire, où les relations entre les variables peuvent être représentées par des équations linéaires (c'est-à-dire des droites), l'analyse non linéaire traite de systèmes où ces relations sont plus complexes [6]. Grâce à l'analyse non linéaire il est possible de quantifier l'imprédictibilité d'une suite. L'entropie, en théorie de l'information, est une mesure non linéaire qui permet de quantifier l'imprédictibilité d'une information [6]. Intuitivement, elle correspond à la quantité d'information contenue ou fournie par une source d'information. Cette méthode est utilisée pour étudier des phénomènes physiologiques qui, bien qu'irréguliers, ne sont pas aléatoires. En physiologie, la complexité des signaux résulte des interactions entre divers mécanismes de régulation, lesquels génèrent des oscillations (ou irrégularités) dans les signaux physiologiques, permettant à l'organisme de s'adapter aux perturbations extérieures. Lorsque des pathologies apparaissent, ces interactions tendent à se détériorer, rendant les signaux physiologiques moins complexes [44].

L'entropie approchée (ApEn) a été conçue pour analyser les aspects prédictifs et la régularité de la fréquence cardiaque [45]. Elle permet de caractériser les séries temporelles en mesurant leur niveau de régularité. Ce paramètre repose sur le calcul de la probabilité d'observer des motifs similaires à plusieurs reprises. Le signal est modélisé en vecteurs de différentes longueurs pour identifier si certains enchaînements se reproduisent

fréquemment. Pour l'interprétation, plus le signal comporte de répétitions et plus l'ApEn sera petite. Au contraire, un signal peu prédictible possède une ApEn élevée [6].

e) Déviations Standard 1 et 2

Les marqueurs SD1 (Déviation Standard 1) et SD2 (Déviation Standard 2), sont issus de l'analyse du diagramme de Poincaré (figure 1.3.d). Sur ce diagramme, chaque point de coordonnées (x,y) est construit à l'aide de deux intervalles R-R consécutifs. La durée de l'intervalle R-R actuel ($R-R_i$) est représentée sur l'axe des x , et la durée de l'intervalle RR suivant ($R-R_{i+1}$) est représentée sur l'axe des y . SD1 représente l'écart type (ou dispersion) des points le long de l'axe perpendiculaire à la ligne d'identité ($x=y$), tandis que SD2 représente l'écart type le long de cette même ligne d'identité [46]. SD1 est principalement associé à l'activité parasympathique et présente une forte corrélation avec l'indice temporel RMSSD. Inversement, SD2 est un indicateur de la variabilité globale et est corrélé à l'indice temporel SDNN. Le rapport SD1/SD2 peut être utilisé pour évaluer l'équilibre du système nerveux autonome. Une baisse de ce rapport signale une activation prédominante du système sympathique par rapport au système parasympathique. [6]. Il est donc corrélé négativement avec le rapport LF/HF.

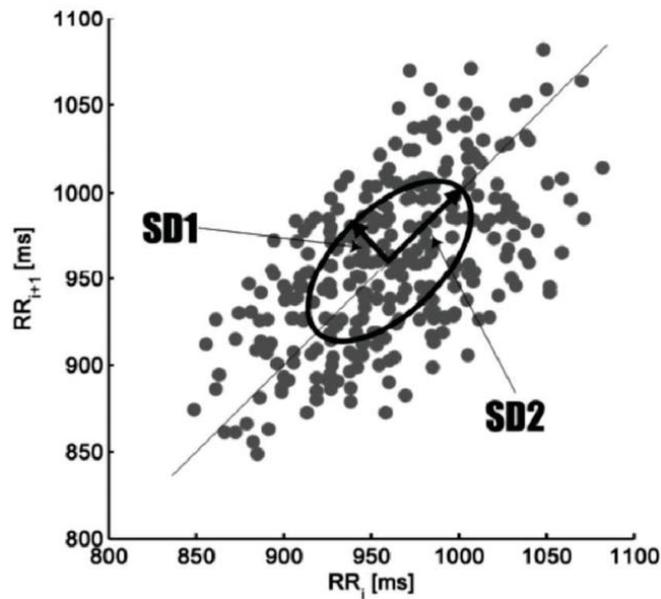


Figure 1.4.d : Représentation du diagramme de Poincaré d'un enregistrement de la VFC.
 Les points (x,y) sont placés à l'aide de deux intervalles R-R adjacents (RR_i, RR_{i+1}) . Les indices SD1 et SD2 sont calculés sur la base des écarts types selon l'axe $x=y$ et son axe perpendiculaire Saboul et al. 2013 [46].

f) Analyse des fluctuations sans tendance

L'analyse des fluctuations sans tendance (DFA) cherche à mettre en évidence les processus autosimilaires dans les séries temporelles [47]. Cette méthode quantifie la complexité des signaux en utilisant des propriétés fractales. Un fractal est un objet qui a les propriétés suivantes : une irrégularité à toutes les échelles, une autosimilarité et une dimension non entière.

Un exemple de fractal est le flocon de Koch (figure 1.4.e1). La construction de cette forme se fait en appliquant à chaque côté d'un triangle équilatéral une transformation : le tiers central de chaque côté est remplacé par deux segments formant une pointe, de longueur égale à celle de la portion enlevée (soit un tiers du côté). Après plusieurs itérations, la figure obtenue ressemble à un flocon de neige, intégrant des répliques plus petites du triangle équilatéral initial.

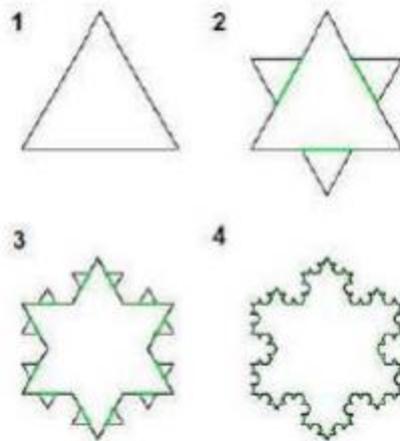


Figure 1.4.e1 Flocon de Koch
Les quatre premières étapes de la création du flocon de Koch

La méthode de calcul du DFA est la suivante (figure 1.4.e2) [47] : La série d'intervalles RR subit une sommation cumulative, puis une segmentation en segments courts. Dans chaque segment, le degré de dispersion de la série chronologique cumulée par rapport à sa tendance linéaire est mesuré (comme la somme des carrés des résidus après soustraction de la ligne de régression linéaire). Le total des carrés des résidus pour les segments individuels est calculé pour l'ensemble des données. L'ensemble du processus est ensuite répété avec une longueur de segment différente. A mesure que les segments s'allongent, le degré de dispersion par rapport aux lignes de régression linéaire à l'intérieur des segments a tendance à augmenter [47].

La vitesse à laquelle cette dispersion totale augmente à mesure que les segments s'allongent est mesurée comme une pente (α) sur un tracé log-log. Plus la pente est importante, plus la complexité est importante.

La série RR est divisée en segments égaux, sans chevauchement, de longueur n . DFA $\alpha 1$ est calculé sur la plage $n = 4$ à $n = 16$ et DFA $\alpha 2$ entre $n = 16$ et $n = 64$ [48].

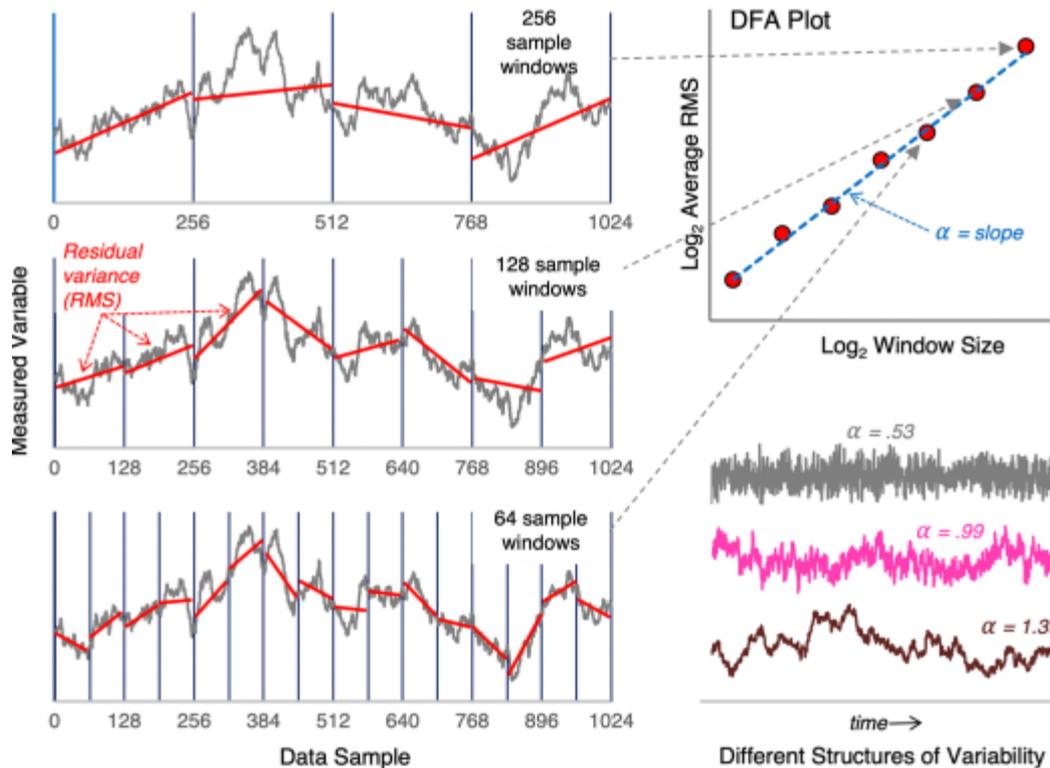


Figure 1.4.e2 : Exemple de calcul du DFA

Pour chaque n (nombre de battements dans un segment), F est défini comme la moyenne quadratique des résidus (surface entre la courbe et la régression linéaire). Des exemples sont donnés pour $n = 256, 128$ et 64 . A est la pente du tracé log-log de F par rapport à n .
Peng et al. 1995 [49]

5. Fetal stress index et historique laboratoire

Notre équipe de recherche s'intéresse depuis plusieurs années à l'utilisation des marqueurs de VFC pour dépister les situations à risque chez le fœtus. Dans ce contexte, un nouvel indice, le Fetal Stress Index (FSI), a été développé par notre équipe. Cet indice est une adaptation, chez le fœtus, d'une méthode originale d'analyse spectrale de la VFC. Cette méthode développée par le CIC-IT de Lille avait déjà montré son efficacité chez l'adulte (Analgesia nociception index (ANI) et chez le nouveau-né (NIPE) pour évaluer l'activité du SNA [50–52].

Le FSI (Fetal Stress Index) a été développé par le CIC-IT de Lille. Il utilise une analyse spectrale pour filtrer le signal et ne conserve que les oscillations hautes fréquences [53]. Le

FSI reflète l'activité du système parasympathique. Il est exprimé en valeurs numériques entre 0 et 100. La figure 1.5.1 reprend l'ensemble des étapes du calcul du FSI [53].

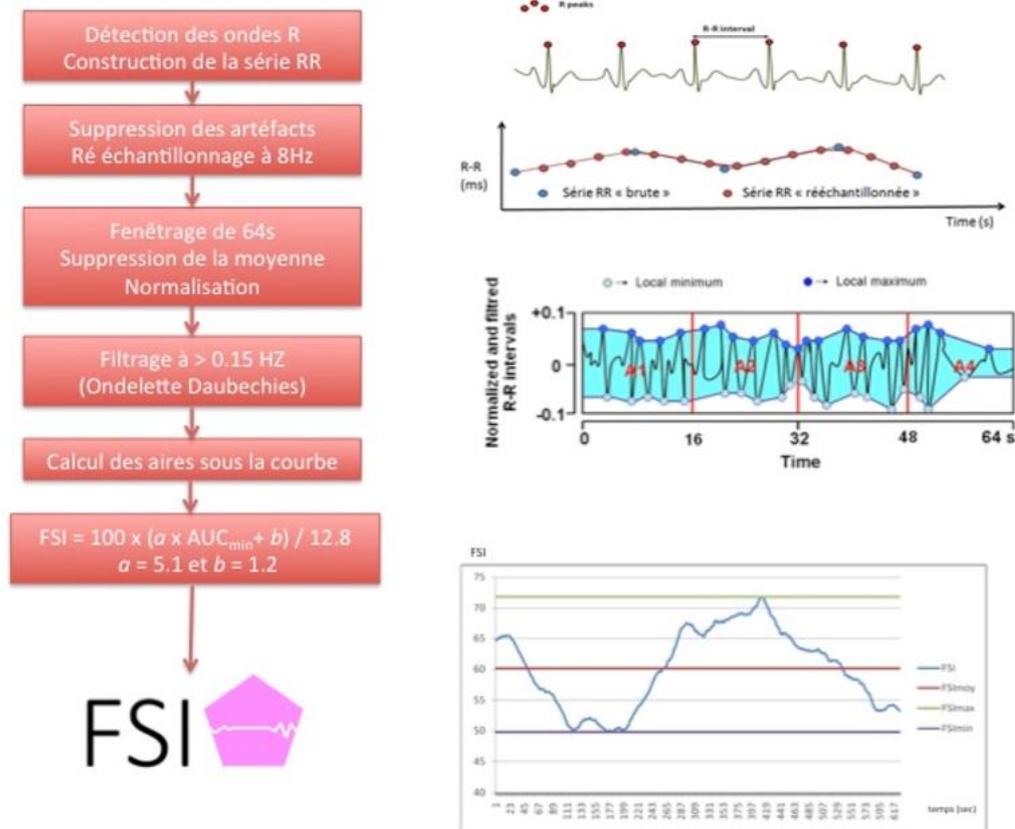


Figure 1.5.1 : Méthode de calcul du FSI.

Le développement de cet indice et les études précliniques sont détaillés dans la partie 1.4 (FSI et historique du laboratoire).

Figure issue de la thèse du Pr Charles Garabedian

Au cours de précédents travaux chez la brebis, il a été montré que le FSI était un reflet sensible et spécifique des variations du système parasympathique [54]. Ce marqueur était corrélé au pH fœtal dans un modèle d'occlusion cordonale partielle prolongée, mais également dans des modèles d'occlusions cordonales totales et répétées qui se rapprochent davantage du travail et des contractions utérines [55]. Parmi plusieurs marqueurs de la variabilité étudiés, le FSI était le marqueur le plus discriminant pour détecter l'acidose [34]. Lors d'un dernier travail, il a été observé que les modifications du FSI lors de l'apparition d'une

acidose foetale étaient corrélées à l'atteinte cérébrale et notamment aux lésions du tronc cérébral [56].

La figure 1.5.2 reprend l'historique des travaux réalisés chez la brebis au cours des dernières années avec l'intégration des travaux de cette Thèse d'Université dans la thématique « infection ». Les principaux travaux du laboratoire en lien avec l'analyse de la VFC sont décrits en données complémentaires (figure 1.5.3)

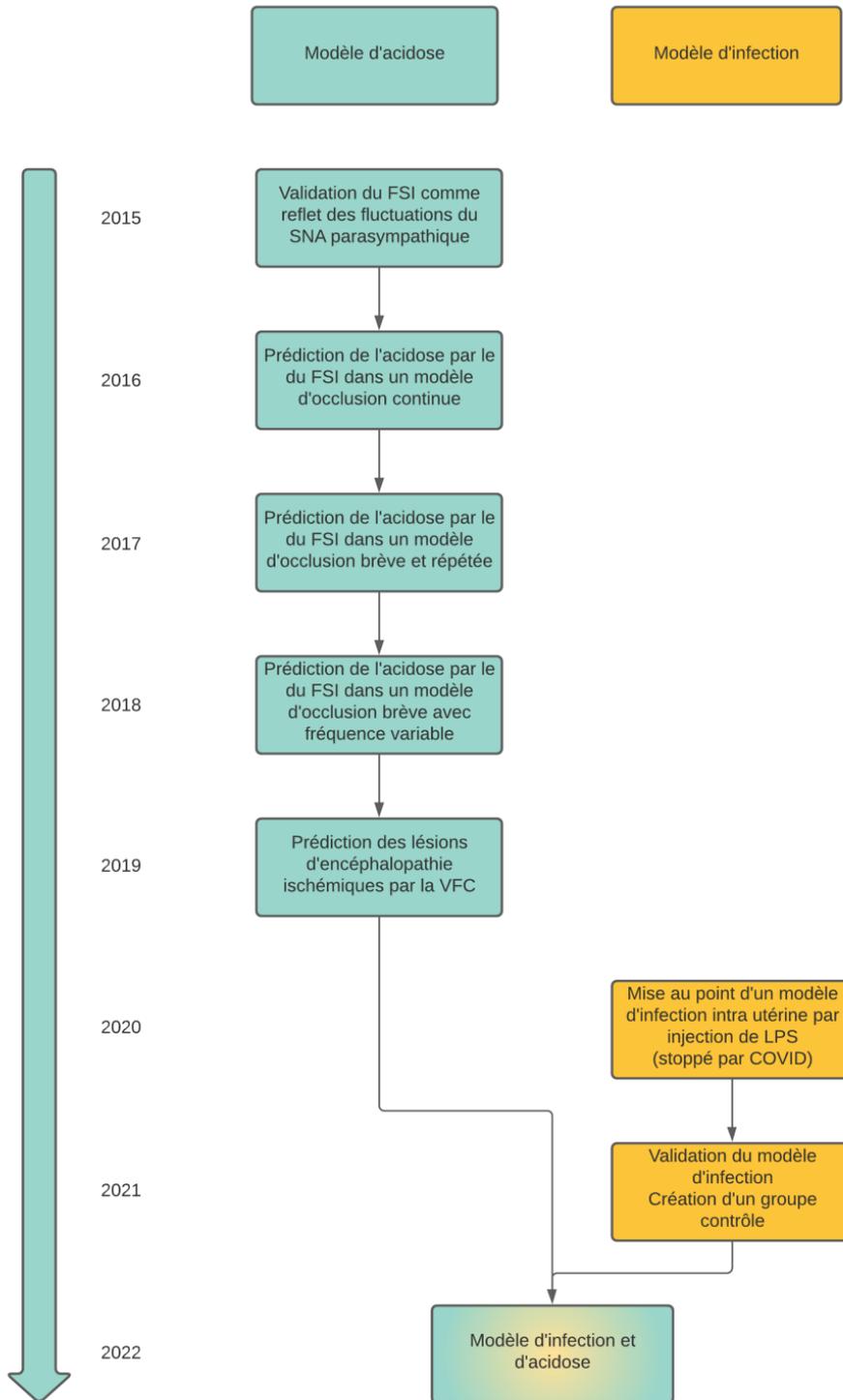


Figure I.5.2 : historique de développement du FSI

Partie 2 : Méthodologie

1. Modèle animal

L'étude expérimentale s'est déroulée au sein du Département Hospitalier et Universitaire de Recherche Expérimentale (DHURE) de Lille. Les brebis, issues de l'Institut Régional de la Recherche Agronomique (INRA) du domaine de Tours, ont été utilisées pour ce travail de recherche.

Les brebis gestantes, de race Île de France, étaient placées dans des box individuels sept jours avant l'intervention, avec un accès libre à l'eau et au foin. Elles recevaient une ration de 400 grammes de granulés deux fois par jour et faisaient l'objet d'une surveillance quotidienne par un zootechnicien. Un jeûne de 24 heures était instauré avant l'anesthésie générale nécessaire pour la procédure.

Les interventions chirurgicales avaient lieu en moyenne à 124 jours \pm 3 de gestation (pour une gestation complète de 140 jours). Un cathéter était installé dans la veine jugulaire de chaque brebis pour administrer 500 ml de solution de Ringer Lactate® en pré-anesthésie. Une prémédication de 0,3 mL/kg de Xylazine (Sedaxylan® 20 mg/mL, Dechra, Pays-Bas) était administrée avant d'induire l'anesthésie générale, laquelle commençait par ventilation au masque avec des gaz halogénés (Isoflurane, Aerrane®, Baxter, Maurepas, France). La brebis, intubée avec une sonde endotrachéale (n°9), bénéficiait alors d'une ventilation assistée durant l'intervention. Une sonde naso-gastrique était posée pour éviter toute inhalation accidentelle. La sédation se poursuivait par l'administration de gaz halogénés.

Une échographie était réalisée après la tonte afin de vérifier la vitalité fœtale, le stade gestationnel et le nombre de fœtus présents (Figure 2.1.a). Pour garantir l'analgésie durant

l'intervention, une dose de Buprénorphine (0,6 mL/10 kg, Bupaq[®], Virbac, France) était administrée par injection intramusculaire dès le début de l'intervention. De même, une prophylaxie antibiotique intramusculaire était effectuée avec une dose de 1 mL/10 kg d'Amoxicilline (Clamoxyl LA[®] 150 mg/mL, Zoetis, France).

Sous conditions d'asepsie stricte, une laparotomie suivie d'une hystérotomie était pratiquée en regard de l'un des membres (figure 2.1.a).



Figure 2.1.a : Technique chirurgicale : Abord du fœtus

A. Echographie fœtale

B. Laparotomie médiane

C. Hystérotomie avec suture des membranes amniotiques sur l'hystérotomie.

L'extraction d'un premier membre antérieur du fœtus était réalisée. Ensuite, une anesthésie locale était appliquée par injection sous-cutanée de 1 mL de chlorhydrate de lidocaïne à 10 mg/mL (Xylocaïne[®], Astrazeneca, Rueil-Malmaison, France). Une analgésie supplémentaire pour le fœtus était assurée par une injection intramusculaire de 0,3 mL de buprénorphine (Bupaq[®], Virbac, France) dans la région axillaire. Une fois l'incision réalisée dans cette zone et les vaisseaux axillaires fœtaux exposés, un cathéter de 4 Fr (Arrow, USA) était inséré dans l'artère axillaire. Un cathéter veineux était également placé dans la veine axillaire du même membre antérieur (figure 2.1.a). De l'autre côté, un second cathéter artériel était positionné dans l'artère axillaire controlatérale, selon la même technique. Ces cathéters artériels étaient introduits jusqu'à l'aorte pour permettre la surveillance des paramètres

hémodynamiques et les prélèvements sanguins fœtaux. Par ailleurs, l'accès axillaire permettait de fixer quatre électrodes (MYWIRE 10, MAQUET, Allemagne) sur les muscles intercostaux afin d'obtenir un enregistrement ECG (Figure 2.1.b).

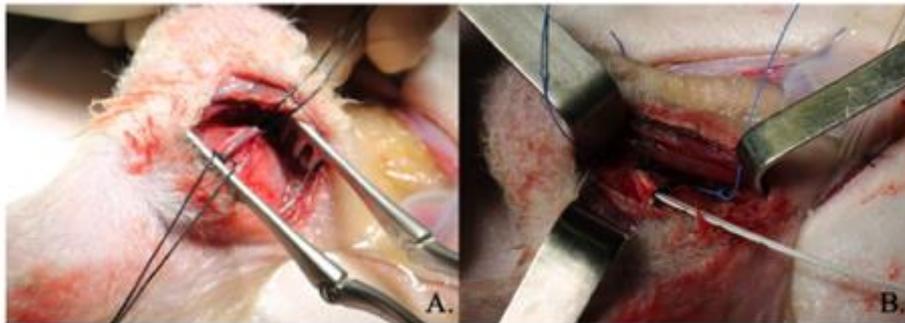


Figure 2.1.b : Technique chirurgicale : Abord axillaire

A. Exposition de l'artère axillaire fœtale

B. cathéters artériel et veineux et électrodes précordiales au niveau des muscles intercostaux.

L'installation d'un occluteur autour du cordon ombilical permettait d'exercer une compression du cordon en injectant du sérum physiologique (OC VO-16HD – DOCXS Biomedical Products – Ukiah, Californie) (Figure 2.1.c). Le volume maximal d'injection requis pour assurer une occlusion complète et hermétique était vérifié avant la mise en place de l'occluteur.



Figure 2.1.c : Technique chirurgicale : Mise en place de l'occluteur

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 pendant toute l'intervention. Le fœtus était entièrement replacé dans l'utérus. Un cathéter additionnel de 5 Fr (Arrow, USA) était inséré dans la cavité amniotique, permettant ainsi l'administration de 500 mg d'amoxicilline-acide clavulanique (Amoxicilline-acide clavulanique SANDOZ®, Sandoz, Levallois-Perret, France) directement dans le liquide amniotique. Ce cathéter intra-amniotique servait également à mesurer la pression de référence. Par la suite, l'utérus et la paroi abdominale étaient suturés par des surjets. Les cathéters, à la fois fœtaux et intra-amniotiques, étaient fixés à des prolongateurs et extériorisés au niveau du flanc latéral droit de la brebis par une tunnelisation sous-cutanée (Figures 2.1.d et 2.1.e).



Figure 2.1.d : Technique chirurgicale.

A. Hystérotomie fermée avec extériorisation des cathéters, de l'occluteur et des électrodes.

B. Cathéters, des électrodes et occluteur tunnelisés

C. Cathéters, des électrodes et occluteur dans une poche de protection sur le flanc droit de la brebis

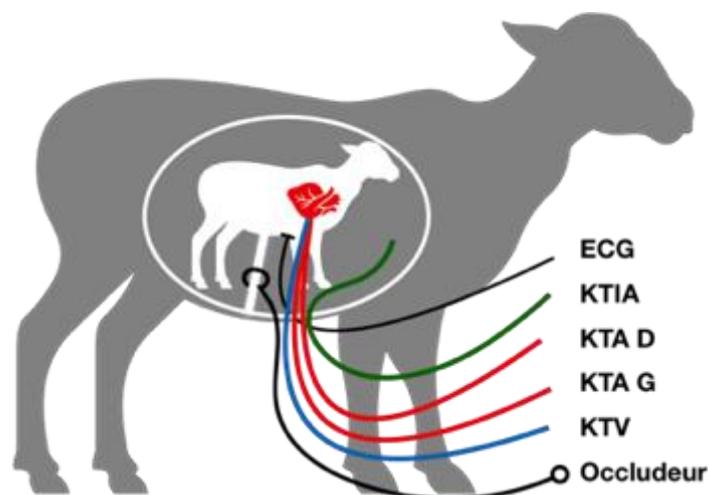


Figure 2.1.e : Schéma de l'instrumentation chronique du fœtus.

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 avaient de nouveau accès à l'eau et à la nourriture. Elles se levaient environ deux heures suivant la chirurgie. La perméabilité des cathéters fœtaux et de la voie jugulaire maternelle était entretenue par une injection de sérum physiologique hépariné 10UI/mL (Héparine CHOAY®5000UI, Sanofi-Aventis France, Paris). L'analgésie postopératoire était obtenue par une injection intramusculaire maternelle de 0,3mL/10kg de Buprénorphine (Bupaq®, Virbac, France) une fois par jour pendant deux jours après l'instrumentation. L'expérimentation ne débutait que quatre jours après la chirurgie, afin de garantir une récupération optimale pour la brebis et le fœtus.

2. Choix du modèle de syndrome de réponse inflammatoire fœtale

Pour induire un modèle de SRIF notre choix s'est porté sur l'utilisation de lipopolysaccharide (LPS). Le LPS est un composant majeur de la surface externe des bactéries à Gram négatif. Il joue un rôle essentiel dans la pathogénie de la bactérie et dans son intégrité structurale et fonctionnelle.

Trois entités composent le LPS (figure 2.2) :

- Le lipide A enchâssé dans la membrane externe. Il est la partie proximale du LPS
- Le noyau qui correspond à sa partie médiane
- L'antigène O qui se situe à sa partie distale « libre » dans le milieu extérieur

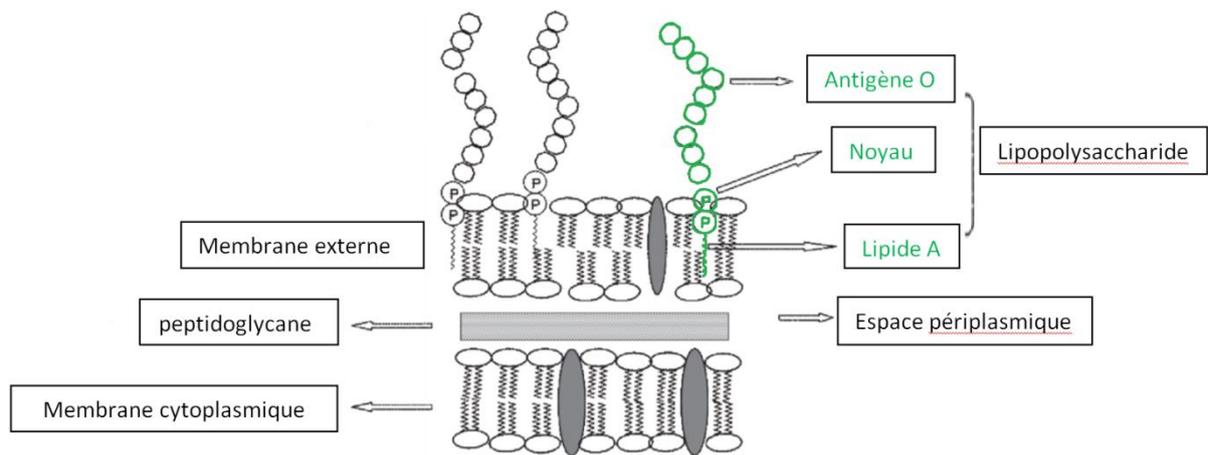


Figure 2.2 : structure de la membrane des bactéries à Gram négatif

Le système du complément et les anticorps sont capables de reconnaître l'antigène O. Le système du complément est un ensemble de protéines sériques qui, à la suite de leur activation, vont attirer les phagocytes, opsoniser les bactéries et former un complexe d'attaque membranaire qui va s'insérer dans la membrane externe des bactéries à gram négatif. La perturbation engendrée par ce complexe d'attaque membranaire va induire la lyse bactérienne. Cette lyse bactérienne va être responsable d'une libération de lipides A, de LPS ainsi qu'une hyperactivation du système du complément [57].

Le lipide A, également appelé endotoxine, est responsable du choc endotoxinique en déclenchant une réponse immunitaire non spécifique. Lorsqu'il se lie à la LBP (protéine de liaison au LPS), un complexe lipide A-LBP se forme, lequel se fixe ensuite aux macrophages via le récepteur TLR-4 (Toll-Like Receptor 4). Cette interaction déclenche la libération de cytokines pro-inflammatoires, telles que l'interleukine 1, l'interleukine 6, l'interleukine 8, le TNF α (facteur de nécrose tumorale alpha) et le facteur d'activation plaquettaire. Ces cytokines stimulent alors la production de médiateurs de l'inflammation, notamment les leucotriènes et les prostaglandines [57].

Le LPS a déjà été utilisé chez le fœtus de brebis pour obtenir des SRIF [58–60]. Les études s'intéressant à l'infection chez le fœtus de brebis ont principalement été faites chez le prématuré [61–64]. L'injection de LPS était administrée soit en intra veineux, soit dans le liquide amniotique. L'injection de LPS en IV servant de modèle de SRIF induisait une réaction plus aigüe. Les différentes études avec descriptions des paramètres hémodynamiques après injection de LPS chez le fœtus de brebis à terme ou proche du terme sont détaillées dans le tableau 2.2.

Titre Journal, Premier auteur, Année	Population	Modalités administration	Effets
<i>The change of fetal heart rate short-term variability during the course of histological chorioamnionitis in fetal sheep</i> Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol ; 2018 ; Kyosuka et al.	7 fœtus 111-120 j (Terme = 145j)	2 bolus intra amniotique de 40 mg de LPS à 24 h d'intervalle (<i>Escherichia coli</i> 055:B5 <u>endotoxin</u> ; Sigma Aldrich Co. LLC, St. Louis, Missouri, USA)	Décès en moyenne 24 h après la seconde infection de LPS Pas de modification de la FC Diminution du pH dans les 5 heures précédant le décès
<i>Does heart rate variability reflect the systemic inflammatory response in a fetal sheep model of lipopolysaccharide-induced sepsis?</i> Physiol Meas ; 2015 ; Durosier et al.	14 fœtus 126 jours (Terme = 145j)	2 injections de 400 ng de LPS IV à 24h d'intervalle (Sigma L5293, <i>Escherichia coli</i> O111:B4)	Pic d'IL6 à H3. Augmentation de la FC et diminution de la PAM à H6
Modifications ECG et de la variabilité de la <i>ECG and heart rate variability changes in preterm and near-term fetal lamb following LPS exposure</i> Reprod Sci 2008 Blad et al.	10 fœtus 121 ± 2.9 j (Terme = 147j)	1 bolus IV de 25 à 1000 ng	Augmentation de la PA à H2 Pas de modification de la FC du pH ni des lactates
<i>Interleukin-1 blockade attenuates white matter inflammation and oligodendrocyte loss after progressive systemic lipopolysaccharide exposure in near-term fetal sheep</i> <u>J Neuroinflammation.</u> ; 2021 ; Kelly et al.	26 fœtus 124-125 j (Terme =145j)	Injection IV répétées (0 h = 300 ng, 24 h = 600 ng, 48 h = 1200 ng, ; (<i>Escherichia coli</i> , 055:B5, MilliporeSigma, MO, USA)	Augmentation de la FC des H2 Diminution de le PA à partir de H4 Augmentation de l'IL6 des H6
<i>Intrauterine inflammation alters fetal cardiopulmonary and cerebral haemodynamics in sheep</i> J Physiol ; 2013 ; Galinsky et al.	7 fœtus 118 days (Terme = 147 j)	20 mg de LPS (<i>Escherichia coli</i>) intra amniotique	Pas de modification de la FC Augmentation légère des lactates des H4 Diminution du flux sanguin pulmonaire à J4
<i>Endotoxin has acute and chronic effects on the cerebral circulation of fetal sheep</i> Developmental physiology and pregnancy; 2009 ; Feng et al.	5 fœtus 125 +/-1j (Terme = 147 j)	3 injections IV à 24h d'intervalle (LPS; 1 µg/kg iv LPS (1 µg/kg; <i>Escherichia coli</i> O127-B8, L3129; Sigma)	4 décès / 9 Diminution de la PA de H4 à H24 Augmentation du TNF-α de H1 à H6

Tableau 2.2 : Description des études ayant évalué l'impact hémodynamique après injection de LPS chez le fœtus de brebis à terme ou proche du ter

Pour obtenir un modèle de SRIF, nous avons choisi d'utiliser la même procédure que Durosier et al [58]. Dans leur étude, une injection de 10 mg de LPS (Souche E. coli O 111: B4, Sigma Aldrich) chez des fœtus proches du terme, permettait l'obtention d'un SRIF comme l'attestait l'augmentation d'IL6. Ce SRIF apparaissait dès H3 et n'était pas compliqué d'un choc septique ni d'une décompensation cardiocirculatoire. L'objectif était à la fois que le SRIF soit suffisamment sévère pour que des complications neurologiques soient à craindre mais sans induire une défaillance cardiocirculatoire. La défaillance cardiocirculatoire ayant un retentissement majeur sur le rythme cardiaque fœtal, sa détection par l'analyse la VFC nous semble moins pertinente.

3. Protocoles expérimentaux

a) Période de stabilité et relevé des données

Durant les procédures expérimentales, le premier temps était de s'assurer du bien-être fœtal et maternel par un relevé des paramètres hémodynamiques (fréquence cardiaque (FC) et pression artérielle moyenne (PAM)) sur une période de stabilité d'une heure. Celle-ci permettait également la vérification de l'équilibre acido-basique fœtal. Les gaz du sang fœtaux étaient réalisés sur des échantillons de sang artériel prélevés sur un des cathéters. Les gaz du sang fœtaux ont été analysés à partir d'échantillons de sang artériel prélevés via l'un des cathéters. Les valeurs gazométriques (pH, PO₂, PCO₂, excès de bases (BE) et lactates) étaient mesurées par micro-méthode à l'aide de l'appareil I-STAT® (Abbott Laboratories, Abbott Park, IL, USA). Les cathéters artériels fœtaux et intra-amniotiques étaient reliés à des capteurs de pression (Pressure Monitoring Kit, Baxter), eux-mêmes connectés à un moniteur d'anesthésie intégrant de multiples paramètres (Merlin Monitor, Hewlett Packard, Palo Alto, CA, USA).

L'ensemble des données hémodynamiques était enregistré grâce via le logiciel Physiotrace® [65] (Figure 2.3). Pendant les différents protocoles le rythme cardiaque fœtal était enregistré en continu. Les paramètres hémodynamiques et gazométriques étaient relevés régulièrement (20 minutes à une heure en fonction des protocoles).



Figure 2.3 : Installation pour le protocole expérimental

b) Modèle de syndrome de réponse inflammatoire fœtale

Pour induire un SRIF, 2 ml avec 400 ng de LPS d'E.coli (Souche E. coli O 111: B4, Sigma Aldrich) était injecté via le cathéter veineux. Ce modèle décrit par Durosier et el permettait d'obtenir un SRIF modéré sans décompensation cardiocirculatoire [58] (cf Partie 2.2 [Méthodologie/Modèle de SRIF](#)).

c) Modèle d'hypoxie progressive

Le protocole d'hypoxie fœtale était obtenu par des occlusions cordinales totales (OCT) répétées d'une durée d'une minute. Celles-ci étaient obtenues par l'injection d'une solution isotonique dans l'occluseur. La période d'OCT légères correspondait à des OCT répétées toutes les cinq minutes. La seconde période, dite d'OCT modérée, correspondait à des OCT

répétées toutes les trois minutes. Enfin, la dernière phase, dite d'OCT sévère, correspondait à une OCT toutes les deux minutes. Les analyses de VFC sont connues pour être sensibles aux changements rapides et transitoires de la fréquence cardiaque. Pour éviter tout risque d'artefacts, après six OCT, une période de cinq minutes sans OCT était enregistrée. Le protocole était arrêté en cas de $\text{pH} < 6.95$. Le pH était contrôlé toutes les 20 minutes. Les paramètres hémodynamiques, gazométriques et la VFC étaient relevés de manière régulière avant, pendant et après les occlusions.

d) Sacrifice

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

4. Ethique

Les protocoles d'anesthésie, de chirurgie et d'expérimentation étaient conformes aux recommandations du ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche. L'étude a été approuvée par le Comité d'Ethique de l'Expérimentation Animale (Agrément N° 2016121312148878).

5. Données complémentaires

Titre : Corrélation entre un nouvel indice reflétant l'activité parasympathique et l'acidose.

Évaluation chez le fœtus de brebis

Correlation of a new index reflecting the fluctuation of parasympathetic tone and fetal acidosis in an experimental study in a sheep model

Journal : PLoS One 2018

Garabedian et al.

Objectif : évaluer le FSI comme prédicteur de l'état acido-basique du fœtus

Méthodologie : Chez des fœtaux instrumentés de façon chronique (n = 11, chirurgie à 128 +/- 2 jours d'âge gestationnel, terme = 145 jours), des occlusions partielles de 75 % du cordon ombilical pendant un maximum de 120 minutes ou jusqu'à ce qu'un pH artériel $\leq 7,20$ soit atteint étaient réalisées. Le FSI était calculé pendant les 10 minutes avant les prélèvements du pH et comparé aux valeurs du pH. Les valeurs minimales, maximales et moyennes du FSI (respectivement FSImin, FSImax et FSImean) étaient calculées.

Résultats : 11 fœtus de brebis ont été analysés. Le FSImin était de 38,6 (35,2-43,3) dans le groupe pH > 7,20 et était plus élevé dans le groupe pH inférieur à 7,20 (46,5 (43,3-52,0), p = 0,012). La corrélation de FSImin était significative pour le pH artériel (coefficient de -0,671 ; p = 0,004) et pour l'excès de base (coefficient de -0,632 ; p = 0,009).

Conclusion : Le FSI est corrélé à l'état acido-basique du fœtus.

Titre : Réponse du système nerveux parasympathique à l'acidose : Évaluation chez le fœtus de brebis

Parasympathetic nervous system response to acidosis: Evaluation in an experimental fetal sheep model

Journal : Acta Obstet Gynecol Scand 2019

Auteurs : Ghesquière et al.

Objectif : explorer la capacité du FSI à prédire l'acidose fœtale en cas d'hypoxie induite par des occlusions cordoniales totales (OCT).

Méthodologie : Des OCT répétées du cordon ombilical d'une minute ont été réalisées toutes les 2,5 minutes pendant 3 heures pour générer une acidose fœtale imitant celle qui se produit pendant les contractions. Les données ont été analysées sur trois intervalles de temps en raison de la variation de la durée des expériences : période A (12 premières UCO), période B (12 OCT au milieu) et période C (12 dernières UCO).

Résultats : Neuf expériences ont été réalisées. L'acidose était progressive avec une différence significative entre le pH, les niveaux de lactate et les valeurs de déficit de base pour les trois périodes d'occlusion (P < 0,05). Le FSI et l'ampleur des ralentissements du rythme cardiaque fœtal ont progressivement augmenté pendant les OCT et différaient tous deux de manière significative entre les périodes A et C (P = 0,0008 pour le FSI).

Conclusion : L'activité du système nerveux parasympathique augmente pendant l'acidose et peut être mesurée à l'aide du FSI

Titre : Réponse du système nerveux autonome à l'acidose fœtale à l'aide d'un modèle expérimental de brebis.

Autonomic response to fetal acidosis using an experimental sheep model

Journal : Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol 2020

Auteurs : Vanspranghels et al.

Objectif : évaluer la capacité de différentes analyses de VFC et des ralentissements pour prédire l'acidose fœtale pendant le travail

Méthodologie : Des OCT d'une durée totale de 1 minute ont été réalisées pendant 3 périodes : la période d'OCT légères (1 minute toutes les 5 minutes), modérées (1 minute toutes les 3 minutes) et sévères (1 minute toutes les 2 minutes) jusqu'à ce que le pH artériel atteigne 7,10. L'analyse de la VFC comprenait différents indices : le SDNN, le RMSSD, la VCT, les HF, les BF et le FSI. Trois groupes de pH ont été définis et comparés : >7,20, 7,10-7,20, et <7,10.

Résultats : Onze expériences ont été réalisées. L'indice de stress fœtal était corrélé au pH et aux lactate ($p < 0,05$) et augmentait avec l'acidose. Il n'y avait pas de corrélation significative entre le pH, les lactates et les autres indices.

Conclusion : le FSI évolue en fonction de l'acidose et reflète l'augmentation de l'activité du système nerveux parasymphatique en réponse à l'acidose fœtale.

Titre : Les marqueurs du rythme cardiaque pour la prédiction de l'acidose fœtale chez le fœtus de brebis

Heart rate markers for prediction of fetal acidosis in an experimental study on fetal sheep

Journal : Sci Rep 2022

Auteurs : Ghesquière et al.

Objectif : Évaluer les paramètres de VFC pour la prédiction de l'hypoxie fœtale

Méthodologie : Des OCT étaient réalisées pour atteindre une acidose sévère. Les variables utilisées étaient la fréquence cardiaque de base, l'analyse du VRC (RMSSD, SDNN, LF, HF, HFnu, Fetal Stress Index (FSI) et l'analyse morphologique des ralentissements. L'hypoxie était définie par un pH artériel fœtal ($pH < 7,10$). Différentes méthodes statistiques multivariées (régression logistique et arbres de décision) ont été appliquées pour la détection de l'acidose.

Résultats : 21 agneaux ont été instrumentés. Au total, 130 paires d'analyses VFC/pH fœtal ont été obtenues, dont 29 dans le groupe acidose et 101 dans le groupe non-acidose. Après un modèle de régression logistique avec rééchantillonnage bootstrap et sélection rétrospective par étapes, une seule variable a été sélectionnée : le FSI. L'aire sous la courbe du FSI seul était de 0,81 avec une sensibilité de 0,66, une spécificité de 0,88, une VPP de 0,61 et une VPN de 0,90 en considérant un seuil de 68. Les arbres de décision avec les algorithmes CHAID et CART ont montré une sensibilité de 0,48 et 0,59, respectivement, et une spécificité de 0,94 pour les deux.

Conclusion : Toutes les méthodes employées ont identifié les indices de VFC comme étant les plus prédictives de l'acidose. L'utilisation de la VFC semble donc être efficace pour le dépistage de l'acidose fœtale pendant le travail.

Titre : Associations entre la variabilité du rythme cardiaque fœtal et les lésions neuronales induites par l'occlusion du cordon ombilical : Une étude expérimentale chez le fœtus de brebis

Associations between fetal heart rate variability and umbilical cord occlusions-induced neural injury: An experimental study in a fetal sheep model

Journal : Acta Obstet Gynecol Scand 2022

Auteurs : Ghesquière et al.

Objectif : Evaluer l'association entre la VFC et la survenue d'une encéphalopathie hypoxique-ischémique

Méthodologie : Des OCT progressives en trois phases (A, B, C) permettait d'atteindre une acidose (pH <7,00). Le tronc cérébral et la moelle épinière du fœtus ont fait l'objet d'une évaluation histopathologique à 48 heures des OCT.

Résultats : Des lésions cérébrales anoxiques-ischémiques aiguës dans toutes les régions étaient présentes chez 7/9 fœtus. Des lésions neurales spécifiques ont été observées chez 3/9 fœtus. Le nombre de lésions du tronc cérébral était en corrélation significative et inverse avec le FSI ($r = -0,784$; $p = 0,021$) dans la phase C et avec la VLT ($r = -0,677$; $p = 0,045$) et la VCT ($r = -0,837$; $p = 0,005$) dans la phase B. Le nombre de lésions neurologiques n'était pas en corrélation significative avec d'autres marqueurs de la VFC.

Conclusion : Les lésions neurales causées par une hypoxie sévère étaient associées à des modifications de la VFC dont le FSI.

Titre : Evolution de la S100B et des troponines dans un modèle d'acidose progressive chez le fœtus de brebis

Changes in S100B and troponin levels in a fetal sheep model of worsening acidosis

Journal : Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol 2021

Auteurs : Ould Hamoud et al.

Objectif : évaluer les changements in-utéro des niveaux de S100B et de c-TnT dans un modèle expérimental d'acidose de type travail.

Méthodologie : Des OCT ont été réalisées chez 10 fœtus, avec des périodes d'OCT légères (phase A, 1 OCT /5 mn), modérées (phase B, 1 OCT /3 mn) et sévères (phase C, 1 OCT /2 mn).

Résultats : En comparaison à la période de stabilité, la S100B fœtale augmentait entre les phases A et B ($7 \% \pm 4$ contre $17 \% \pm 13$, $p = 0,030$) et entre les phases A et C ($7 \% \pm 4$ contre $24 \% \pm 8$, $p < 0,001$). Les taux sériques de c-TnT fœtale ont augmenté pendant les occlusions : 102 ng/L (58-119) dans la phase A, vs 119 ng/L (103-198) dans la phase B vs 169 ng / L (128-268) dans la phase C ($p < 0,05$, pour tous).

Conclusion : La S100B et la c-TnT ont augmenté au cours de l'acidose fœtale, ce qui reflète les dommages neurologiques potentiels et l'adaptation cardiovasculaire du fœtus.

Tableau Supplémentaire 2.5.2 : Principales publications de l'unité de recherche sur l'analyse de la variabilité de la fréquence cardiaque chez le fœtus de brebis

SDNN = Déviation Standard des intervalles NN (standard deviation of normal to normal, R-R intervals), RMSSD = Racine carrée de la Moyenne des carrés des différences entre intervalles NN successifs (root mean square of successive differences, SD1 = déviation standard 1 (Standard Deviation 1), SD2 = déviation standard 2 (Standard Deviation 2), (Approximate Entropy), VCT = variabilité à court terme, VLT = variabilité à long terme

Partie 3 : Validation de notre modèle de syndrome de réponse inflammatoire fœtale et étude de la variabilité de la fréquence cardiaque en cas de syndrome de réponse inflammatoire fœtale isolé

Early heart rate variability changes during acute fetal inflammatory response syndrome: An experimental study in a fetal sheep model.

Chevalier G, Garabedian C, Pekar JD, Wojtanowski A, Le Hesran D, Galan LE, Sharma D, Storme L, Houfflin-Debarge V, De Jonckheere J, Ghesquière L.

PLoS One. 2023 Nov 30;18(11):e0293926. doi: 10.1371/journal.pone.0293926.

1. Objectifs

Le premier objectif de ce travail était de valider notre modèle de SRIF aigu chez le fœtus de brebis. Le second objectif était d'étudier les modifications de la VFC en cas de SRIF aigu. Notre hypothèse était que l'analyse de la VFC pourrait être utilisée pour la détection précoce du SRIF aigu.

2. Matériel et méthodes

a) Préparation chirurgicale et protocole expérimental

Le modèle chirurgical animal expérimental est celui décrit dans la partie 2.1 ([Méthodologie, Modèle animal](#)).

Le SRIF était obtenu par une injection intraveineuse de 2 ml de LPS d'E.coli (Souche E. coli O 111: B4, Sigma Aldrich) dans le cathéter veineux. Le groupe témoin était obtenu par une injection de 2 ml de sérum physiologique. Des relevés hémodynamiques, gazométriques et de VFC étaient réalisés pendant une heure (période de stabilité) puis toutes les heures pendant six heures après l'injection (Figure 3.2.a).



Figure 3.2.a : protocole expérimental LPS vs témoin

-  Prélèvement sanguin toutes les heures pendant 6 heures
-  Injection de sérum physiologique/LPS

b) Analyses de la variabilité de la fréquence cardiaque

Les quatorze marqueurs de la VFC étudiés étaient : le SDNN, le RMSSD, les LH, les HF, Le LF/HF ratio, la SD1, la SD2, le ratio SD, DFA α 1, DFA α 2, l'ApEn, la VCT, la VLT et le FSI. L'acquisition et la description des indices de VFC ont été décrites dans la partie 1.3 (Données générales, Indices de VFC).

c) Mesure des paramètres sanguins

Les gaz du sang fœtaux étaient analysés à partir d'échantillons de sang artériel prélevés via l'un des cathéters artériels. Les mesures de pH, de PaO₂, de PCO₂, de l'excès de bases (BE) et des lactates plasmatiques étaient réalisées par micro-méthode à l'aide de l'appareil I-STAT® (Abbott Laboratories, Abbott Park, IL, USA).

Les concentrations sériques d'IL-6 étaient déterminées à l'aide d'un test ELISA spécifique aux ovins (ELISA KIT for interleukin 6, SEA079ov, Cloud-Clone Corp., Katy, TX, USA). Les échantillons de sang collectés étaient centrifugés à 3500 g pendant 10 min et le surnageant était stocké à -80°C jusqu'à l'analyse. La microplaque du kit était pré-enduite d'un anticorps spécifique de l'IL-6. Conformément aux instructions du kit, un anticorps conjugué à la biotine

spécifique de l'IL-6 (100 µl) était ajouté aux puits de la microplaque et incubé pendant 1 h à 37°C. Après trois étapes de lavage, l'avidine conjuguée à la peroxydase de raifort était ajoutée à chaque puits de la microplaque et incubée pendant 30 min à 37°C. Après cinq lavages, une solution de substrat de 5'-tétraméthylbenzidine (90 µl) était ajoutée et incubée pendant 10 à 20 min à 37 °C. La réaction enzyme-substrat était interrompue par l'ajout d'une solution d'acide sulfurique (50 µl). Enfin, la densité optique était mesurée par spectrophotométrie à une longueur d'onde de 450 nm. La plage de détection de l'IL-6 était de 7,8 à 500 pg/ml avec une précision intra-dosage de 10 % et une précision inter-dosage de 12 %. Lorsque la limite maximale était atteinte, une nouvelle dilution était effectuée avec une solution saline. La dilution maximale était de 1/20.

d) Analyses statistiques

Les données numériques ont été décrites en médiane (premier et troisième quartiles). Les différences entre les mesures avant et après l'injection de LPS/sérum physiologique (H0 à H6) étaient évaluées à l'aide d'un test non paramétrique de Friedman pour les mesures répétées. Si la différence retrouvée était significative ($p < 0,5$), il était alors réalisé un test de Wilcoxon. Les comparaisons entre le groupe LPS et le groupe témoin ont été effectuées par un test de Mann-Whitney. Les différences étaient considérées comme significatives lorsque p était inférieur à 0,05. Les données ont été analysées à l'aide de la version 4.3.2 de R.

3. Résultats

a) Population d'étude

Vingt-deux fœtus ont été instrumentés (cf Diagramme de flux 3.2.a). Deux fœtus sont décédés lors de l'instrumentation, un troisième est décédé au troisième jour post opératoire. Dix-neuf procédures expérimentales ont pu être réalisées : dix dans le groupe LPS et neuf dans le

groupe témoin. Dans le groupe LPS, un fœtus est décédé au cours de l'expérimentation et un autre a été exclu pour retard de croissance intra-utérin sévère. Dans le groupe témoin, un fœtus a été exclu pour défaut technique d'enregistrement de la VFC et un second pour un taux IL-6 élevé à H0 avant toute injection. Au total, huit fœtus du groupe LPS et sept fœtus du groupe témoin ont été inclus dans les analyses.

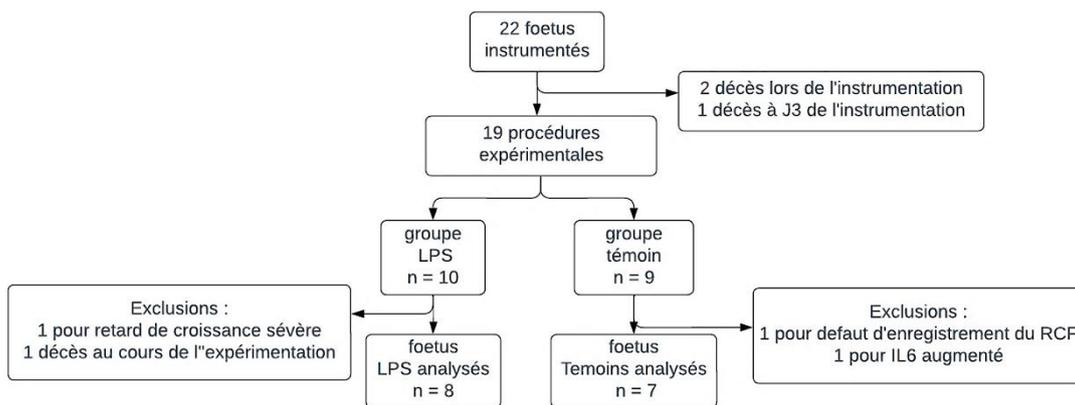


Figure 3.2.a Diagramme de flux
OCT = occlusions cordoniales totales, LPS = lipopolysaccharides

Le poids maternel médian était de 75,5 kg [72,5 ; 78,0]. Le poids fœtal médian était de 3830 g [3625 ; 4092]. L'âge gestationnel lors de la procédure expérimentale était précisément de 129 jours pour tous les fœtus. Dans le groupe témoin, 5/7 fœtus étaient des mâles et 2/7 étaient des singletons. Dans le groupe LPS, 6/8 fœtus étaient des mâles et 3/8 étaient des singletons.

b) Modifications hémodynamiques

La comparaison des mesures hémodynamiques dans le groupe LPS de H1 à H6 par rapport à la stabilité (H0), et la comparaison entre les groupes LPS et témoin sont présentées dans la figure 3.3.b et en données complémentaires dans le tableau 3.6.a.

La FC et la PAM étaient normales pendant la période de stabilité sans différence entre les deux groupes. Dans le groupe LPS, la FC était significativement plus élevée à H5 (196 bpm [182 ; 209], $p = 0,01$) et H6 (203 bpm [187 ; 223], $p = 0,01$) en comparaison à la période de stabilité (173 bpm [170 ; 178]). Dans le groupe LPS, la PAM était mesurée à 45,5 mmHg [43,7 ; 48,5] à H0 et à 41,0 mmHg [40,0 ; 42,2] à H6 sans que cette différence soit significative ($p = 0,07$).

Concernant la comparaison entre les 2 groupes, la FC était significativement plus élevée à H6 dans le groupe LPS (203 bpm [187 ; 223]) par rapport au groupe témoin (181 bpm [177 ; 188], $p = 0,02$). La PAM était significativement plus basse à H6 dans le groupe LPS (41,0 mmHg [40,0 ; 42,2]) en comparaison au groupe témoin (47,0 mmHg [43,0 ; 55,5], $p = 0,04$).

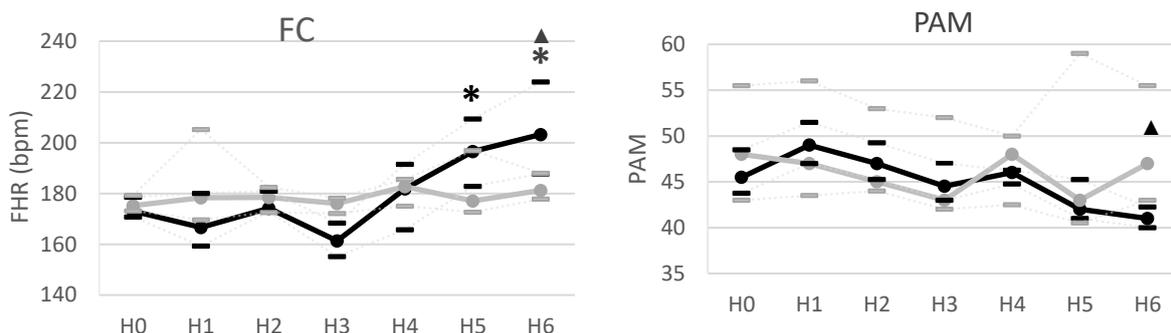


Figure 3.3.b : Évolution des mesures hémodynamiques dans le groupe LPS et le groupe témoin
 Groupe LPS en noir ($n = 8$); Groupe témoin en gris ($n = 7$) pendant la période de stabilité (H0), H1, H2, H3, H4, H5, H6 après injection de LPS (groupe LPS) ou injection de sérum physiologique (groupe témoin). FC = fréquence cardiaque fœtale. Les données sont présentées sur la médiane avec une plage interquartile.

Les comparaisons entre la phase de stabilité et H1 à H6 ont été effectuées, dans le groupe LPS et le groupe témoin, à l'aide d'un test de Wilcoxon si le test de Friedman non paramétrique retrouvait une différence significative ($p < 0,05$).

* $p < 0,05$ en comparaison à la phase de stabilité (H0) dans le groupe LPS. Aucune modification significative n'a été retrouvée dans le groupe témoin.

Les comparaisons entre le LPS et le groupe témoin ont été effectuées à l'aide d'un test de Mann-Whitney.

▲ = $p < 0,05$ entre les groupes LPS et témoin.

c) Modifications gazométriques et biochimiques

Les comparaisons des paramètres biochimiques et des gaz sanguins sont présentées dans la figure 3.3.c et détaillées ci-dessous. Les données complètes sont disponibles dans les données complémentaires (figures 3.6)

c.1. Comparaisons intra groupes

Le pH et les lactates étaient normaux pendant la période de stabilité dans les deux groupes. Dans le groupe LPS, le pH était significativement diminué, en comparaison à la période de stabilité (H0=7,39 [7,39 ; 7,40]), de H1 à H6 (H1=7,39 [7,37 ; 7,39], p=0,04 ; H6=7,33 [7,30 ; 7,35], p=0,01). Les lactates étaient significativement augmentés, en comparaison à la période de stabilité (H0=2,19 mmol/L [1,99 ; 2,5]), de H2 à H6 (H2=3,16 mmol/L [2,69 ; 3,85], p=0,01 ; H6=5,65 mmol/L [4,88 ; 8,42], p = 0,01).

La PO2 était significativement diminuée, en comparaison à la période de stabilité (17,0 mmHg [15,7 ; 21,2]), à H4 (16,0 mmHg [14,0 ; 18,0], p = 0,05), H5 (16,5 mmHg [13,7 ; 17,2], p = 0,042) et H6 (16,5 mmHg [15,0 ; 18,2], p = 0,035). La PCO2 était significativement augmentée, en comparaison à la période de stabilité (H0=47,6 mmHg [45,7 ; 49,1]), de H2 à H6, (H2=51,7 mmHg [49,0 ; 52,5] ; H6=51,8 mmHg [50,0 ; 56,9]), p = 0,01). L'IL-6 était significativement augmentée, en comparaison à la période de stabilité (H0<7,8 pg/ml), de H1 à H6 (H1=54,1 pg/ml [21,7 ; 79,2] ; H6=3340 pg/ml [1970 ; 3801], p = 0,01).

Dans le groupe témoin, il n'y avait aucune modification significative du pH, de la pO2, de la pCO2 ou de l'IL-6. Les lactates étaient légèrement mais significativement inférieurs à la période de stabilité (2,55 mmol/L [2,46 ; 2,73]), de H3 (2,00 mmol/L [1,90 ; 2,22], p = 0,016) à H6 (2,09 mmol/L [1,87 ; 2,29], p = 0,016).

c.2. Comparaisons inter groupes

Dans le groupe LPS, en comparaison au groupe témoin, le pH était significativement plus bas de H1 à H6 et les lactates plus élevés de H2 à H6. À H3, la pO₂ était significativement inférieure ($p = 0,03$) et la pCO₂ supérieure ($p < 0,01$). L'IL6 était significativement plus élevée de H1 à H6 ($p < 0,01$).

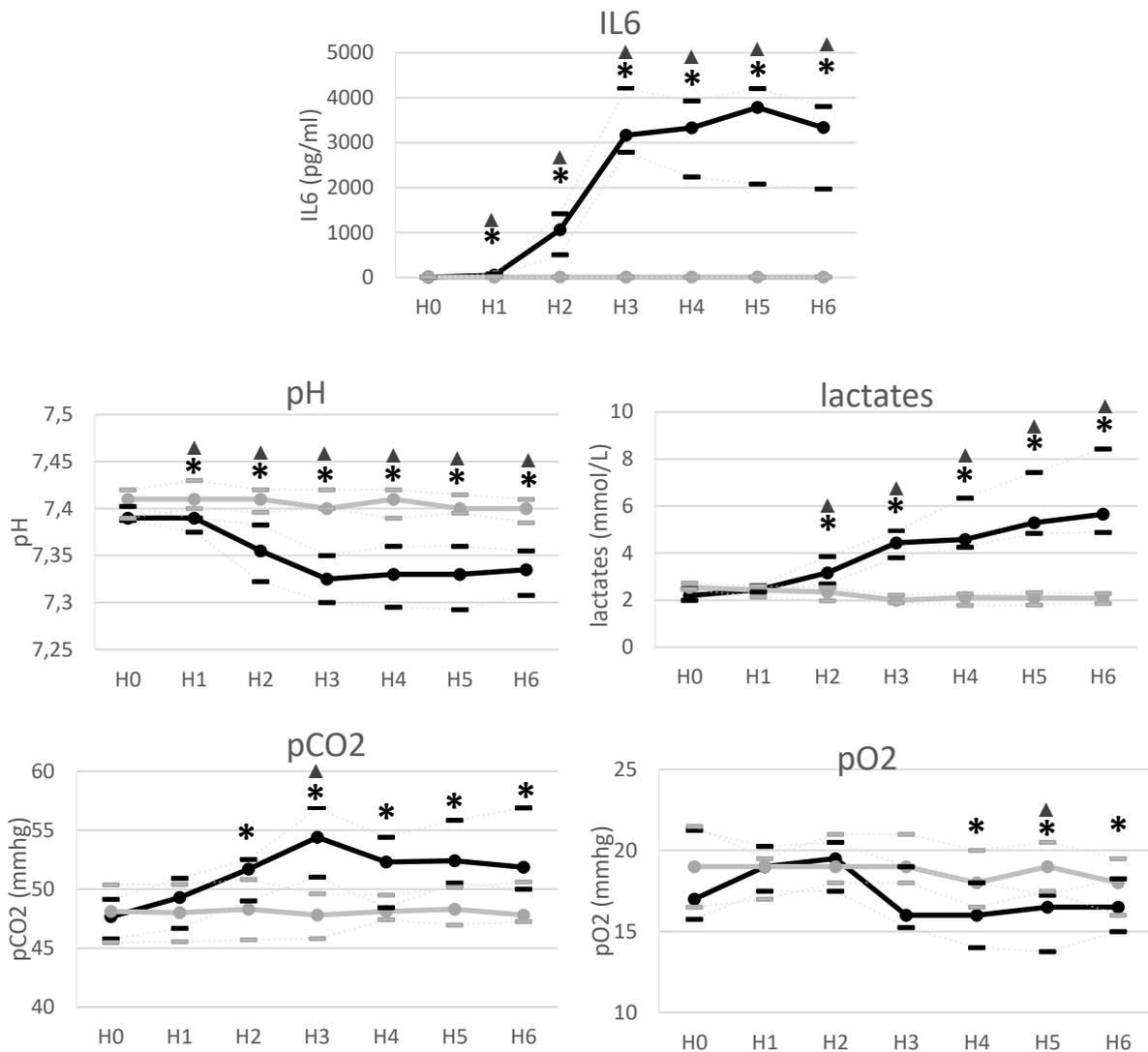


Figure 3.3.c : Évolution des paramètres du gaz sanguins et biochimiques dans le groupe LPS et le groupe témoin

Groupe LPS en noir (n = 8); Groupe témoin en gris (n = 7) pendant la période de stabilité (H0), H1, H2, H3, H4, H5, H6 après injection de LPS (groupe LPS) ou injection de sérum physiologique (groupe témoin). IL-6 = interleukine 6. Les données sont présentées sur la médiane avec une plage interquartile.

Les comparaisons entre la phase de stabilité et H1 à H6 ont été effectuées, dans le groupe LPS et le groupe témoin, à l'aide d'un test de Wilcoxon si le test de Friedman non paramétrique retrouvait une différence significative ($p < 0.05$). * $p < 0,05$ en comparaison à la phase de stabilité (H0) dans le groupe LPS. Aucune modification significative n'a été retrouvée dans le groupe témoin.

Les comparaisons entre le LPS et le groupe témoin ont été effectuées à l'aide d'un test de Mann-Whitney. ▲ = $p < 0,05$ entre les groupes LPS et témoin.

d) Indices de variabilité de la fréquence cardiaque

Les mesures de VFC du groupe LPS et du groupe témoin sont représentées dans les figures

3.3.d. Les données complètes sont disponibles en données complémentaires (tableau 3.3.d)

En comparaison à la période de stabilité, cinq mesures de VFC étaient significativement modifiées, au moins une fois, au cours des six heures après l'injection de LPS : le SDNN, DFA α 1, DFA α 2, la SD2 et la VLT. Aucune modification significative n'était trouvée pour les autres mesures de VFC dans le groupe LPS. Dans le groupe témoin, aucune mesure de VFC n'était significativement différente, en comparaison à la période de stabilité.

Cinq indices de VFC étaient, au moins une fois, significativement différents, au cours des six heures après l'injection de LPS, en comparaison au groupe témoin : le SDNN, DFA1 α , DFA α 2, l'Apen et la VLT.

d.1. Le SDNN, la VLT et SD2

Le SDNN était significativement augmenté, en comparaison à la période de stabilité ($H_0=8,07$ ms [6,11 ; 10,0]), de H2 à H4 ($H_2=13,8$ ms [7,98 ; 18,0], $p < 0,01$, $H_3=15,7$ ms [12,6 ; 29,3], $p < 0,01$ et $H_4 = 15,3$ ms [10,6 ; 17,4], $p = 0,04$). Le SDNN était significativement augmenté à H6 (9,50 [8,80 ; 13,0] vs 13,5 [11,1 ; 16,3], $p = 0,02$) dans le groupe LPS, en comparaison au groupe témoin.

La SD2 était significativement augmenté, en comparaison à la période de stabilité ($H_0=0,98$ [0,79 ; 1,20]), de H2 à H4 ($H_2=1,81$ [1,01 ; 2,35], $p < 0,01$, $H_3=2,01$ [1,70 ; 2,91], $p < 0,01$ et $H_4=2,04$ [1,33 ; 2,33], $p < 0,01$).

La VLT était significativement augmentée, en comparaison à la période de stabilité ($H_0=31,0$ ms [25,0 ; 37,0]), de H2 à H4 ($H_2=49,3$ ms [32,2 ; 63,3], $p = 0,02$, $H_3=56,6$ ms [51,9 ; 75,2], $p <$

0,01 et H4=58,1 ms [40,8 ; 64,1], $p < 0,01$). La VLT était significativement augmentée à H2 (49,3 [32,2 ; 63,3] vs 33,0 [26,8 ; 42,7], $p = 0,04$) et H4 (58,1 [40,8 ; 64,1] vs 41,2 [34,8 ; 48,3], $p < 0,01$) dans le groupe LPS, en comparaison au groupe témoin.

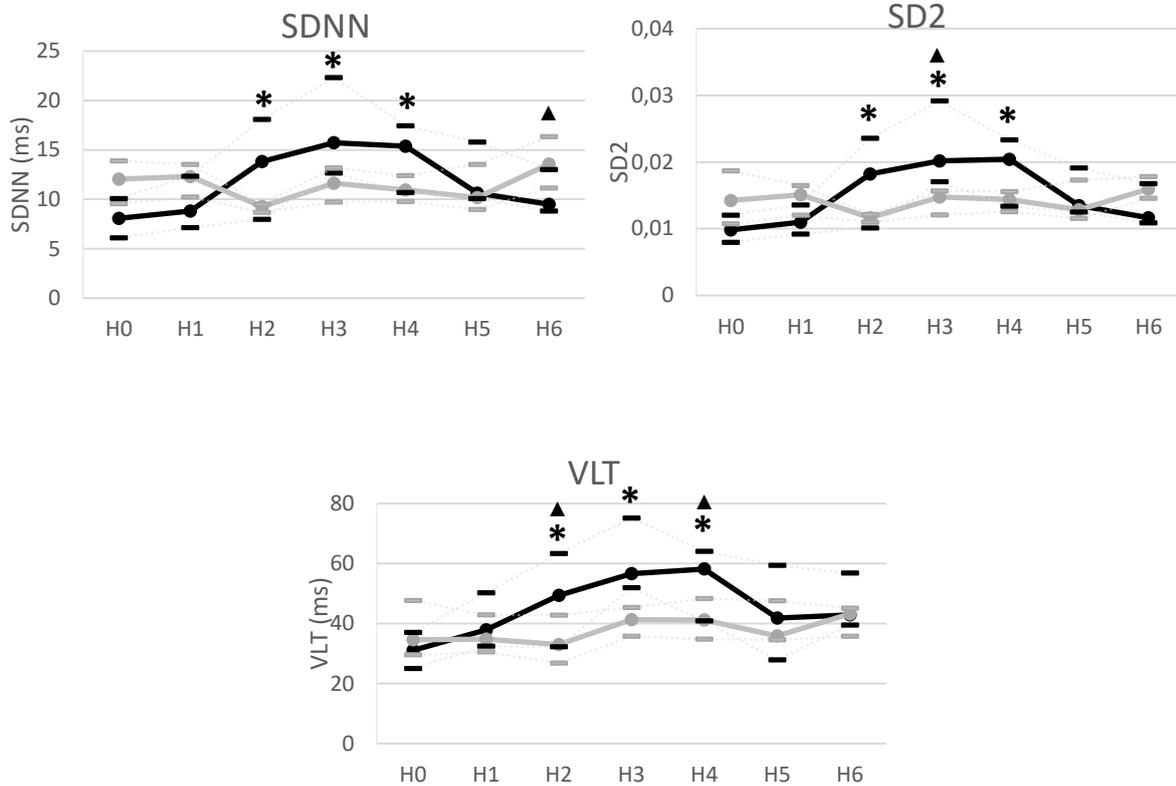


Figure 3.3.d.1 : Évolution du SDNN, de la SD2 et de la VLT dans le groupe LPS et le groupe témoin
 Groupe LPS en noir ($n = 8$); Groupe témoin en gris ($n = 7$) à la phase de stabilité (H0), H1, H2, H3, H4, H5, H6 après injection de LPS (groupe LPS) ou injection de sérum physiologique (groupe témoin).
 Les données sont présentées sur la médiane avec une plage interquartile.
 Des comparaisons entre la phase de stabilité et H1 à H6 ont été effectuées, dans le groupe LPS et le groupe témoin, à l'aide d'un test de Wilcoxon si le test de Friedman non paramétrique retrouvait une différence significative ($p < 0,05$).

* $p < 0,05$ en comparaison à la phase de stabilité (H0) dans le groupe LPS. Aucune modification significative n'a été retrouvée dans le groupe témoin.

Les comparaisons entre le LPS et le groupe témoin ont été effectuées à l'aide d'un test de Mann-Whitney.

▲ = $p < 0,05$ entre les groupes LPS et témoin.

d.2 DFA α 1 et DFA α 2

DFA α 1 était significativement diminué, en comparaison à la période de stabilité ($H_0=7,49$ [5,92 ; 9,32]), à H_2 , H_3 , H_4 et H_6 ($H_2=0,76$ [-1,2 ; 5,74], $p < 0,01$, $H_3=0,42$ [-3,1 ; 2,44], $p < 0,01$, $H_4=0,08$ [-1,0 ; 3,46], $p < 0,01$ et $H_6=4,62$ [0,82 ; 6,12], $p = 0,04$). DFA α 2 était significativement diminué, en comparaison à la période de stabilité ($H_0=5,97$ [4,11 ; 8,00]), de H_2 à H_4 ($H_2=0,93$ [-1,7 ; 4,55], $p < 0,01$, $H_3=-0,7$ [-2,1 ; 1,73], $p = 0,02$ et $H_4=0,24$ [-0,8 ; 2,19], $p = 0,02$). DFA α 1 était significativement diminué à H_3 (0,42 [-3,1 ; 2,44] vs 4,44 [3,32 ; 6,35], $p < 0,01$) dans le groupe LPS, en comparaison au groupe témoin. DFA α 2 était significativement diminué à H_3 (-0,7 [-2,1 ; 1,73] vs 3,31 [1,55 ; 3,86], $p = 0,02$) dans le groupe LPS en comparaison au groupe témoin.

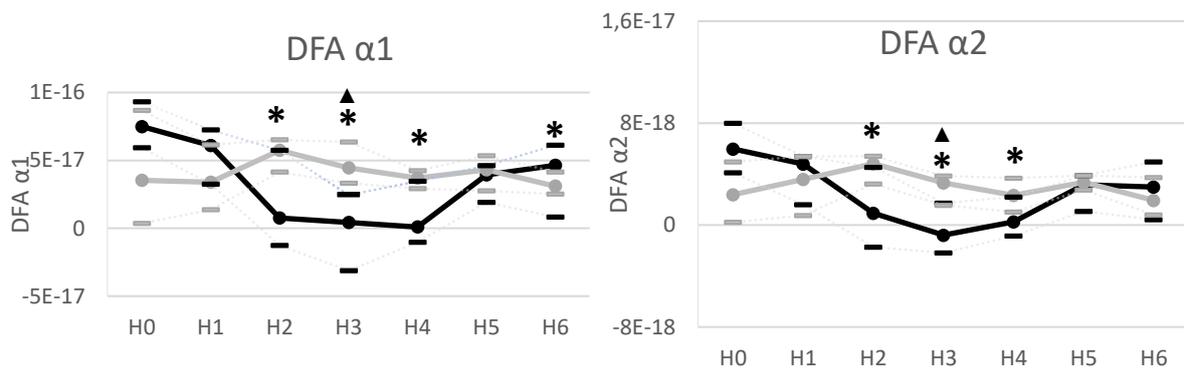


Figure 3.3.d.2 : Évolution de DFA Alpha 1 et 2 dans le groupe LPS et le groupe témoin

Groupe LPS en noir ($n = 8$); Groupe témoin en gris ($n = 7$) à la phase de stabilité (H_0), H_1 , H_2 , H_3 , H_4 , H_5 , H_6 après injection de LPS (groupe LPS) ou injection de sérum physiologique (groupe témoin). Les données sont présentées sur la médiane avec une plage interquartile. Des comparaisons entre la phase de stabilité et H_1 à H_6 ont été effectuées, dans le groupe LPS et le groupe témoin, à l'aide d'un test de Wilcoxon si le test de Friedman non paramétrique retrouvait une différence significative ($p < 0,05$).

* $p < 0,05$ en comparaison à la phase de stabilité (H_0) dans le groupe LPS.

Les comparaisons entre le LPS et le groupe témoin ont été effectuées à l'aide d'un test de Mann-Whitney.

▲ = $p < 0,05$ entre les groupes LPS et témoin.

d.3. Entropie Approchée

L'entropie approchée (ApEn) était significativement diminuée à H3 (0,49 [0,45 ; 0,55] vs 0,57 [5,47 ; 5,82], $p = 0,02$) dans le groupe LPS en comparaison au groupe témoin.

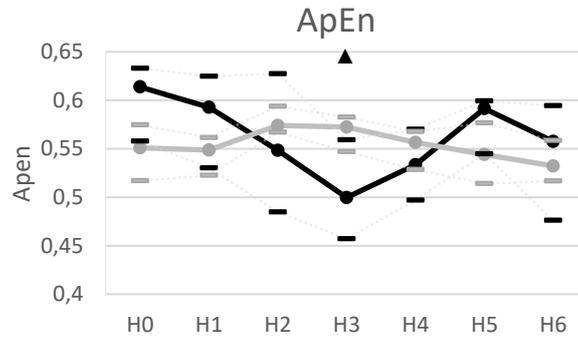


Figure 3.3.d.3 : Évolution de l'entropie approchée dans le groupe LPS et le groupe témoin
Groupe LPS en noir ($n = 8$); Groupe témoin en gris ($n = 7$) à la phase de stabilité (H0), H1, H2, H3, H4, H5, H6 après injection de LPS (groupe LPS) ou injection de sérum physiologique (groupe témoin). Les données sont présentées sur la médiane avec une plage interquartile. Des comparaisons entre la phase de stabilité et H1 à H6 ont été effectuées, dans le groupe LPS et le groupe témoin, à l'aide d'un test de Wilcoxon si le test de Friedman non paramétrique retrouvait une différence significative ($p < 0,05$).

* $p < 0,05$ en comparaison à la phase de stabilité (H0) dans le groupe LPS. Aucune modification significative n'a été retrouvée dans le groupe témoin.

Les comparaisons entre le LPS et le groupe témoin ont été effectuées à l'aide d'un test de Mann-Whitney.

▲ = $p < 0,05$ entre les groupes LPS et témoin.

4. Discussion

a) Résultats principaux

Les modifications hémodynamiques, gazométriques et l'augmentation de l'IL6, après injection de LPS, ont permis de valider notre modèle de SRIF. Ce SRIF était associé à une augmentation de la FC, à une diminution du pH et une augmentation des lactates. Parmi les 14 indices de VFC analysés, cinq étaient significativement modifiés de H2 à H4 après injection de LPS en comparaison à la période de stabilité. Ces cinq indices étaient : le SDNN, DFA α 1, DFA α 2, la VLT et SD2. Parmi ces cinq indices, DFA α 1, DFA α 2, la VLT et la SD2, étaient significativement différents entre les groupes LPS et le groupe contrôle, au minimum une fois, à H2 ou H3 ou H4. L'ApEn était significativement plus basse à H3 dans le groupe LPS, en comparaison au groupe témoin sans qu'une différence significative ne soit retrouvée en comparaison à la période de stabilité.

b) Validation et caractérisation du modèle de SRIF

Le SRIF est un syndrome inflammatoire systémique défini par une élévation de IL-6 [2]. L'augmentation significative d'IL6 une heure après l'injection de LPS nous a permis de valider notre modèle de SRIF. Ce modèle était une reproduction de celui utilisé par Durosier et al.. Dans leur modèle, l'administration IV de LPS à dix fœtus de brebis, permettait l'induction d'un SRIF sans choc ni décompensation cardiovasculaire [58]. Dans notre modèle, le pH diminuait à partir de H1 et les lactates augmentaient à partir de H2. La PCO2 augmentait à partir de H2 et la PO2 diminuait à partir de H4. Les modifications de résistance vasculaire placentaire permettraient d'expliquer ces changements gazométriques. Plusieurs mécanismes peuvent entraîner une résistance placentaire accrue lors d'un SRIF [66] : tout d'abord, la sécrétion d'endothéline, un puissant peptide vasoconstricteur, deuxièmement, la formation d'un œdème placentaire causé par l'augmentation de la perméabilité vasculaire, troisièmement,

l'augmentation du flux vers le cerveau, le cœur et les surrénales aux dépens du flux placentaire [66]. L'augmentation de la fréquence cardiaque à H5 pourrait être expliquée par la sécrétion de catécholamines induite par l'injection de LPS. La PAM plus faible à H6 dans le groupe LPS en comparaison au groupe témoin pourrait s'expliquer par une dysfonction endothéliale causée par l'inflammation. Cette réponse hémodynamique et l'augmentation d'IL6 à H1 après injection de LPS valident ce modèle de SRIF sans choc ni décompensation cardiovasculaire. Les réponses hémodynamiques et gazométriques après l'injection de LPS sont similaires à celles d'autres études après LPS intraveineux chez fœtus de brebis proches du terme [58,60].

c) Modification de la VFC après injection de LPS

Chez le fœtus de brebis, l'administration d'un bolus de LPS est inconstamment associée à une augmentation de la VFC [58–60,62,64,67]. Dans ces études, différents indices de VFC étaient analysés, avec différents modèles de SRIF (aigu, chronique), avec différents modes d'injection de LPS (intra-amniotique et intraveineux) à différents âges gestationnels. Seules deux équipes ont étudié, comme dans notre étude, les modifications de la VFC après une injection intraveineuse de LPS chez le fœtus proche du terme. Blad et al. n'ont retrouvé aucune modification de la VFC ni de tachycardie après injection de LPS. Cependant, seule une analyse de VFC globale avait été réalisée et la dose (100 ng/kg) et le LPS (Sigma O55:B5) n'étaient pas les mêmes que dans notre étude. Dans une seconde étude, l'objectif de Durosier et al. était la création et l'évaluation d'une analyse multidimensionnelle intégrant plusieurs indices de VFC permettant la détection du SRIF [58]. Ainsi cinq indices de VFC avaient été sélectionnés et cette combinaison d'indices augmentaient après injection de LPS. Cependant, à la différence de notre étude, les modifications de chaque indice de VFC n'ont pas été décrites séparément.

d) Activité du système nerveux autonome après injections de LPS

Les indices de VFC peuvent refléter l'activité sympathique, parasympathique ou autonome globale [6]. L'activation du système adrénergique dans le sepsis est essentielle pour initier une réponse physiologique aux agents pathogènes, mais peut devenir préjudiciable en cas d'excès [68]. La voie anti-inflammatoire cholinergique permet de réguler cette réponse inflammatoire via le nerf vague, fournissant une rétroaction négative sur les niveaux de cytokines inflammatoires systémiques [7]. Le FSI, RMSSD et les HF sont connus pour être corrélés avec l'activité parasympathique [6,69]. L'absence de fluctuations dans ces indices après l'injection de LPS suggère une absence de changement dans l'activité parasympathique. En revanche, après l'injection de LPS, la VLT, SD2 et SDNN augmentaient de H2 à H4 en comparaison à la période de stabilité. De plus, SD2 était augmenté à H3 et la VLT était augmentée à H2 et H4, en comparaison au groupe témoin. SD2 est un reflet de la variabilité à court et à long terme et est corrélé avec le SDNN [70]. Les activités sympathiques et parasympathiques influencent toutes deux le SDNN. Puisque le SDNN augmente en l'absence d'activation parasympathique, nous pouvons supposer qu'une activation sympathique s'est produite. La présence de tachycardie à partir de H5 est également en faveur d'une activation du système sympathique. Cependant une activation du sympathique sans activation parasympathique aurait dû induire une augmentation du rapport LF/HF que nous n'avons pas mise en évidence. Il est également inattendu que l'apparition de la tachycardie à partir de H5 soit associée à un retour à la normale des marqueurs de VFC. Ce retour à la normal, après une augmentation des marqueurs de VFC dans le domaine temporel a également été décrit par d'autres équipes [60,64,67,71]. Néanmoins, avec l'apparition de la tachycardie, il était plutôt attendu une augmentation des indices associés à l'activité sympathique. Cependant, il faut noter que chaque indice de VFC ne reflète pas strictement les changements individuels directs du

sympathique ou du parasympathique [72] et qu'il y a un chevauchement substantiel de ces deux spectres [73]. Au total, l'inhibition ou l'activation du système sympathique ou du système parasympathique n'a pu être clairement établie par nos variations d'indices de VFC.

e) Injection de LPS et complexité du signal

Après l'injection de LPS, DFA $\alpha 1$ et $\alpha 2$ diminuaient de H2 à H4 en comparaison à la période de stabilité, et étaient diminués à H3 en comparaison au groupe témoin. L'ApEn était diminuée à H3 en comparaison au groupe témoin. DFA $\alpha 1$, DFA $\alpha 2$ et ApEn sont des mesures non linéaires [6]. Ces mesures fournissent des informations sur l'imprévisibilité d'une série temporelle, qui résulte de la complexité des mécanismes qui régulent la VFC. Les facteurs de stress comme l'infection sont connus pour déprimer certaines mesures non linéaires [6,74,75]. A notre connaissance, notre étude est la première à évaluer le DFA de l'ApEn isolément après injection de LPS chez le fœtus de brebis. Ces deux indices pourraient être utilisés pour détecter la perte de complexité du signal RR et ainsi repérer précocement l'infection fœtale aigüe.

f) Forces et limites

Le SRIF est associé à une morbi-mortalité sévère. Sa détection n'est pour autant pas satisfaisante [4,15,76–78]. Dans notre modèle d'infection fœtale aiguë, des modifications significatives du SDNN, de DFA $\alpha 1$, de DFA $\alpha 2$, de SD2, de la VLT et de l'ApEn ont été détectées avant la survenue de la tachycardie. Ainsi, ces indices pourraient être utiles pour la détection précoce d'une infection fœtale aiguë. L'analyse de la VFC semble ainsi prometteuse pour la détection précoce de l'infection fœtale aigüe. Peu d'études ont évalué la VFC fœtale dans le SRIF avec des fœtus de brebis proches du terme [58–60]. Notre étude est la première à présenter les caractéristiques de quatorze indices de VFC après injection de LPS.

Cette étude présente certaines limites. Premièrement, nous nous sommes focalisés spécifiquement sur le SRIF d'apparition aiguë chez le fœtus proche du terme. Notre modèle ne reflète donc pas tous les types d'infection fœtale, comme les infections subaiguës ou chroniques avec une apparition plus progressive. De plus, nous nous sommes concentrés uniquement sur le versant fœtal ; les infections concomitantes du placenta, du liquide amniotique ou maternel pourraient également modifier ces indices d'une manière différente. Kyojuka et al., qui ont étudié les changements de VFC après l'injection de LPS dans la cavité amniotique, retrouvaient en effet d'autres résultats [59] : aucun changement significatif n'était observé au cours des premières 24 heures, tandis que la VFC à 6, 4 et 3 heures avant le décès fœtal, augmentait de manière significative. Néanmoins, seul un indice de VFC était analysé : la VCT.

Concernant l'analyse statistique, les p-values n'ont pas été corrigés par le nombre de variables utilisées. L'effectif restreint de brebis, pour des raisons techniques et éthiques, en comparaison au grand nombre de variables testées n'aurait plus permis de détecter des différences. Ces analyses doivent être considérées comme exploratoire avec un risque augmenté de faux positifs.

Une troisième limite de notre étude est l'utilisation d'un modèle animal. Bien que la brebis présente de nombreuses similarités avec la gestation humaine, la généralisation de nos résultats et leurs applications aux fœtus humains devront être démontrées.

5. Conclusion

Les modifications hémodynamiques, gazométriques et l'augmentation de IL6, après l'injection IV de LPS nous permettent de valider notre modèle de SRIF aigu. Les indices de VFC tels que le SDNN, DFA α 1, DFA α 2, SD2, la VLT, et l'APEN sont modifiés après injection de LPS, avant même l'apparition de la tachycardie fœtale. Ainsi, ces indices de VFC pourraient être utilisés pour la détection précoce du SRIF aigu.

6. Données complémentaires

		H0	H1	H2	H3	H4	H5	H6	p(1)
FC bpm	LPS	173 (170;178)	166 (159;180)	174 (172;180)	161 (155;168)	181 (165;191)	196 (182;209)*	203 (187;223)*	<0.001
	Témoin	175 (173;179)	178 (169;205)	178 (172;182)	176 (172;178)	182 (175;185)	177 (172;196)	181(177;188)	0.46
	p(2)	0.39	0.23	0.53	0.15	0.53	0.09	0.02	
PAM mmHg	LPS	45.5 (43.7;48.5)	49,0 (47,0;51.5)	47,0 (45.2;49.2)	44.5 (43,0;47,0)	46,0 (44.7;46.2)	42,0 (41,0;45.2)	41,0 (40,0;42.2)	0.01
	Témoin	48(43;55.5)	47(43.5;56)	45(44;53)	43(42;52)	48(42.5;50)	43(40.5;59)	47(43;55.5)	0.84

Tableau supplémentaire 3.6.a

Mesures hémodynamiques dans le groupe LPS et le groupe témoin.

Les données sont présentées en médiane (écart interquartile)

Analyse statistique :

p(1) comparaison de H1 à H6 par rapport à la stabilité (H0) : test de Friedman non paramétrique ; $p < 0,05$ était significatif ; * $p < 0.05$ au Test de Wilcoxon (effectué si différence significative au test de Friedman)

p(2) comparaison entre le groupe LPS et le groupe témoin : Test de Mann-Whitney : $p < 0,05$ était significatif

FC = fréquence cardiaque fœtale, PAM = pression artérielle moyenne

		H0	H1	H2	H3	H4	H5	H6	p(1)
pH	LPS	7.39 (7.38;7.40)	7.39 (7.37;7.39)*	7.35 (7.32;7.38)*	7.32 (7.3;7.35)*	7.33 (7.29;7.36)*	7.33 (7.29;7.36)*	7.33 (7.30;7.35)*	<0.001
	Témoin	7.41 (7.39;7.42)	7.41 (7.4;7.43)	7.41 (7.39;7.42)	7.4 (7.4;7.42)	7.41 (7.39;7.42)	7.4 (7.39;7.41)	7.4 (7.38;7.41)	0.06
	p(2)	0.26	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	
PCO2 mmHg	LPS	47.6 (45.7;49.1)	49.3 (46.6;50.9)	51.7 (49.0;52.5)	54.4 (51.0;56.8)*	52.3 (48.4;54.4)*	52.4 (50.5;55.8)*	51.8 (50.0;56.9)*	<0.001
	Témoin	48.1 (45.4;50.3)	48 (45.5;50.4)	48.3 (45.7;50.8)	47.8 (45.8;49.6)	48.1 (47.4;49.5)	48.3 (46.9;50.1)	47.8 (47.2;50.6)	0.071
	p(2)	0.86	0.72	0.32	0.01	0.07	0.05	0.14	
PO2 mmHg	LPS	17,0 (15.7;21.2)	19,0 (17.5;20.2)	19.5 (17.5;20.5)	16,0 (15.2;19,0)	16,0 (14,0;18,0)	16.5 (13.7;17.2)	16.5 (15,0;18.2)	<0.001
	Témoin	19 (16.5;21.5)	19 (17;19.5)	19 (18;21)	19 (18;21)	18 (16.5;20)*	19 (17.5;20.5)*	18 (16;19.5)*	0.48
	p(2)	0.48	0.60	0.81	0.06	0.19	0.03	0.23	
Excès de Bases	LPS	3.5 (3,00;5.5)	3.5 (2,00;5.25)	1,00 (-1,0;3.5)*	1,00 (0.2;2.25)*	0.5 (-0.2;2.25)*	1.5 (-1,0;2.75)*	1,00 (-0.2;3.5)*	<0.001
	Témoin	6 (5;6.5)	6 (6;6.5)	6 (4.5;6.5)	6 (5;6.5)	5 (5;6.5)	6 (5;6.5)	5 (4.5;6.5)	0.48
	p(2)	0.21	0.07	0.02	0.11	0.01	0.02	0.03	
HCO3 mmol/L	LPS	27.9 (27.4;29.6)	28.2 (26.8;29.9)	26.5 (25.2;28.2)*	26.3 (25.6;27.9)	25.9 (25.2;26.7)	26.1 (25.1;28.0)*	26.5 (25.1;28.7)*	0.02
	Témoin	30.2 (29.0;30.8)	30.2 (30.1;30.4)	30.2 (28.5;30.7)	29.8 (29.0;30.7)	29.8 (29.3;30.6)	30.1 (29.2;30.7)	29 (28.6;30.7)	0.48
	p(2)	0.33	0.14	0.02	0.20	0.02	0.05	0.05	
Lactate mmol/L	LPS	2.19 (1.99;2.5)	2.44 (2.34;2.62)	3.16 (2.69;3.85)*	4.44 (3.81;4.94)*	4.58 (4.25;6.34)*	5.29 (4.84;7.43)*	5.65 (4.88;8.42)*	<0.001
	Témoin	2.55 (2.46;2.73)	2.43 (2.14;2.59)	2.35 (1.98;2.53)	2.00 (1.90;2.22)*	2.12 (1.79;2.27)*	2.1 (1.80;2.32)*	2.09 (1.87;2.29)*	<0.001
	p(2)	0.24	0.95	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	
Il6 pg/ml	LPS	<7.8 (7.8;7.8)	54.1 (21.7;79.2)	1062 (508;1419)	3166 (2789;4207)	3330 (2238;3928)	3783 (2078;4203)	3340 (1970;3801)	<0.001
	Témoin	<7.8	<7.8	<7.8	<7.8	<7.8	<7.8	<7.8	1
	p(2)	39	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	

Tableau supplémentaire 3.6.b

Mesures du gaz du sang et biochimiques dans le groupe LPS et le groupe témoin.

Les données sont présentées en médiane (écart interquartile)

Analyses statistiques : (1) comparaison de H1 à H6 en comparaison à la stabilité (H0) : test de Friedman non paramétrique ; $p < 0,05$ était significatif ; * $p < 0.05$ au Test de Wilcoxon (effectué si différence significative au test de Friedman)

(2) comparaison entre le LPS et le groupe témoin : Test de Mann-Whitney : $p < 0,05$ était significatif

		H0	H1	H2	H3	H4	H5	H6	p(1)
SDNN (ms)	LPS	8.07(6.11;10.0)	8.82(7.14;12.3)	13.8 (7.98;18.0)*	15.7 (12.6;22.3)*	15.3 (10.6;17.4)*	10.6(10.0;15.8)	9.50(8.80;13.0)	<0.001
	Témoins	12.0(9.55;13.9)	12.3(10.2;13.5)	9.26(8.68;9.51)	11.6(9.71;13.1)	10.9(9.77;12.4)	10.1(8.98;13.5)	13.5(11.1;16.3)	0.44
	p(2)	0.12	0.33	0.28	0.09	0.23	0.69	0.02	
RMSSD (ms)	LPS	6.22(3.98;8.60)	6.51(4.94;8.98)	9.06(5.24;11.9)	11.4(6.92;14.4)	8.22(6.22;11.8)	8.57(6.92;13.5)	8.20(5.34;10.2)	0.13
	Témoins	6.40(6.03;12.8)	7.27(6.22;9.14)	6.43(5.63;8.37)	8.73(5.67;10.6)	8.53(5.79;9.89)	7.32(6.11;10.2)	13.2(7.11;19.5)	0.36
	p(2)	0.23	0.61	0.86	0.18	0.69	0.68	0.28	
SD1	LPS	4.39(2.81;6.08)	4.59(3.49;6.35)	6.40(3.69;8.43)	8.10(4.89;1.01)	5.80(4.39;8.36)	6.05(4.88;9.54)	5.79(3.77;7.24)	0.13
	Témoins	4.52(4.25;9.07)	5.13(4.39;6.45)	4.54(3.97;5.91)	6.17(4.00;7.54)	6.02(4.09;6.99)	5.17(4.31;7.21)	9.36(5.02;1.38)	0.36
	p(2)	0.23	0.61	0.86	0.18	0.69	0.61	0.28	
SD2 (E-1)	LPS	0.98(0.79;1.20)	1.09(0.92;1.35)	1.81 (1.01;2.35)*	2.01 (1.70;2.91)*	2.04 (1.33;2.33)*	1.34(1.25;1.91)	1.16(1.08;1.67)	0.01
	Témoins	1.42(1.07;1.86)	1.51(1.20;1.64)	1.16(1.09;1.21)	1.47(1.20;1.56)	1.43(1.25;1.55)	1.28(1.15;1.73)	1.59(1.45;1.78)	0.47
	p(2)	0.18	0.33	0.23	0.04	0.23	0.77	0.28	
ratioSD	LPS	6.65(4.34;7.46)	5.41(4.33;6.00)	4.76(4.16;4.97)	4.38(4.02;4.77)	4.14(3.70;4.82)	4.96(4.38;6.51)	5.48(4.75;6.13)	0.03
	Témoins	4.71(3.33;6.75)	4.78(3.66;5.83)	4.74(4.40;5.46)	5.56(4.07;5.74)	4.61(3.90;5.05)	4.60(4.36;5.18)	5.40(4.60;6.44)	0.91
	p(2)	0.46	0.61	0.61	0.46	0.61	0.46	1	
VCT	LPS	3.01(2.36;3.40)	3.54(3.17;5.05)	4.64(3.09;6.43)	5.44(5.28;6.90)	4.53(2.35;5.54)	3.89(2.66;6.33)	4.46(3.85;5.16)	0.30
	Témoins	3,36(3.01;4.58)	3.10(2.78;4.05)	3.07(2.74;3.85)	3.70(3.04;3.99)	4.63(3.46;4.81)	4.06(3.44;4.55)	3.89(3.54;4.23)	0.72
	p(2)	0.30	0.24	0.9	0.6	0.58	0.93	0.39	
VLT	LPS	31.0(25.0;37.0)	37.9(32.5;50.2)	49.3 (32.2;63.3)*	56.6 (51.9;75.2)*	58.1 (40.8;64.1)*	41.8(27.8;59.3)	42.8(39.4;56.8)	<0.001
	Témoins	34.5(29.5;47.6)	34.8(30.5;42.9)	33.0(26.8;42.7)	41.2(35.7;45.3)	41.2(34.8;48.3)	35.8(34.5;47.5)	43.2(35.8;45.1)	0.27
	p(2)	0.48	0.39	0.04	0.6	0.01	0.48	0.81	

Tableau supplémentaire 3.6.c

Evolution des indices temporels de VFC avec SD1 et SD2 dans le groupe LPS et le groupe témoin.

Les données sont présentées en médiane (écart interquartile)

Analyse statistique :

(1) comparaison de H1 à H6 par rapport à la stabilité (H0) : test de Friedman non paramétrique ; $p < 0,05$ était significatif ; * $p < 0.05$ au Test de Wilcoxon (effectué si différence significative au test de Friedman)

(2) comparaison entre le LPS et le groupe témoin : Test de Mann-Whitney : $p < 0,05$ était significatif

SDNN = Déviation Standard des intervalles NN (standard deviation of normal to normal, R-R intervals), RMSSD = Racine carrée de la Moyenne des carrés des différences entre intervalles NN successifs (root mean square of successive differences, SD1 = déviation standard 1 (Standard Deviation 1), SD2 = déviation standard 2 (Standard Deviation 2), (Approximate Entropy), VCT = variabilité à court terme, VLT = variabilité à long terme,

		H0	H1	H2	H3	H4	H5	H6	p(1)
LF (dB)	LPS	5.65(4.76;6.95)	5.05(4.69;6.06)	5.10(4.91;5.52)	4.66(4.13;5.23)	4.98(4.39;5.23)	5.50(5.18;5.71)	5.59(4.82;5.94)	0.80
	Témoin	1.86(1.58;1.99)	1.71(1.67;1.82)	1.82(1.70;1.91)	1.71(1.67;1.87)	1.89(1.65;1.94)	1.79(1.69;1.82)	1.76(1.58;1.94)	0.90
	p(2)	0.61	0.23	0.33	0.69	0.77	1	0.77	
HF (dB)	LPS	5.97(4.11;8.00)	4.78(1.61;5.39)	0.93(-1.7;4.55)	-0.7(-2.1;1.73)	0.24(-0.8;2.19)	3.15(1.08;3.89)	2.97(0.42;4.97)	0.22
	Témoin	5.31(4.93;6.42)	5.82(5.46;6.79)	5.54(4.59;6.07)	6.10(4.00;7.02)	5.84(5.20;6.35)	6.17(4.28;6.17)	6.00(5.68;7.72)	0.87
	p(2)	0.86	0.56	0.53	0.12	0.69	0.95	0.53	
LFHF ratio	LPS	3.92(2.26;4.33)	3.45(3.15;4.19)	3.73(3.07;4.50)	4.23(3.42;5.01)	4.13(3.55;6.26)	3.71(3.12;3.91)	3.92(3.09;4.41)	0.32
	Témoin	4.10(2.65;5.13)	3.94(3.45;4.15)	4.08(2.89;4.47)	3.42(2.82;4.77)	4.01(2.95;4.41)	3.56(3.02;3.93)	2.34(1.88;3.14)	0.21
	p(2)	0.61	0.95	1	0.61	0.69	0.95	0.07	
DFAα1 (E-18)	LPS	7.49(5.92;9.32)	6.10(3.23;7.25)	0.76 (-1.2;5.74)*	0.42 (-3.1;2.44)*	0.08 (-1.0;3.46)*	3.92(1.89;4.60)	4.62(0.82;6.12)	<0.001
	Témoin	3.53(3.59;8.67)	3.38(1.35;6.13)	5.73(4.13;6.52)	4.44(3.32;6.35)	3.69(2.90;4.23)	4.31(2.75;5.33)	3.09(2.51;4.14)	0.54
	p(2)	0.23	0.46	0.09	0.01	0.15	1	0.53	
DFAα2 (E-18)	LPS	5.97(4.11;8.00)	4.78(1.61;5.39)	0.93 (-1.7;4.55)*	-0.7 (-2.1;1.73)*	0.24 (-0.8;2.19)*	3.15(1.08;3.89)	2.97(0.42;4.97)	<0.001
	Témoin	2.37(2.26;4.95)	3.57(7.67;5.39)	4.82(3.24;5.40)	3.31(1.55;3.86)	2.33(1.03;3.68)	3.37(2.75;3.88)	1.93(7.98;3.73)	0.61
	p(2)	0.09	0.69	0.07	0.02	0.07	0.77	0.69	
ApEn	LPS	0.61(0.55;0.63)	0.59(0.53;0.62)	0.54(0.48;0.62)	0.49(0.45;0.55)	0.53(0.49;0.57)	0.59(0.54;0.59)	0.55(0.47;0.59)	0.26
	Témoin	0.55(5.17;5.74)	0.54(5.22;5.61)	0.57(5.66;5.93)	0.57(5.47;5.82)	0.56(5.28;5.67)	0.54(5.14;5.76)	0.53(5.16;5.58)	0.35
	p(2)	0.15	0.18	0.86	0.02	0.28	0.39	0.46	
FSI	LPS	52.1(48.5;53.6)	46.7(44.9;53.2)	45.2(44.7;48.2)	48.0(43.7;51.1)	43.7(42.1;45.4)	45.6(42.3;50.0)	46.6(43.0;49.9)	0.60
	Témoin	49.6(45.7;53.3)	48.3(47.4;55.2)	49.3(40.1;51.7)	44.0(39.6;55.6)	54.2(47.9;56.9)	47.5(42.9;49.8)	50.1(45.5;66.1)	0.54
	p(2)	0.83	0.53	100	0.77	0.05	0.69	0.53	

Tableau supplémentaire 3.6.d :

Evolution des indices issus de l'analyse spectrale de la VFC, de l'entropie et la DFA dans le groupe LPS et le groupe témoin.

Les données sont présentées en médiane (écart interquartile)

Analyse statistique :

(1) comparaison de H1 à H6 par rapport à la stabilité (H0) : test de Friedman non paramétrique ; $p < 0,05$ était significatif ; * $p < 0.05$ au Test de Wilcoxon (effectué si différence significative au test de Friedman)

(2) comparaison entre le LPS et le groupe témoin : Test de Mann-Whitney : $p < 0,05$ était significatif
DFA = Analyse des fluctuations sans tendances (detrended fluctuation analysis, FSI = fetal stress index, ApEn = Entropie approchée (Approximate Entropy), , LF = basses fréquences (low frequencies), HF = hautes fréquence (high frequencies)

Partie 4 : modifications de variabilité de la fréquence cardiaque en cas de syndrome de réponse inflammatoire fœtale associée à une hypoxie

How does fetal inflammatory response syndrome change fetal response to hypoxia?
An experimental study in a fetal sheep model

G. Chevalier, C. Garabedian, V. De Stefano, A. Wojtanowski, Y. Ould Hamoud, L. Galan, D. Sharma, L. Storme, K. Le Duc, J. De Jonckheere, G. Marot, L. Ghesquière

Acta Obstet Gynecol Scand. 2024 Sep 26. doi: 10.1111/aogs.14948.

1. Objectif

Le deuxième objectif de ce travail était d'étudier les modifications de la VFC en cas de SRIF aigu associé à une hypoxie. Ces résultats étaient comparés à une situation d'hypoxie seule.

2. Matériel et méthodes

a) Préparation chirurgicale et protocole expérimental

Le modèle chirurgical animal expérimental est celui décrit dans la partie 2.1 ([Méthodologie, Modèle animal](#)). La procédure débutait après une période de stabilité hémodynamique fœtale et maternelle d'une heure. L'hypoxie était obtenue par des OCT d'une minute, pendant trois phases d'OCT légères, modérées puis sévères tel que décrit dans la partie 2.3 ([Méthodologie, Protocoles expérimentaux, modèle d'hypoxie progressive](#)) [79]. La phase légère correspondait à des OCT répétées toutes les cinq minutes. La seconde phase, dite modérée, correspondait à des OCT répétées toutes les trois minutes. La phase sévère, correspondait à une OCT toutes les deux minutes. Les analyses de VFC sont connues pour être sensibles aux changements rapides et transitoires de la fréquence cardiaque. Pour éviter tout risque d'artefacts, après chaque six OCT, une période de cinq minutes sans OCT était enregistrée (figure 4.2.a). Le protocole était arrêté en cas de $\text{pH} < 6.95$. Le pH était contrôlé toutes les 20 minutes.

Nous avons montré (partie 3) que deux heures après l'injection de LPS un SRIF aigu sans décompensation était obtenu. Ainsi, dans le groupe avec hypoxie et infection (groupe OCT + LPS), le LPS (400 ng dissous dans 2 ml de solution saline) était injecté après la période de stabilité et les OCT étaient débutées deux heures après l'injection.

Des relevés hémodynamiques et gazométriques étaient faits toutes les 20 minutes pendant chacune des périodes. Le rythme cardiaque foetal était enregistré en continu.

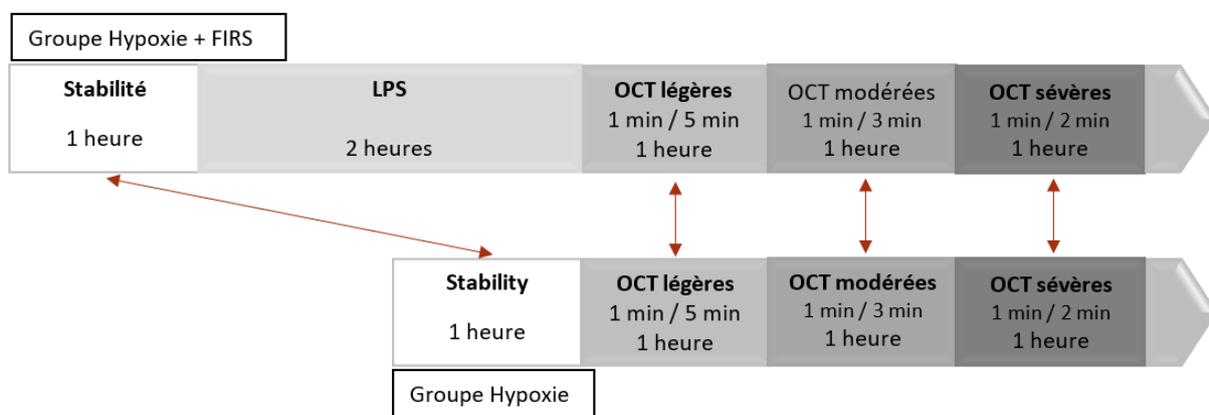


Figure 4.2.a : protocole expérimental : comparaison du groupe hypoxie + SRIF au groupe hypoxie seule

OCT = occlusions cordonales totales, LPS : lipopolysaccharides

b) Analyses de la variabilité de la fréquence cardiaque

L'acquisition et la description des indices de VFC ont été décrites dans la partie 1.3 ([Données générales, Indices de VFC](#)). Nous nous sommes concentrés sur les indices déjà étudiés par notre équipe en cas d'hypoxie seule : Le SDNN, le RMSSD, la VCT, la VLT, les LF, les HF, HF nu. (=HF/LF+HF) et le FSI [34,56]. En raison de la courte durée entre les différentes phases d'occlusions et l'absence de stabilité dans la période immédiatement consécutive aux OCT, les marqueurs de VFC, issus d'analyses non linéaires, n'ont pas été étudiés.

c) Analyses statistiques

Les variables sont présentées sous forme de médianes avec des intervalles interquartiles. Les comparaisons entre les groupes OCT et OCT + LPS, au cours de trois périodes (phase de stabilité, phase d'occlusion légère, phase d'occlusion modérée,) ont été effectuées à l'aide du test de Mann-Whitney. Deux analyses en composantes principales (ACP) ont été réalisées, l'une pour les données hémodynamiques et gazométriques (FC, PAM, pO₂, pH, lactate), l'autre pour les indices de VFC (FSI, SDNN, RMSSD, LF, HF, VLT et VCT). La représentation graphique issue de l'ACP permet de projeter des données multivariées (avec un grand nombre de variables) sur un espace de dimension réduite. Elle permet de visualiser des relations entre les variables et identifier des groupes d'individus qui partagent des caractéristiques similaires.

Pour les analyses en composante principale, seules les variables pour lesquelles les valeurs n'étaient pas statistiquement différentes entre les deux groupes, en phase de stabilité ont été conservées. Les données pendant les occlusions sévères n'ont pas été incluses dans les analyses en raison d'un nombre élevé de valeurs manquantes dues à des mort in utéro ou des arrêts du protocole. Les données ont été analysées à l'aide de la version 4.3.2 de R. Une valeur $p < 0,05$ était considérée comme significative.

3. Résultats

a) Population d'étude

Dans le groupe OCT, 14 brebis gestantes ont été opérées (cf Diagramme de flux 4.3.a). L'intervention s'est compliquée dans deux cas de mort in utero. Les morts in utero étaient mises en évidence au premier jour postopératoire. Une mise en travail avec naissance a eu lieu au troisième jour postopératoire. Une procédure a été interrompue en raison de la rupture d'un occluteur. Un fœtus a été exclu secondairement en raison de lésions cérébrales sévères survenues avant le protocole (nécrose laminaire, défaut dans la zone corticale profonde, gliose et infiltration de macrophages). Ainsi, les données de neuf fœtus du groupe OCT ont pu être analysées.

Dans le groupe OCT + LPS, 11 brebis gestantes ont été opérées. L'intervention s'est compliquée dans deux cas de mort in utero. La procédure expérimentale a pu être appliquée à neuf fœtus. Les données de ces neuf fœtus ont pu être analysées.

Dans le groupe OCT, cinq fœtus ont atteint un pH < 6.95 : un premier à la fin des OCT modérées et les quatre autres pendant les OCT sévères. Aucune mort fœtale n'est survenue dans ce groupe. Dans le groupe OCT + LPS, un fœtus a atteint un pH < 6.95 à la fin des OCT modérées. Quatre fœtus de ce groupe sont décédés à la fin des OCT modérées ou au début des OCT sévères. Comme indiqué ci-dessus, le petit nombre de fœtus survivants (n = 4) n'a pas permis d'effectuer des analyses statistiques pour la phase d'OCT sévères.

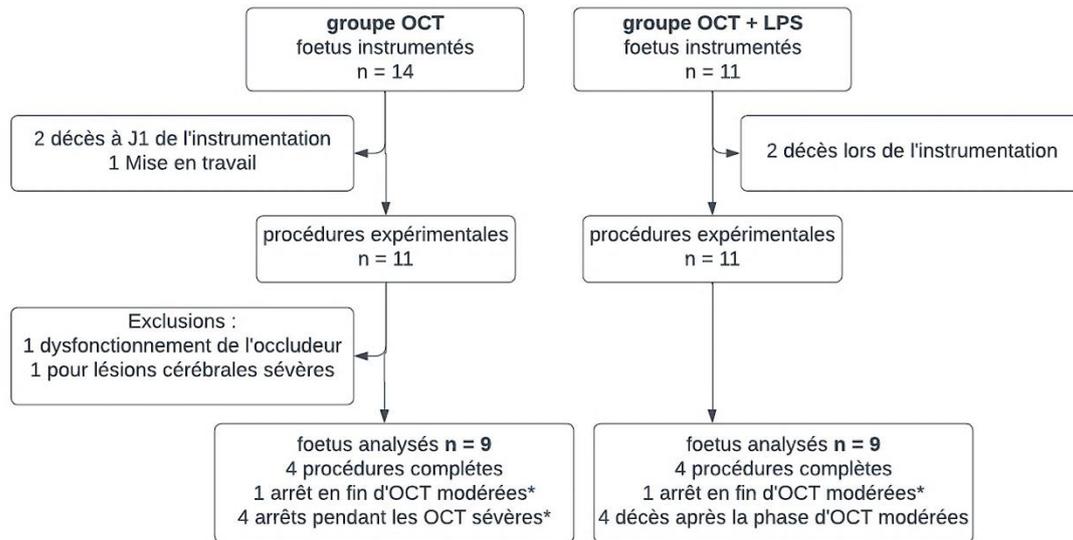


Figure 3.2.a Diagramme de flux

OCT= occlusions cordonales totales, LPS = lipopolysaccharides

**=la procédure était arrêtée si le ph atteignait 6.95*

Le poids médian des foetus était de 3335 g (3135 g – 3643 g). Quatre des 18 foetus étaient des singletons. L'âge gestationnel pendant la procédure expérimentale était de 128 ± 1 jours (terme = 145 jours).

Les comparaisons hémodynamiques et des gaz sanguins des groupes sont présentées dans le tableau 4.3.a.

b) Modifications hémodynamiques

Pendant la période de stabilité, la FC et la PAM étaient normales dans les deux groupes, sans différence significative entre les groupes (tableau 4.3.a). Après les phases d'OCT légères et modérées, on ne retrouvait pas de différence significative pour la FC. Après la phase d'OCT modérées, la PAM était significativement plus basse dans le groupe OCT + LPS en comparaison au groupe OCT (49 mmHg [48-55] vs 62 mmHg [51-65], $p = 0,02$).

c) Modifications gazométriques

Pendant la période de stabilité, le pH, la pO₂ et les lactates étaient normaux dans les deux groupes, sans différence significative entre les groupes (tableau 4.3.c). Après la phase d'OCT légères, le pH était significativement plus bas (7,22 [7,12-7,24] vs 7,28 [7,23-7,34], p = 0,02) et les lactates significativement plus élevés (10,3 mmol/l [9,4-11,0] vs 6,0 mmol/l [4,1-8,2], p <0,01) dans le groupe OCT + LPS, en comparaison au groupe OCT. Après la phase d'OCT modérées, on ne retrouvait plus de différence significative entre les deux groupes pour le pH et les lactates.

Pendant la période de stabilité, la pCo₂ était légèrement mais significativement plus élevée dans le groupe OCT + LPS (52,1 mmHg [50,4-53,3] vs 45,3 mmHg [43,4-48,2], p = 0,01) en comparaison au groupe OCT. Cette différence significative s'est maintenue après la phase d'OCT légères et modérées. Pendant la période de stabilité, l'excès de base était significativement plus élevé dans le groupe OCT + LPS (7,0 mEq/L [6,0-7,0] vs 3,0 mEq/L [2,0-4,0], p <0,01). Cette différence ne persistait pas après les phases d'OCT légères et modérées.

Période	Stabilité			OCT légères			OCT modérées		
Groupes	OCT (n=9)	OCT + LPS (N=9)	p	OCT (n=9)	OCT + LPS (n=9)	p	OCT (N=9)	OCT + LPS (n=9)	p
Paramètres hémodynamiques									
FC (bpm)	181 (169–188)	172 (165–182)	0.57	178 (155–186)	175 (170–188)	0.82	189 (162–193)	224 (180–238)	0.09
PAM (mmHg)	48 (44–49)	47 (42–48)	0.56	58 (47–61)	51 (44–56)	0.31	62 (51–65)	49 (48–55)	0.02
Paramètres gazométriques									
pH	7.39 (7.37–7.40)	7.41 (7.39–7.42)	0.21	7.28 (7.23–7.34)	7.22 (7.12–7.24)	0.02	7.10 (7.07–7.25)	7.05 (6.99–7.18)	0.29
PCO2 (mmHg)	45.3 (43.4–48.2)	52.1 (50.4–53.3)	0.01	50.6 (48.8–55.5)	63.3 (59.9–69.7)	<0.001	54.0 (52.9–61.7)	61.6 (60.2–74.8)	0.02
PO2 (mmHg)	12 (11–17)	17 (14–20)	0.26	16 (13–16)	18 (17–20)	0.01	15 (14–17)	18 (17–19)	0.05
BE (mEq/ L)	3 (2–4)	7 (6–7)	<0.01	-3 (-4–1)	-4 (-7– -2)	0.31	-11 (-15–-3)	-10 (-15–-7)	0.82
Lactates (mmol/L)	2.2 (1.7–3.0)	2.7 (2.1–3.0)	0.34	6.0 (4.1–8.2)	10.3 (9.4–11.0)	<0.001	12.7 (8.8–15.0)	14.8 (12.4–17.7)	0.16

Tableau 4.3.c : Paramètres hémodynamiques et gazométriques dans les groupes OCT et OCT + LPS

Les variables sont présentées sous forme de médianes et d'intervalles interquartiles.

Analyse statistique : Les comparaisons entre le groupe OCT + LPS et le groupe OCT ont été effectuées à l'aide du test de Mann-Whitney

En raison du petit effectif (n = 4), nous n'avons pas réalisé d'analyse statistique après la phase d'OCT sévères.

p < 0,05 est considéré comme significatif.

OCT= occlusions cordonales totales ; LPS = lipopolysaccharides ; FC = fréquence cardiaque ; PAM = pression artérielle moyenne ; BE = Excès de Base.

d) Analyse en composante principale des données hémodynamiques et gazométriques

La représentation graphique issue de l'ACP permet de projeter des données multivariées (avec un grand nombre de variables) sur un espace de dimension réduite. Elle permet de visualiser des relations entre les variables et identifier des groupes d'individus qui partagent des caractéristiques similaires.

La figure 4.3.d1 correspond au cercle de corrélation issue de l'ACP. Dans ce cercle, chaque variable est représentée par un vecteur dont les coordonnées correspondent aux corrélations entre la variable et les composantes principales. Ce cercle aide à interpréter les relations entre les variables dans le nouveau système de coordonnées. Il indique la direction et l'intensité de la corrélation de chaque variable avec les deux premières composantes principales. La direction d'un vecteur indique dans quelle mesure une variable est corrélée avec les composantes principales. Si une variable a un vecteur pointant vers l'axe de la première composante principale (par exemple, l'axe horizontal), elle est fortement corrélée avec cette composante. Plus le vecteur d'une variable est long et proche du cercle, plus la variable est bien représentée dans le plan formé par les deux premières composantes principales.

La première composante est, par définition, celle qui explique le maximum de variance (c'est-à-dire la dispersion des données) parmi toutes les autres. En d'autres termes, elle capte la plus grande partie de l'information présente dans les données. Celle-ci est représentée sur l'axe des abscisses. La première composante expliquait ici 44,6 % de la variabilité globale. Les lactates et le pH étaient fortement corrélés (positivement et négativement, respectivement) à l'axe des abscisses. Ce sont donc principalement ces deux variables qui expliquent la première composante.

On retrouve une corrélation importante entre la fréquence cardiaque et la 2^e composante. Celle-ci est inversement corrélée à la pression artérielle moyenne. La PO2 a, quant à elle, une représentation moins importante sur les deux axes.

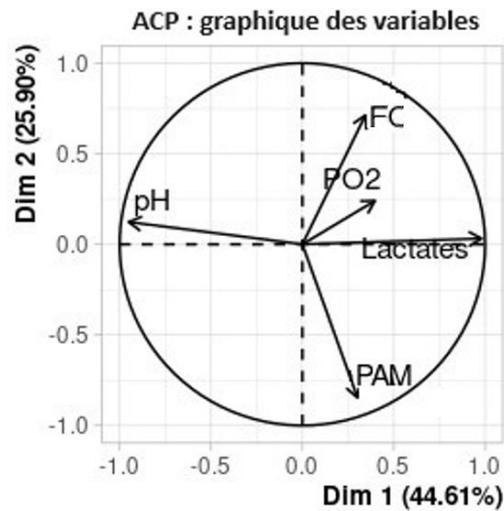


Figure 4.3.d1 : Cercle de corrélation

Les données de la fréquence cardiaque (FC), de la pression artérielle moyenne (PAM), du pH, des lactates et de la PO2 ont été utilisées pour l'analyse en composante principale.

Sur les représentations graphiques suivantes, chaque symbole (rond ou triangle) correspond à un fœtus de brebis en fin d'occlusions (légères ou modérées). Le positionnement de ces symboles est calculé avec les données hémodynamiques et gazométriques individuelles pour chaque fœtus.

- Un cercle vide représente un fœtus en fin d'OCT légères dans le groupe OCT
- Un cercle plein représente un fœtus en fin d'OCT modérées dans le groupe OCT
- Un triangle vide représente un fœtus en fin d'OCT légères dans le groupe OCT + LPS
- Un triangle plein représente un fœtus en fin d'OCT modérées dans le groupe OCT + LPS

Pour faciliter l'analyse visuelle, les fœtus d'un même groupe (OCT ou OCT + LPS) à la fin d'une même période d'occlusions (légères ou modérées) sont entourés.

La figure 4.3.d.2. permet de comparer les statuts hémodynamiques et gazométriques des fœtus du groupe OCT, en fin d'OCT légères (entourés par un trait gris fin) puis en fin d'OCT modérées (entourés par un trait gris épais). Pour les fœtus du groupe OCT, on observe un déplacement vers la droite sur l'axe des abscisses, entre la phase d'OCT légères et la phase d'OCT modérées. Ce déplacement illustre l'aggravation gazométrique entre la phase d'OCT légères et la phase d'OCT modérées dans le groupe OCT.

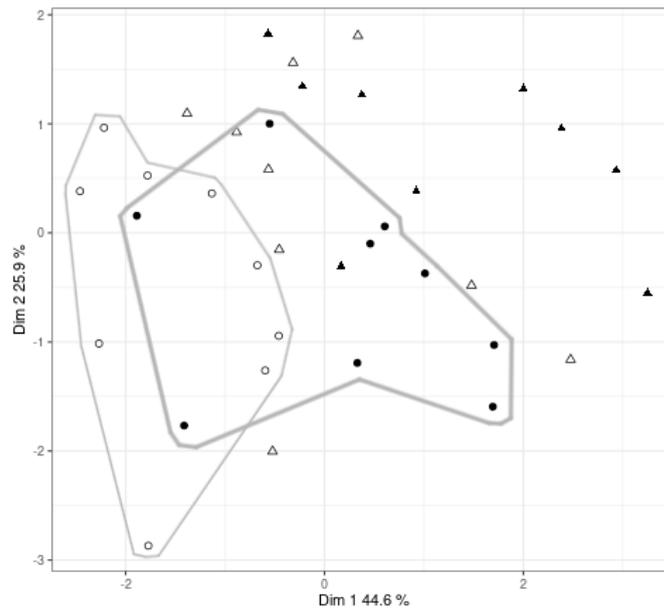


Figure 4.3.d.2 comparaison des variables gazométriques et hémodynamiques entre les OCT légères et modérées dans le groupe OCT

Chaque point correspond à un fœtus pendant en fin de période OCT légères ou OCT modérées.

Cercle vide = fœtus en fin d'OCT légères dans le groupe OCT ; regroupés dans un cercle gris fin.

Cercle plein = fœtus en fin d'OCT modérées dans le groupe OCT ; regroupés dans un cercle gris épais

Triangle vide = fœtus en fin d'OCT légères dans le groupe OCT + LPS

Triangle plein = fœtus en fin d'OCT modérées dans le groupe OCT + LPS

L'ACP a utilisé la fréquence cardiaque (FC), la pression artérielle moyenne (PAM), le pH, les lactates et la pO₂.

La figure 4.3.d.3. permet de comparer les statuts hémodynamiques et gazométriques des fœtus du groupe OCT + LPS, en fin d'OCT légères (entourés par un trait noir fin) puis en fin d'OCT modérées (entourés par un trait noir épais). Dans le groupe OCT + LPS, on observe un décalage vers la droite sur l'axe des abscisses, entre la phase d'OCT légères et la phase d'OCT modérées. Ce décalage est similaire à celui observé dans le groupe OCT.

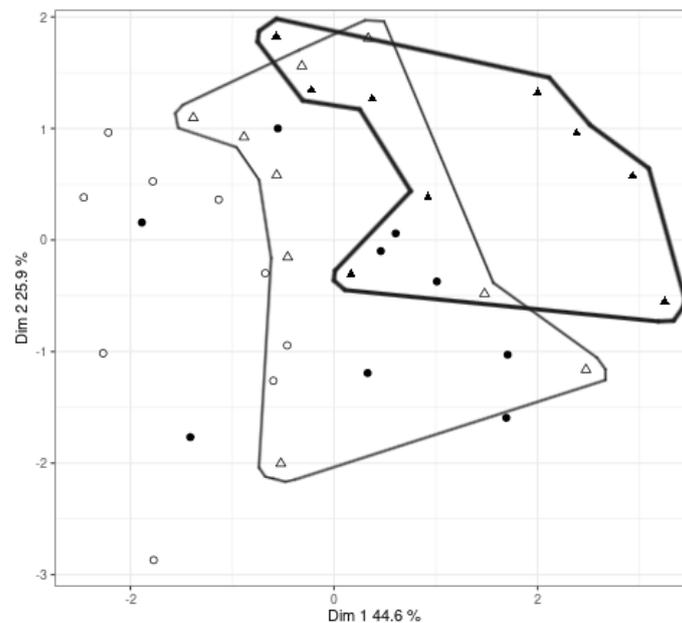


Figure 4.3.d.3 comparaison des variables gazométriques et hémodynamiques entre les OCT légères et modérées dans le groupe OCT + LPS

Chaque point correspond à un fœtus pendant en fin de période OCT légères ou OCT modérées.

Cercle vide = fœtus en fin d'OCT légères dans le groupe OCT

Cercle plein = fœtus en fin d'OCT modérées dans le groupe OCT

Triangle vide = fœtus en fin d'OCT légères dans le groupe OCT + LPS ; regroupés dans un cercle noir fin.

Triangle plein = fœtus en fin d'OCT modérées dans le groupe OCT + LPS ; regroupés dans un cercle noir épais.

L'ACP a utilisé la fréquence cardiaque (FC), la pression artérielle moyenne (PAM), le pH, les lactates et la pO₂.

En phase d'OCT légères, le groupe OCT était représenté plus à gauche sur l'axe des abscisses en comparaison au groupe OCT + LPS (figure 4.3.d.4). Ce double décalage (groupe OCT vs OCT + LPS / OCT légères vs modérées) entraîne un chevauchement, sur l'axe des abscisses, entre le groupe OCT en fin d'OCT modérées et le groupe OCT + LPS en fin d'OCT légères. Ainsi, les altérations gazométriques et hémodynamiques semblent aussi importantes en fin d'OCT légères dans le groupe OCT + LPS que dans le groupe OCT en fin d'OCT modérées. Les changements gazométriques et hémodynamiques se sont donc produits plus rapidement dans le groupe OCT + LPS en comparaison au groupe OCT.

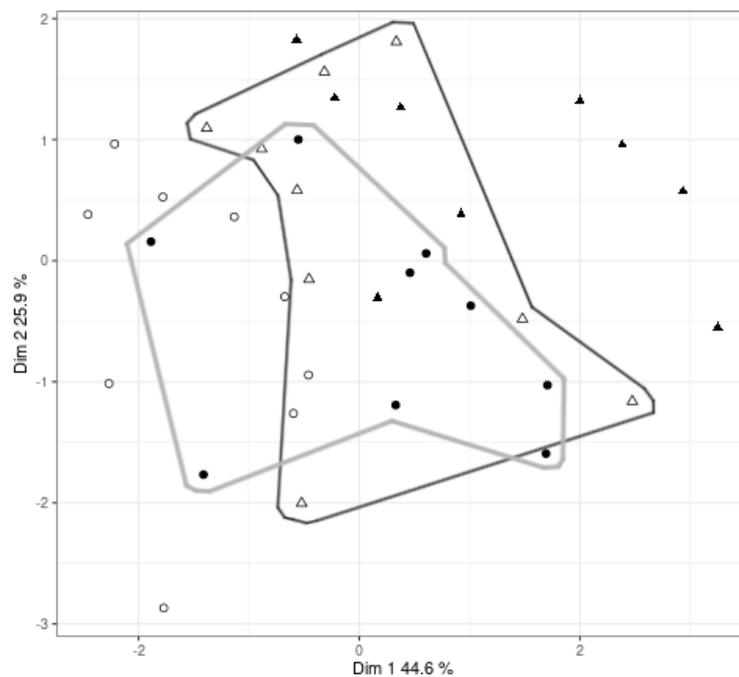


Figure 4.3.d.4 : comparaison entre les OCT légères dans le groupe OCT + LPS et les OCT modérées dans le groupe OCT

Chaque point correspond à un fœtus pendant en fin de période OCT légères ou OCT modérées.

Cercle vide = fœtus en fin d'OCT légères dans le groupe OCT

Cercle plein = fœtus en fin d'OCT modérées dans le groupe OCT ; regroupés dans un cercle gris épais

Triangle vide = fœtus en fin d'OCT légères dans le groupe OCT + LPS ; regroupés dans un cercle noir fin.

Triangle plein = fœtus en fin d'OCT modérées dans le groupe OCT + LPS

L'ACP a utilisé la fréquence cardiaque (FC), la pression artérielle moyenne (PAM), le pH, les lactates et la pO₂.

e) Indices de variabilité de la fréquence cardiaque

Les comparaisons entre les groupes des indices de VFC sont présentées dans le tableau 4.3.e.

e.1. Indices du domaine temporel

Pendant la période de stabilité, il n'y avait pas de différences significatives entre les deux groupes pour le SDNN, le RMSSD, la VLT ou la VCT.

Après la phase d'OCT légères, quatre indices du domaine temporel étaient significativement plus élevés dans le groupe OCT + LPS en comparaison au groupe OCT :

- Le SDNN (68,9 ms [50,8-79,3] vs 19,7 ms [16,1-20,8], $p < 0,001$) ;
- Le RMSSD (27,4 ms [24,6-38,0] vs 13,7 ms [8,1-17,6], $p < 0,001$) ;
- La VLT (80,0 ms [66,7-83,1] vs 36,8 ms [32,1-44,3], $p = 0,01$) ;
- La VCT (7,0 ms [5,8-8,7] vs 3,5 ms [3,1-5,6], $p = 0,01$).

Après la phase d'OCT modérées, le SDNN (55,5 ms [40,3-67,7] vs 18,7 ms [16,9-20,1], $p < 0,001$) et le RMSSD (27,9 ms [20,9-32,4] vs 12,7 ms [11,9-14,4], $p < 0,001$) restaient significativement plus élevés dans le groupe OCT + LPS.

e.2. Analyse spectrale de la VFC

Pendant la période de stabilité, il n'y avait pas de différences significatives entre les groupes pour les HF, les LF et HF.nu.

Après la phase d'OCT légères, les LF (0,30 dB [0,19-0,40] vs 0,19 dB [0,04-0,21], $P = 0,02$) et les HF (0,18 dB [0,10-0,22] vs 0,07 dB [0,02-0,10], $P = 0,03$) étaient significativement plus élevées dans le groupe OCT + LPS en comparaison au groupe OCT.

Après la phase d'OCT modérées, il n'y avait plus de différence significative entre les deux groupes. Il n'y avait pas de différence significative pour HF.nu après la phase d'OCT légères et modérées.

e.3. Analyses spectrales et temporelles

Il n'y avait pas de différences significatives entre les groupes pour le FSI, ni en période de stabilité, ni après les phases d'OCT légères et modérées stabilité.

Périodes	Stabilité			OCT légères			OCT modérées		
Groupe	OCT (n=9)	OCT + LPS (n=9)	p	OCT (n=9)	OCT + LPS (n=9)	p	OCT (n=9)	OCT + LPS (n=9)	p
Analyse temporelle									
SDNN ms	17.5 (16.7– 19.9)	21.7 (14.8– 25.4)	0.60	19.7 (16.1– 20.8)	68.9 (50.8– 79.3)	<0.001	18.7 (16.9– 20.1)	55.5 (40.3– 67.7)	<0.001
RMSSD ms	10.7 (13.6– 15.7)	15.4 (12.6– 21.3)	0.22	13.7 (8.1–17.6)	27.4 (24.6– 38.0)	<0.001	12.7 (11.9– 14.4)	27.9 (20.9– 32.4)	<0.001
VLT ms	39.4 (27.1– 41.1)	44.0 (34.6– 57.5)	0.44	36.8 (32.1– 44.3)	80.0 (66.7– 83.1)	0.01	50.7 (45.9– 56.2)	58.0 (36.1– 80.5)	0.73
VCT ms	3.7 (2.4– 4.5)	5.5 (3.1– 6.0)	0.34	3.5 (3.1– 5.6)	7.0 (5.8– 8.7)	0.01	4.6 (4.2– 5.0)	5.4 (4.4– 7.4)	0.43
Analyse spectrale									
LF dB	0.08 (0.06– 0.11)	0.13 (0.10– 0.35)	0.06	0.19 (0.04– 0.21)	0.30 (0.19– 0.40)	0.02	0.13 (0.12– 0.19)	0.28 (0.16– 0.35)	0.16
HF dB	0.05 (0.03– 0.07)	0.11 (0.06– 0.21)	0.08	0.08 (0.02– 0.10)	0.18 (0.10– 0.22)	0.03	0.06 (0.05– 0.12)	0.14 (0.08– 0.18)	0.16
HF.nu	0.30 (0.29– 0.40)	0.41 (0.37– 0.44)	0.16	0.31 (0.25– 0.36)	0.36 (0.33– 0.38)	0.60	0.33 (0.30– 0.36)	0.37 (0.29– 0.39)	0.39
Analyse temporelle et spectrale									
FSI	59.3 (58.2– 62.4)	68.3 (63.0– 70.3)	0.08	53.7 (45.8– 69.4)	61.8 (50.8– 62.1)	0.73	53.3 (50.3– 65.8)	63.4 (57.6– 70.7)	0.14

Tableau 4.3.e : Indices de variabilité de la fréquence cardiaque dans les groupes OCT et OCT + LPS
Les variables sont présentées sous forme de médianes et d'intervalles interquartiles.

Analyse statistique : Les comparaisons entre le groupe OCT + LPS et le groupe OCT ont été effectuées à l'aide du test de Mann-Whitney

En raison du petit effectif ($n = 4$), nous n'avons pas réalisé d'analyse statistique après la phase d'OCT sévères.

$p < 0,05$ est considéré comme significatif

SDNN = Déviation Standard des intervalles NN (standard deviation of normal to normal, R-R intervals), RMSSD = Racine carrée de la Moyenne des carrés des différences entre intervalles NN successifs (root mean square of successive differences), VCT = variabilité à court terme, VLT = variabilité à long terme, LF = basses fréquences (low frequencies), HF = hautes fréquences (high frequencies), FSI = fetal stress index,

f) Analyse en composante principale des indices de VFC

La première composante expliquait 41,9 % de la variance de l'ensemble des données (figure 4.3.f). L'analyse visuelle permet d'observer un décalage vers la droite sur l'axe des x (première composante), après les OCT légères, entre les groupes OCT (cercle vide, trait gris fin) et OCT + LPS (triangle vide, trait noir fin). Un décalage similaire, après les OCT modérées, entre les groupes OCT (cercle plein, trait gris épais) et OCT + LPS (triangle plein, trait noir épais) était également retrouvé. A l'inverse, la représentation pour les fœtus du groupe OCT, après les OCT légères en comparaison à ces mêmes fœtus après les OCT modérées semblent similaire. De même, la représentation pour les fœtus du groupe OCT + LPS après les OCT légères, en comparaison à ces mêmes fœtus après les OCT modérées, semble également similaire. Ainsi, les indices de VFC pourraient permettre de distinguer les fœtus avec SRIF des fœtus sans SRIF. Au contraire il ne permettrait pas de distinguer si les fœtus sont en périodes d'OCT légères ou modérées.

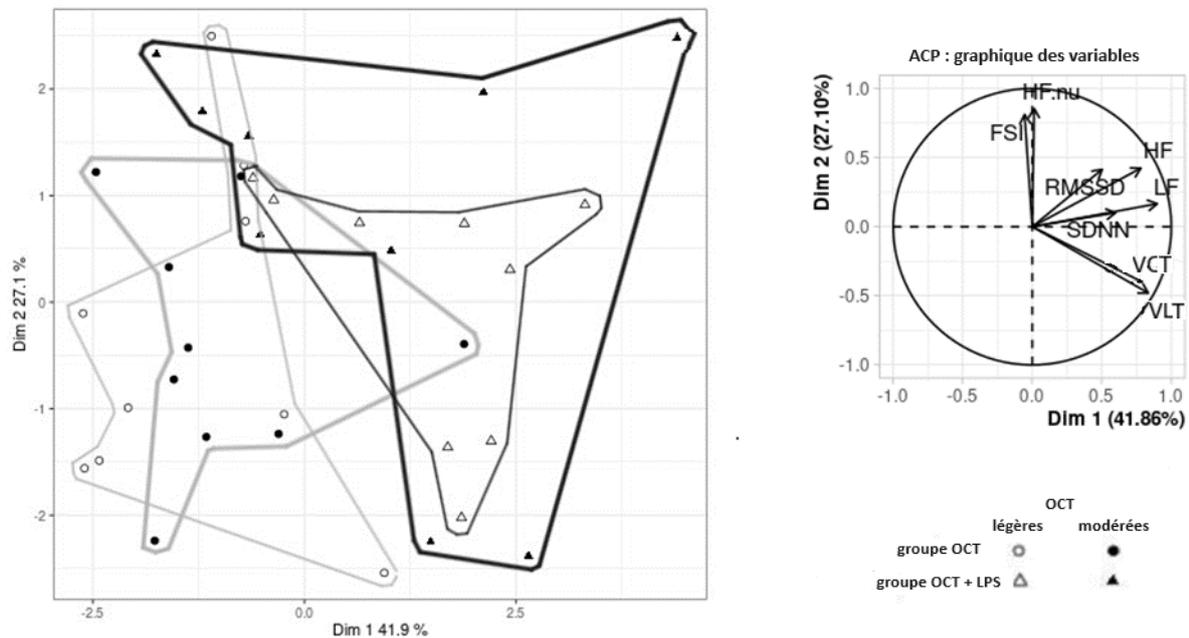


Figure 4.3.f : Analyse en composante principale des indices de variabilité de la fréquence cardiaque
 Chaque point correspond à un fœtus en fin de période OCT légères ou OCT modérées.

Cercle vide = fœtus en fin d'OCT légères dans le groupe OCT ; regroupés à l'intérieur d'un trait gris fin.
 Cercle plein = fœtus en fin d'OCT modérées dans le groupe OCT ; regroupés à l'intérieur d'un trait gris épais

Triangle vide = fœtus en fin d'OCT légères dans le groupe OCT + LPS ; regroupés à l'intérieur d'un trait noir fin.

Triangle plein = fœtus en fin d'OCT modérées dans le groupe OCT + LPS ; regroupés à l'intérieur d'un trait noir épais.

L'ACP a utilisé le SDNN = Déviation Standard des intervalles NN, le RMSSD = Racine carrée de la Moyenne des carrés des différences entre intervalles NN successifs, la VCT = variabilité à court terme, la VLT = variabilité à long terme, les LF = basses fréquences, les HF = hautes fréquence et le FSI = fetal stress index.

4. Discussion

a) Principaux résultats

Les modifications hémodynamiques et gazométriques survenaient plus précocement dans le groupe OCT + LPS. La VFC était significativement plus importante après les OCT légères et modérées dans le groupe OCT + LPS en comparaison au groupe OCT. Enfin, le taux de mortalité était plus élevé dans le groupe OCT + LPS en comparaison au groupe OCT seules.

b) Choix du modèle

Le modèle de SRIF aigu par injection de LPS a été précédemment validé par Durosier et al. et notre équipe (cf partie 3). Dans ce modèle, à une heure de l'injection de LPS, l'IL6 et le pH augmentaient. A deux heures de l'injection, les lactates augmentaient. La fréquence cardiaque augmentait à cinq heures de l'injection. Le modèle d'hypoxie progressive induite par des OCT, a été décrit par Prout et al. et avait déjà été utilisé par notre équipe [56,79] et avait déjà été utilisé par notre équipe [56,79]. Dans ce modèle, le pH diminuait progressivement pour atteindre une valeur autour de 7,0 pendant les OCT sévères. L'infection fœtale et l'hypoxie simultanées pendant le travail comportent des risques fœtaux plus importants [9,23,26]. Le taux de mortalité élevé dans le groupe OCT + LPS est en accord avec ces résultats. La morbidité et la mortalité mises en évidence par ce modèle confirment également la nécessité d'une détection précoce pour cette situation à haut risque pendant le travail.

Nos résultats montrent donc qu'au cours d'un SRIF aigu, même modéré, l'acidose pendant le travail est susceptible de s'aggraver plus rapidement. Cette moins bonne adaptation à l'hypoxie pourrait s'expliquer en partie par l'augmentation de la résistance placentaire pendant le SRIF [66].

c) Analyses des marqueurs de VFC

A notre connaissance, il s'agit de la première étude de la VFC en cas d'hypoxie et de SRIF concomitants chez un fœtus.

Après l'injection isolée de LPS (partie 3), nous avons montrés que seuls le SDNN et la VLT étaient modifiés : tous deux étant significativement plus élevés à H2 et H4 après l'injection de LPS. Il n'est donc pas surprenant que le SDNN et la VLT soit également plus élevé dans le groupe OCT + LPS que dans le groupe OCT. En revanche, le RMSSD, les LF, les HF et la VCT étaient tous significativement plus élevés après les OCT légères dans le groupe OCT+LPS, en comparaison au groupe OCT, alors qu'aucun n'était significativement modifié après l'injection de LPS. De plus, sur des analyses secondaires des fœtus après OCT seules [56], aucun marqueur n'était significativement augmenté après les OCT légères en comparaison à la période de stabilité. Ainsi, les changements de VFC, après l'injection de LPS associée à des OCT, ne correspondent pas uniquement à la somme des changements observés après injection de LPS et d'OCT analysés séparément.

Après les OCT modérées, seuls le RMSSD et le SDNN restaient significativement plus élevés dans le groupe OCT + LPS en comparaison au groupe OCT. Ces différences entre l'OCT légères et l'OCT modérées pourraient s'expliquer par le fait que le pH et les lactates ne différaient de manière significative que pendant les OCT légères. Notre hypothèse est qu'après les OCT modérées, la diminution du pH et l'augmentation des lactates étaient principalement liées aux occlusions, de sorte que le léger impact induit par le LPS n'était plus suffisant pour induire une différence significative. Ainsi, le nombre moins important de marqueurs de VFC significativement augmentés après les OCT modérées pourrait s'expliquer par l'absence de différence significative des valeurs gazométriques sur cette période. Néanmoins les

modifications gazométriques ne peuvent à elles seules expliquer les différences de VFC. En effet, il n'avait pas été retrouvé de différences significatives pour ces indices de VFC après les OCT seules, entre les périodes d'OCT légères en comparaison aux OCT modérées et sévères [56]. Il ne peut être exclu que, compte tenu de la petite taille de l'échantillon l'absence de différences significatives pour ces marqueurs, après les OCT modérées, puisse en lien avec une faible puissance statistique.

L'analyse en composante principale des indices de VFC permettaient de distinguer les brebis avec SRIF, que ce soit pendant les OCT légères ou modérées. Ainsi l'utilisation de l'ACP pourrait être plus pertinente que l'utilisation des indices pris isolément pour détecter le SRIF en cas d'hypoxie pendant le travail.

La VFC est en partie sous la dépendance du SNA. En effet, l'activation/inhibition des systèmes nerveux sympathique et parasympathique induit des modifications de la VFC [40]. Le RMSSD et les HF sont classiquement associés au système nerveux parasympathique tandis que le SDNN et les LF sont associés à l'activité globale du SNA. L'augmentation plus importante des indices de VFC dans le groupe OCT + LPS après les occlusions légères pourraient donc être liées à l'activation différentielle du SNA dans ce groupe. Ces indices seraient plutôt en faveur d'une activation parasympathique et sympathique plus importante dans le groupe OCT + LPS. Cependant, les interprétations physiologiques des marqueurs de VFC doivent être faites avec prudence, car aucun indice de VFC ne reflète strictement les changements sympathiques ou parasympathiques directs [72] et il y a un chevauchement important entre ces systèmes [73]. Le FSI étant associé au système parasympathique [69], en cas d'activation différentielle du système parasympathique, un FSI plus élevé serait attendu dans le groupe OCT + LPS. Ce n'est pas le cas dans nos résultats. L'augmentation différentielle du SDNN et du RMSSD après les

OCT modérées, sans différence pour les autres indices, est également difficile à expliquer par l'activité seule du SNA.

d) Forces et limites

Il s'agit de la première étude dans laquelle la VFC a été évaluée pendant une situation d'hypoxie associée à un SRIF. Les différences de VFC entre les groupes OCT et OCT + LPS suggèrent que les analyses de VFC pourraient être utiles pour détecter cette situation à haut risque.

Notre étude présente plusieurs limites : Premièrement, la création de deux groupes en deux temps différents sans randomisation. Bien que les deux groupes aient été créés par la même équipe, dans les mêmes conditions et à la même saison, cela constitue une limite. Cela peut expliquer les différences de pCO₂ et d'excès de base, entre les groupes, lors de la période de stabilité. Cependant, il n'y a pas eu d'autres différences significatives entre les paramètres hémodynamiques, gazométriques ou de VFC. En outre, les analyses en composante principale n'ont été effectuées qu'avec des variables qui ne différaient pas entre les groupes au départ et ont confirmé les résultats des analyses univariées. La deuxième limite potentielle est l'utilisation d'un modèle animal, la généralisation des résultats et leurs applications aux fœtus humains devront être soigneusement établies. Troisièmement, nous nous sommes concentrés spécifiquement sur le SRIF aigu. Le modèle ne reflète donc pas toute la diversité des infections fœtales, qui peuvent être subaiguës ou chroniques, et dont l'intensité peut varier. Enfin, nous nous sommes concentrés sur le versant fœtal de l'infection. Des infections concomitantes du placenta, du liquide amniotique ou maternelle pourraient modifier ces résultats.

5. Conclusion

Un SRIF surajouté à une hypoxie pendant le travail est à haut risque pour le fœtus. Au cours d'un SRIF aigu pendant le travail, l'adaptation du fœtus est modifiée. L'acidose est susceptible de s'aggraver plus rapidement, ce qui nécessite une surveillance plus étroite du fœtus. L'utilisation des marqueurs de VFC pourraient aider à la détection de cette situation à haut risque.

Conclusion générale et perspectives

Des modifications de la VFC, en cas de SRIF isolé ou associé à l'hypoxie, ont été mises en évidence dans ce travail. Ces résultats devront maintenant être confirmés chez l'humain. Le calcul des indices de VFC n'est actuellement pas possible avec les cardiotocographes utilisés en routine clinique. En effet, ces appareils ne permettent pas d'obtenir la fréquence cardiaque battement à battement. Généralement, ce type d'appareil fournit une fréquence cardiaque moyenne calculée sur trois à cinq battements et rééchantillonnée à quatre Hertz. Cependant, ce procédé de moyennage et de rééchantillonnage réduit une partie des fréquences élevées nécessaires pour calculer certains indices de la VFC [80].

Les systèmes d'ECG transabdominaux non invasifs permettent de détecter précisément les battements cardiaques fœtaux [80]. En utilisant des électrodes classiques placées sur l'abdomen de la mère, ces systèmes captent un signal composite qui inclut l'ECG maternel, l'ECG fœtal et le myogramme abdominal (mouvements de la mère et du fœtus, contractions utérines). Des algorithmes d'extraction séparent alors ces signaux distincts pour isoler l'ECG fœtal. Cependant, bien que plusieurs dispositifs de ce type soient déjà disponibles sur le

marché, ils ne permettent pas d'obtenir la fréquence cardiaque battement à battement nécessaire à notre analyse. Le CHU de Lille, en collaboration avec la société BIOSERENITY, a développé un prototype permettant l'acquisition non invasif du rythme cardiaque fœtal par voie transabdominale battement par battement (projet PrevAP - ANR-18-CE19-0015-01). Ce prototype a déjà montré son efficacité chez la femme pour l'enregistrement du rythme cardiaque fœtal battement par battement et le calcul du FSI (MoMa, NCT0563427).

Un essai clinique va débiter pour l'utilisation de cette technologie pour prédire l'acidose fœtale pendant le travail à la suite d'un financement MESSIDORE (2024). Un second essai clinique s'intéressera à évaluer, par cet appareil, le retentissement sur le système nerveux autonome, en présence ou non d'une hypotension artérielle maternelle de la rachianesthésie (RACHISNA 2023).

Un futur travail pourrait donc évaluer les indices de VFC testés dans cette thèse, chez le fœtus humain, en cas d'infection fœtale. Une première situation étudiée pourrait être lors d'une rupture prématurée des membranes avant terme. Cette situation est en effet à risque d'infection fœtale. La deuxième situation pourrait être le travail, qu'il soit associé ou non à une hypoxie.

Si, comme chez le fœtus de brebis, plusieurs indices sont modifiés en cas d'infection fœtale, des analyses en composantes principales des marqueurs de VFC pourront être évaluées. Elles pourraient permettre une meilleure détection que l'utilisation isolée de marqueurs de VFC. Dans ce cas, un score global issu de l'ACP pourrait être calculé en temps réel afin de prédire le risque d'infection fœtale.

Etude Ancillaire : modifications de la protéine S100B en cas d'infection fœtale

Changes in S100B during acute fetal inflammatory response syndrome associated or not with worsening acidosis in a fetal sheep model

G. Chevalier, JD Pekar, S. Insubri, V. De Stefano, A. Wojtanowski, D. Le Hesran, Y. Ould Hamoud, LE. Galan, D. Sharma, K. Le Duc, J. De Jonckheere, G. Marot, C. Garabedian, L. Ghesquière

Soumission en cours dans Plos One

1. Introduction

Le lien entre l'encéphalopathie néonatale et l'infection/inflammation intra-utérine a été développé dans la première partie de la thèse [3,76,78,81]. Les biomarqueurs sériques, représentent un outil potentiellement utile pour améliorer l'identification des nouveau-nés à risque de complications neurologiques qui nécessiteraient des mesures thérapeutiques immédiates comme l'hypothermie. Le biomarqueur le plus prometteur est la protéine S100B, une protéine liant le calcium que l'on trouve dans les cellules gliales. Après l'apparition de lésions cérébrales, la S100B est libérée par les cellules gliales endommagées et passe dans la circulation. La protéine S100B est un biomarqueur établi des lésions cérébrales traumatiques chez l'adulte [82]. Chez le fœtus et le nouveau-né, il a été montré que l'apparition de lésions cérébrales était associée à une élévation de la protéine S100B [56,82–85]. Ces résultats concernent principalement les naissances prématurées et/ou l'hypoxie. Notre hypothèse était que le protéine S100B pourrait être également augmentée en cas de SRIF.

Par conséquent, l'objectif principal de cette étude était d'explorer le changement de la S100B en cas de SRIF aigu. L'association du SRIF à une hypoxie étant une situation particulièrement à risque d'encéphalopathie, le second objectif était d'étudier les changements de la S100B pendant le SRIF associé à une hypoxie en comparaison à une hypoxie isolée.

2. Méthodologie

a) Populations d'étude

L'étude de la S100B en cas de SRIF aigu a été effectuée chez les fœtus de brebis du groupe LPS et a été comparé au groupe témoin décrits dans la [partie 3](#) (Méthodologie, Populations d'étude). L'étude de la S100B en cas de SRIF associée à une hypoxie a été effectuée chez les fœtus du groupe OCT + LPS et a été comparée au groupe OCT isolées décrits dans la [partie 4](#) (Méthodologie, Populations d'étude).

b) Dosage de la protéine S100B

La S100B était prélevée en phase de stabilité, puis toutes les heures pendant 6 heures, dans les groupes LPS et témoins. Elle était prélevée en phase de stabilité, puis après chaque phase d'OCT, dans les groupes OCT et OCT + LPS. Les concentrations de S100B ont été déterminées à partir du sérum sur un module Cobas 8000 e601 (Roche, Bâle, Suisse) en utilisant la méthode d'électrochimiluminescence.

c) Analyses statistiques

Les variables sont présentées sous forme de médianes avec des intervalles interquartiles. Les comparaisons entre les groupes LPS et témoins puis les groupes OCT et OCT + LPS ont été effectuées à l'aide du test de Mann-Whitney. Les données ont été analysées à l'aide de la version 4.3.2 de R. Une valeur $p < 0,05$ était considérée comme significative.

3. Résultats

a) Evolution de la S100B en cas de SRIF

Les modifications de la S100B sont présentées dans la figure 5.3.a. Après l'injection de LPS, la S100B diminuait progressivement de H0 (11,10 $\mu\text{g/L}$ [9,44;12,60]) à H6 (3,48 $\mu\text{g/L}$ [2,62;5,60]). La S100B était significativement plus faible dans le groupe LPS, en comparaison au groupe

témoin, à H4 (6,56 µg/L [5,72;8,79] vs 10,82 µg/L [8,41;15,5], p=0,03), H5 (4,71 µg/L [4,03;6,45] vs 10,22 µg/L [8,59;15,74], p<0,01) et H6 (3,48 µg/L [2,62;5,60] vs 10,23 µg/L [8,96;15,51], p<0,01)

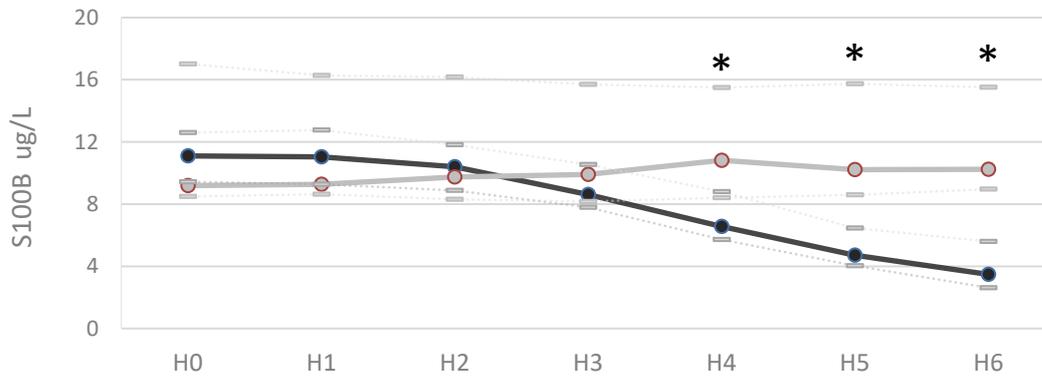


Figure 5.3.a : Évolution de la protéine S100B dans le groupe LPS et le groupe témoin
 Groupe LPS en noir (n = 8); Groupe témoin en gris (n = 7) à la phase de stabilité (H0), H1, H2, H3, H4, H5, H6 après injection de LPS (groupe LPS) ou injection de sérum physiologique (groupe témoin).
 Les comparaisons entre le LPS et le groupe témoin ont été effectuées à l'aide d'un test de Mann-Whitney.

*= p < 0,05 entre les groupes LPS et témoin.

OCT= occlusions cordoniales totales ; LPS = lipopolysaccharides

b) Évolution de la S100B en cas de SRIF et d'hypoxie

Les comparaisons de la S100B sont présentées dans la figure 5.3.b. En période de stabilité, aucune différence significative n'était constatée entre le groupe OCT+LPS et le groupe OCT. La S100B était significativement plus basse dans le groupe OCT+LPS en comparaison au groupe OCT, après la période d'OCT légères (9,69 µg/L [7,37-10,70] vs 12,05 µg/L [10,47-13,70], p=0,04) et après la période d'OCT modérées (9,71 µg/L [7,17-11,06] vs 13,71 µg/L [11,57 - 15,36], p=0,04).

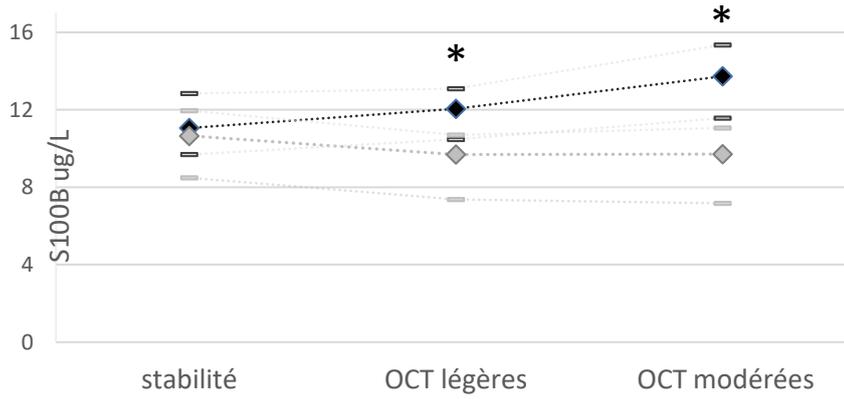


Figure 5.3.b : Évolution de la protéine S100B dans le groupe OCT + LPS et le groupe OCT
 Groupe OCT + LPS en gris (n = 9); Groupe OCT en noir (n = 9) à la phase de stabilité après la période d'OCT légères et la périodes d'OCT modérées.

Les comparaisons entre les deux groupes ont été effectuées à l'aide d'un test de Mann-Whitney.

*= $p < 0,05$

OCT= occlusions cordonales totales ; LPS = lipopolysaccharides

4. Discussion

Contrairement à notre hypothèse initiale, la S100B était significativement plus basse dans le groupe LPS à H4, H5 et H6 en comparaison au groupe témoin. La S100B était significativement plus basse dans le groupe OCT+LPS, en comparaison au groupe OCT, après la phase d'OCT légères et la phase d'OCT modérées.

La S100B est considérée comme un biomarqueur des lésions cérébrales prometteur. Il s'agit d'une protéine liant le calcium contenu dans les cellules gliales. Après l'apparition de lésions cérébrales, la S100B est immédiatement libérée des cellules gliales endommagées vers la circulation sanguine. Il est établi que la S100B est un biomarqueur sensible en cas de lésions cérébrales traumatiques [82]. Une quarantaine de méta-analyses établissent un lien entre le taux sérique de S100B et diverses maladies neurologiques et psychiatriques chez l'adulte [86]. Des augmentations de la S100B ont été montrées lors d'une infection fœtale chez l'humain [87–89].

Lors de travaux antérieurs, nous avons montré une augmentation de la S100B fœtale dans un modèle d'hypoxie progressive par OCT chez le fœtus de brebis [90]. Une seule équipe s'est intéressée à la S100B, après injection de LPS, chez le fœtus de brebis [91,92]. Garnier et al ont étudié l'association entre la S100B et les lésions périventriculaires de la substance blanche, chez des fœtus de brebis prématurés, après l'injection intraveineuse de LPS. La S100B fœtale étaient significativement plus élevée dans le groupe LPS que dans le groupe témoin, de trois heures à soixante-douze heures après l'injection. C'est à trois heures après l'injection de LPS que la S100B était la plus élevée. Tous les animaux traités au LPS présentaient des lésions de la substance blanche. Cette étude présentait plusieurs différences avec la nôtre rendant les comparaisons difficiles. La principale est le terme des fœtus : 107 ± 1 jours vs 124 ± 1 jours. La

dose de LPS (500 ng pour des poids plus faible vs 400 ng) et le sérotype d'*e.coli* (O127:B8 vs O111:B4) étaient également différents. Les changements hémodynamiques et gazométriques étaient plus marqués dans leur étude. La fréquence cardiaque était plus élevée à partir de H3 (202 bpm vs 161 [155;168] bpm dans notre étude). Le PH était plus bas (7,21 à H6 vs 7,33 [7,30;7,35] dans notre étude).

La S100B était significativement plus faible dans le groupe LPS à H4, H5 et H6 en comparaison au groupe témoin. Cette absence d'augmentation de la S100B pourrait s'expliquer par l'absence de lésion cérébrale induite par notre injection de LPS. Comme aucune analyse histologique des cerveaux n'a été réalisée, il n'est malheureusement pas possible de confirmer ou d'infirmer cette hypothèse. Néanmoins la mortalité importante lors des OCT sévères dans le groupe OCT + LPS, rend probable des répercussions dès les phases d'OCT légères et modérées. Une seconde hypothèse serait, si des lésions cérébrales ont bien été induites, une augmentation de la S100B dans le liquide céphalo-rachidien, sans augmentation de la S100B dans le sang. Plusieurs études font état d'une mesure simultanée de la S100B dans le sang et dans le liquide céphalorachidien après une situation aiguë de lésion cérébrale traumatique ou d'accident vasculaire cérébral [86]. Dans ces situations, la S100B augmente dans le liquide céphalorachidien, sans que cette augmentation ne soit toujours accompagnée d'une augmentation dans le sérum. Toutefois, notre équipe avait pu mettre en évidence une augmentation de la S100B dans le sérum des fœtus en cas d'OCT sans injections de LPS, rendant moins probable cette hypothèse [90].

Bien que la libération dans la circulation de la S100B par les cellules gliales endommagées soit associée à une élévation de la S100B, certaines cellules non neurales contribuent activement à la teneur du sérum en S100B. C'est le cas des adipocytes qui peuvent

contribuer activement à la teneur sérique en S100B [93]. Les modifications de la S100B dans notre étude pourraient donc être liées à un processus autre qu'une atteinte cérébrale.

Dans la littérature, la plupart des changements dans la S100B en réponse à différents événements sont une augmentation, associée à des lésions cérébrales. Cependant, des diminutions de la S100B ont été décrites dans différentes situations. Par exemple, chez l'adulte après ingestion de glucose lors d'un test de tolérance au glucose par voie orale en raison d'une régulation négative par l'insuline [94], dans les maladies hépatiques chroniques en raison d'une diminution de l'innervation du foie [95], chez le diabétique en raison d'une diminution de la réactivité des cellules gliales [96], dans la maladie d'Alzheimer en raison d'une atrophie cérébrale [97]...

La diminution de la S100B dans notre étude pourrait s'expliquer par une clairance plus élevée dans la circulation systémique. Il a en effet été montré que la protéolyse de la calprotectine, membre de la famille S100, était plus importante dans un environnement inflammatoire [86]. Une reconnaissance moins efficace par le test Elisa pourrait également expliquer le dosage moins efficace de la S100B. En effet, la S100B est une protéine dont la liaison au calcium, qui peut être modifiée lors d'un phénomène inflammatoire, peut affecter sa reconnaissance par les anticorps [86]. Une dernière hypothèse pourrait expliquer la diminution de la S100B. Elle concerne la dose de LPS injectée. Guerra et al. ont étudié la sécrétion de S100B par les astrocytes après injection de LPS chez le rat. Ils ont mis en évidence une cinétique variable de la S100B en fonction de la dose de LPS. La S100B augmentait lorsque 10ug/ml de LPS étaient injectés dans des sections d'hippocampe, et diminuait pour des injections de 0,1 ou 1ug/ml) [98]. Ainsi, il se pourrait qu'en fonction de la dose de LPS utilisée, une augmentation ou une diminution de la S100B puisse être induite.

Cette expérience présente plusieurs points forts. A notre connaissance, seule une équipe a étudié la S100B après injection de LPS chez le fœtus de brebis. Pour la première fois, la S100B est évaluée après injection de LPS et d'OCT concomitantes. La S100B diminue après l'injection de LPS et est plus faible dans le groupe OCT + LPS que dans le groupe OCT. Ces deux résultats sont cohérents.

Ce travail présente plusieurs limites. La S100B a été analysée uniquement dans le sérum, et pas dans le liquide céphalo-rachidien. Deuxièmement, nous n'avons pas effectué d'analyse anatomopathologique du cerveau. Ces deux analyses nous auraient permis de rechercher et d'éventuellement quantifier des lésions cérébrales. Les groupes OCT et OCT + LPS ont été constitués par la même équipe, dans les mêmes conditions et aux mêmes saisons mais pas la même année. La création non randomisée des deux groupes est une troisième limite.

Au total, la S100B est considérée comme un biomarqueur des lésions cérébrales prometteur. Son utilisation en obstétrique pour la détection précoce des fœtus et des nouveau-nés présentant un risque d'encéphalopathie pourrait donc être intéressante [90]. Ici, nous avons montré une diminution de la S100B au cours de d'un SRIF aigu. Lors d'une hypoxie concomitante et d'un SRIF aigu, la diminution de la S100B induite par SRIF pourrait masquer l'augmentation de la S100B induite par l'hypoxie. Cette constatation complique l'utilisation de la S100B pour détecter l'encéphalopathie néonatale en cas de SRIF. Toutefois, d'autres études sont nécessaires pour confirmer ces résultats. Il serait intéressant d'établir des corrélations entre la S100B et les lésions cérébrales histologiques pour vérifier la relation entre la S100B et le risque d'encéphalopathie.

5. Conclusion

Chez des fœtus de brebis proche du terme, la S100B diminue après injection de LPS. Contrairement à notre hypothèse, le SRIF est associé à une diminution de la S100B. Ce résultat compromet l'utilisation de la S100B pour détecter l'encéphalopathie néonatale en cas d'association à une infection fœtale aigue.

Bibliographie

- [1] Tita ATN, Andrews WW. Diagnosis and Management of Clinical Chorioamnionitis. *Clin Perinatol* 2010;37:339–54. <https://doi.org/10.1016/j.clp.2010.02.003>.
- [2] Gotsch F, Romero R, Kusanovic J, Mazaki-Tovi S, Pineles B, Erez O, et al. The Fetal Inflammatory Response Syndrome. *Clinical Obstetrics and Gynecology* 2007;50:652–83. <https://doi.org/10.1097/GRF.0b013e31811ebef6>.
- [3] Gomez R, Romero R, Ghezzi F, Yoon BH, Mazor M, Berry SM. The fetal inflammatory response syndrome. *Am J Obstet Gynecol* 1998;179:9.
- [4] Beucher G, Charlier C, Cazanave C. Infection intra-utérine : diagnostic et traitement. RPC rupture prématurée des membranes avant terme CNGOF. *Gynécologie Obstétrique Fertilité & Sénologie* 2018;46:1054–67. <https://doi.org/10.1016/j.gofs.2018.10.022>.
- [5] Maki Y, Furukawa S, Nakayama T, Oohashi M, Shiiba N, Furuta K, et al. Clinical chorioamnionitis criteria are not sufficient for predicting intra-amniotic infection. *The Journal of Maternal-Fetal & Neonatal Medicine* 2022;35:52–7. <https://doi.org/10.1080/14767058.2020.1711725>.
- [6] Shaffer F, Ginsberg JP. An Overview of Heart Rate Variability Metrics and Norms. *Front Public Health* 2017;5. <https://doi.org/10.3389/fpubh.2017.00258>.
- [7] Pavlov VA, Tracey KJ. The cholinergic anti-inflammatory pathway. *Brain, Behavior, and Immunity* 2005;19:493–9. <https://doi.org/10.1016/j.bbi.2005.03.015>.
- [8] 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* 2005;116:1070–4. <https://doi.org/10.1542/peds.2004-2461>.
- [9] Impey LWM, Greenwood CEL, Black RS, Yeh PS-Y, Sheil O, Doyle P. The relationship between intrapartum maternal fever and neonatal acidosis as risk factors for neonatal encephalopathy. *American Journal of Obstetrics and Gynecology* 2008;198:49.e1-49.e6. <https://doi.org/10.1016/j.ajog.2007.06.011>.
- [10] Higgins RD, Saade G, Polin RA, Grobman WA, Buhimschi IA, Watterberg K, et al. Evaluation and Management of Women and Newborns With a Maternal Diagnosis of Chorioamnionitis: Summary of a Workshop. *Obstet Gynecol* 2016;127:426–36. <https://doi.org/10.1097/AOG.0000000000001246>.
- [11] Chorioamnionitis and Risk for Maternal and Neonatal Sepsis: A Systematic Review and Meta-analysis - PMC n.d. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/ressources-electroniques.univ-lille.fr/pmc/articles/PMC8905581/> (accessed February 21, 2023).
- [12] Sarnat HB, Sarnat MS. Neonatal encephalopathy following fetal distress. A clinical and electroencephalographic study. *Arch Neurol* 1976;33:696–705. <https://doi.org/10.1001/archneur.1976.00500100030012>.
- [13] Nelson KB, Leviton A. How Much of Neonatal Encephalopathy Is due to Birth Asphyxia? *Am J Dis Child* 1991;145:1325–31. <https://doi.org/10.1001/archpedi.1991.02160110117034>.

- [14] Kurinczuk JJ, White-Koning M, Badawi N. Epidemiology of neonatal encephalopathy and hypoxic–ischaemic encephalopathy. *Early Human Development* 2010;86:329–38. <https://doi.org/10.1016/j.earlhumdev.2010.05.010>.
- [15] Wu YW, John M, Colford J. Chorioamnionitis as a Risk Factor for Cerebral Palsy: A Meta-analysis. *JAMA* 2000;284:1417–24. <https://doi.org/10.1001/jama.284.11.1417>.
- [16] Schendel DE, Schuchat A, Thorsen P. Public health issues related to infection in pregnancy and cerebral palsy. *Ment Retard Dev Disabil Res Rev* 2002;8:39–45. <https://doi.org/10.1002/mrdd.10011>.
- [17] Inder TE, Volpe JJ. Mechanisms of perinatal brain injury. *Semin Neonatol* 2000;5:3–16. <https://doi.org/10.1053/siny.1999.0112>.
- [18] Hagberg H, Mallard C, Ferriero DM, Vannucci SJ, Levison SW, Vexler ZS, et al. The role of inflammation in perinatal brain injury. *Nat Rev Neurol* 2015;11:192–208. <https://doi.org/10.1038/nrneurol.2015.13>.
- [19] Bartha AI, Foster-Barber A, Miller SP, Vigneron DB, Glidden DV, Barkovich AJ, et al. Neonatal encephalopathy: association of cytokines with MR spectroscopy and outcome. *Pediatr Res* 2004;56:960–6. <https://doi.org/10.1203/01.PDR.0000144819.45689.BB>.
- [20] Nelson KB, Dambrosia JM, Grether JK, Phillips TM. Neonatal cytokines and coagulation factors in children with cerebral palsy. *Ann Neurol* 1998;44:665–75. <https://doi.org/10.1002/ana.410440413>.
- [21] Armstrong-Wells J, Donnelly M, Post MD, Manco-Johnson MJ, Winn VD, Sébire G. Inflammatory predictors of neurologic disability after preterm premature rupture of membranes. *Am J Obstet Gynecol* 2015;212:212.e1-212.e9. <https://doi.org/10.1016/j.ajog.2014.09.016>.
- [22] Shi Z, Ma L, Luo K, Bajaj M, Chawla S, Natarajan G, et al. Chorioamnionitis in the Development of Cerebral Palsy: A Meta-analysis and Systematic Review. *Pediatrics* 2017;139:e20163781. <https://doi.org/10.1542/peds.2016-3781>.
- [23] Wu YW, Escobar GJ, Grether JK, Croen LA, Greene JD, Newman TB. Chorioamnionitis and cerebral palsy in term and near-term infants. *JAMA* 2003;290:2677–84. <https://doi.org/10.1001/jama.290.20.2677>.
- [24] Shatrov JG, Birch SCM, Lam LT, Quinlivan JA, McIntyre S, Mendz GL. Chorioamnionitis and cerebral palsy: a meta-analysis. *Obstet Gynecol* 2010;116:387–92. <https://doi.org/10.1097/AOG.0b013e3181e90046>.
- [25] Blume HK, Li CI, Loch CM, Koepsell TD. Intrapartum fever and chorioamnionitis as risks for encephalopathy in term newborns: a case-control study. *Dev Med Child Neurol* 2008;50:19–24. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8749.2007.02007.x>.
- [26] Nelson KB, Bingham P, Edwards EM, Horbar JD, Kenny MJ, Inder T, et al. Antecedents of neonatal encephalopathy in the Vermont Oxford Network Encephalopathy Registry. *Pediatrics* 2012;130:878–86. <https://doi.org/10.1542/peds.2012-0714>.

- [27] Tann CJ, Nakakeeto M, Willey BA, Sewegaba M, Webb EL, Oke I, et al. Perinatal risk factors for neonatal encephalopathy: an unmatched case-control study. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed* 2018;103:F250–6. <https://doi.org/10.1136/archdischild-2017-312744>.
- [28] Jenster M, Bonifacio SL, Ruel T, Rogers EE, Tam EW, Partridge JC, et al. Maternal or neonatal infection: association with neonatal encephalopathy outcomes. *Pediatr Res* 2014;76:93–9. <https://doi.org/10.1038/pr.2014.47>.
- [29] 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. *Seminars in Fetal and Neonatal Medicine* 2020;25:101146. <https://doi.org/10.1016/j.siny.2020.101146>.
- [30] Huleihel M, Golan H, Hallak M. Intrauterine infection/inflammation during pregnancy and offspring brain damages: Possible mechanisms involved. *Reprod Biol Endocrinol* 2004;2:17. <https://doi.org/10.1186/1477-7827-2-17>.
- [31] Nicolaidis KH, Economides DL, Soothill PW. Blood gases, pH, and lactate in appropriate- and small-for-gestational-age fetuses. *Am J Obstet Gynecol* 1989;161:996–1001. [https://doi.org/10.1016/0002-9378\(89\)90770-9](https://doi.org/10.1016/0002-9378(89)90770-9).
- [32] Maisonneuve E, Audibert F, Guilbaud L, Lathelize J, Jousse M, Pierre F, et al. Risk factors for severe neonatal acidosis. *Obstet Gynecol* 2011;118:818–23. <https://doi.org/10.1097/AOG.0b013e31822c9198>.
- [33] Ugwumadu A. Understanding cardiotocographic patterns associated with intrapartum fetal hypoxia and neurologic injury. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol* 2013;27:509–36. <https://doi.org/10.1016/j.bpobgyn.2013.04.002>.
- [34] Vanspranghels R, De Jonckheere J, Drumez E, Lauriot Dit Prevost A, Sharma D, Ghesquiere L, et al. Autonomic response to fetal acidosis using an experimental sheep model. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2020;246:151–5. <https://doi.org/10.1016/j.ejogrb.2020.01.018>.
- [35] 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 (1985)* 2005;99:1477–82. <https://doi.org/10.1152/jappphysiol.00431.2005>.
- [36] Doret M, Constans A, Gaucherand P. [Physiologic basis for fetal heart rate analysis during labour]. *J Gynecol Obstet Biol Reprod (Paris)* 2010;39:276–83. <https://doi.org/10.1016/j.jgyn.2010.01.004>.
- [37] Jonsson M, Ågren J, Nordén-Lindeberg S, Ohlin A, Hanson U. Neonatal encephalopathy and the association to asphyxia in labor. *Am J Obstet Gynecol* 2014;211:667.e1-8. <https://doi.org/10.1016/j.ajog.2014.06.027>.
- [38] Vayssière C, Yli B, Ayres-de-Campos D, Ugwumadu A, Loussert L, Hellström-Westas L, et al. EUROPEAN ASSOCIATION OF PERINATAL MEDICINE (EAPM) Position statement: Use of appropriate terminology for situations related to inadequate fetal oxygenation in labor.

European Journal of Obstetrics and Gynecology and Reproductive Biology 2024;294:55–7. <https://doi.org/10.1016/j.ejogrb.2024.01.006>.

[39] Seikku L, Gissler M, Andersson S, Rahkonen P, Stefanovic V, Tikkanen M, et al. Asphyxia, Neurologic Morbidity, and Perinatal Mortality in Early-Term and Postterm Birth. *Pediatrics* 2016;137:e20153334. <https://doi.org/10.1542/peds.2015-3334>.

[40] Task Force of the European Society of Cardiology and the North American Society of Pacing and Electrophysiology. Heart rate variability. Standards of measurement, physiological interpretation, and clinical use. Task Force of the European Society of Cardiology and the North American Society of Pacing and Electrophysiology. *Eur Heart J* 1996;17:354–81.

[41] Annunziata ML, Tagliaferri S, Esposito FG, Giuliano N, Mereghini F, Lieto AD, et al. Computerized analysis of fetal heart rate variability signal during the stages of labor. *Journal of Obstetrics and Gynaecology Research* 2016;42:258–65. <https://doi.org/10.1111/jog.12908>.

[42] Wretler S, Holzmann M, Graner S, Lindqvist P, Falck S, Nordström L. Fetal heart rate monitoring of short term variation (STV): a methodological observational study. *BMC Pregnancy and Childbirth* 2016;16:55. <https://doi.org/10.1186/s12884-016-0845-8>.

[43] 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;87:300–6. <https://doi.org/10.1080/00016340801898950>.

[44] Costa M, Goldberger AL, Peng C-K. Multiscale entropy analysis of biological signals. *Phys Rev E Stat Nonlin Soft Matter Phys* 2005;71:021906. <https://doi.org/10.1103/PhysRevE.71.021906>.

[45] Pincus SM, Goldberger AL. Physiological time-series analysis: what does regularity quantify? *Am J Physiol* 1994;266:H1643-1656. <https://doi.org/10.1152/ajpheart.1994.266.4.H1643>.

[46] Saboul D. Contributions of heart rate variability in the quantification of training load and athletes monitoring : methodological aspects and practical applications. 2013.

[47] Francis DP, Willson K, Georgiadou P, Wensel R, Davies LC, Coats A, et al. Physiological basis of fractal complexity properties of heart rate variability in man. *J Physiol* 2002;542:619–29. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.2001.013389>.

[48] Peng CK, Havlin S, Stanley HE, Goldberger AL. Quantification of scaling exponents and crossover phenomena in nonstationary heartbeat time series. *Chaos* 1995;5:82–7. <https://doi.org/10.1063/1.166141>.

[49] Rigoli LM, Lorenz T, Coey C, Kallen R, Jordan S, Richardson MJ. Co-actors Exhibit Similarity in Their Structure of Behavioural Variation That Remains Stable Across Range of Naturalistic Activities. *Sci Rep* 2020;10:6308. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-63056-x>.

[50] Jeanne M, Logier R, De Jonckheere J, Tavernier B. Heart rate variability during total intravenous anesthesia: Effects of nociception and analgesia. *Autonomic Neuroscience* 2009;147:91–6. <https://doi.org/10.1016/j.autneu.2009.01.005>.

- [51] Boselli E, Bouvet L, Bégou G, Dabouz R, Davidson J, Deloste J-Y, et al. Prediction of immediate postoperative pain using the analgesia/nociception index: a prospective observational study. *Br J Anaesth* 2014;112:715–21. <https://doi.org/10.1093/bja/aet407>.
- [52] Faye PM, De Jonckheere J, Logier R, Kuissi E, Jeanne M, Rakza T, et al. Newborn infant pain assessment using heart rate variability analysis. *Clin J Pain* 2010;26:777–82. <https://doi.org/10.1097/ajp.0b013e3181ed1058>.
- [53] Garabedian. Développement d'un nouvel indice reflet du bien être foetal : le Fetal Stress Index 2017.
- [54] 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. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0190463>.
- [55] 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;98:433–9. <https://doi.org/10.1111/aogs.13515>.
- [56] Ghesquière L, Perbet R, Lacan L, Hamoud Y, Stichelbout M, Sharma D, et al. Associations between fetal heart rate variability and umbilical cord occlusions-induced neural injury: An experimental study in a fetal sheep model. *Acta Obstet Gynecol Scand* 2022;101:758–70. <https://doi.org/10.1111/aogs.14352>.
- [57] Szalo IM, Taminiau B, Mainil J. Le lipopolysaccharide d'Escherichia coli : structure, biosynthèse et rôles. *Annales de Médecine Vétérinaire* 2006;150.
- [58] Durosier LD, Herry CL, Cortes M, Cao M, Burns P, Desrochers A, et al. Does heart rate variability reflect the systemic inflammatory response in a fetal sheep model of lipopolysaccharide-induced sepsis? *Physiol Meas* 2015;36:2089–102. <https://doi.org/10.1088/0967-3334/36/10/2089>.
- [59] Kyojuka H, Yasuda S, Hiraiwa T, Nomura Y, Fujimori K. The change of fetal heart rate short-term variability during the course of histological chorioamnionitis in fetal sheep. *European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology* 2018;228:32–7. <https://doi.org/10.1016/j.ejogrb.2018.06.015>.
- [60] Blad S, Welin A-K, Kjellmer I, Rosén KG, Mallard C. ECG and heart rate variability changes in preterm and near-term fetal lamb following LPS exposure. *Reprod Sci* 2008;15:572–83. <https://doi.org/10.1177/1933719107314060>.
- [61] Wang X, Rousset CI. Lipopolysaccharide-induced inflammation and perinatal brain injury. *Seminars in Fetal and Neonatal Medicine* 2006;11:343–53. <https://doi.org/10.1016/j.siny.2006.04.002>.
- [62] Lear CA, Davidson JO, Booth LC, Wassink G, Galinsky R, Drury PP, et al. Biphasic changes in fetal heart rate variability in preterm fetal sheep developing hypotension after acute on chronic lipopolysaccharide exposure. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2014;307:R387-395. <https://doi.org/10.1152/ajpregu.00110.2014>.

- [63] 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. *The Journal of Physiology* 2018;596:6093–104. <https://doi.org/10.1113/JP275434>.
- [64] Magawa S, Lear CA, Beacom MJ, King VJ, Kasai M, Galinsky R, et al. Fetal heart rate variability is a biomarker of rapid but not progressive exacerbation of inflammation in preterm fetal sheep. *Sci Rep* 2022;12:1771. <https://doi.org/10.1038/s41598-022-05799-3>.
- [65] De Jonckheere J, Logier R, Dassonneville A, Delmar G, Vasseur C. PhysioTrace: An efficient toolkit for biomedical signal processing. *Conf Proc IEEE Eng Med Biol Soc* 2005;7:6739–41. <https://doi.org/10.1109/IEMBS.2005.1616051>.
- [66] Coumans ABC, Garnier Y, Supçun S, Jensen A, Berger R, Hasaart THM. The effects of low-dose endotoxin on the umbilicoplacental circulation in preterm sheep. *J Soc Gynecol Investig* 2004;11:289–93. <https://doi.org/10.1016/j.jsigi.2003.12.006>.
- [67] Tournier A, Beacom M, Westgate JA, Bennet L, Garabedian C, Ugwumadu A, et al. Physiological control of fetal heart rate variability during labour: implications and controversies. *The Journal of Physiology* 2022;600:431–50. <https://doi.org/10.1113/JP282276>.
- [68] Fairchild KD, O’Shea TM. Heart Rate Characteristics: Physiometers for Detection of Late-Onset Neonatal Sepsis. *Clin Perinatol* 2010;37:581–98. <https://doi.org/10.1016/j.clp.2010.06.002>.
- [69] Garabedian C, Champion C, Servan-Schreiber E, Butruille L, Aubry E, Sharma D, et al. A new analysis of heart rate variability in the assessment of fetal parasympathetic activity: An experimental study in a fetal sheep model. *PLoS ONE* 2017;12:e0180653. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0180653>.
- [70] Guzik P, Piskorski J, Krauze T, Schneider R, Wesseling KH, Wykretowicz A, et al. Correlations between the Poincaré plot and conventional heart rate variability parameters assessed during paced breathing. *J Physiol Sci* 2007;57:63–71. <https://doi.org/10.2170/physiolsci.RP005506>.
- [71] Lear CA, Davidson JO, Booth LC, Wassink G, Galinsky R, Drury PP, et al. Biphasic changes in fetal heart rate variability in preterm fetal sheep developing hypotension after acute on chronic lipopolysaccharide exposure. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2014;307:R387-395. <https://doi.org/10.1152/ajpregu.00110.2014>.
- [72] Martelli D, Silvani A, McAllen RM, May CN, Ramchandra R. The low frequency power of heart rate variability is neither a measure of cardiac sympathetic tone nor of baroreflex sensitivity. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2014;307:H1005-1012. <https://doi.org/10.1152/ajpheart.00361.2014>.
- [73] Koome ME, Bennet L, Booth LC, Davidson JO, Wassink G, Gunn AJ. Ontogeny and control of the heart rate power spectrum in the last third of gestation in fetal sheep. *Exp Physiol* 2014;99:80–8. <https://doi.org/10.1113/expphysiol.2013.074567>.
- [74] Brown SM, Tate Q, Jones JP, Knox D, Kuttler KG, Lanspa M, et al. Initial fractal exponent of heart-rate variability is associated with success of early resuscitation in patients with severe

sepsis or septic shock: a prospective cohort study. *J Crit Care* 2013;28:10.1016/j.jcrc.2013.07.050. <https://doi.org/10.1016/j.jcrc.2013.07.050>.

[75] Gronwald T, Hoos O. Correlation properties of heart rate variability during endurance exercise: A systematic review. *Annals of Noninvasive Electrocardiology* 2020;25:e12697. <https://doi.org/10.1111/anec.12697>.

[76] Hermansen MC, Hermansen MG. Perinatal Infections and Cerebral Palsy. *Clinics in Perinatology* 2006;33:315–33. <https://doi.org/10.1016/j.clp.2006.03.002>.

[77] Hofer N, Kothari R, Morris N, Müller W, Resch B. The fetal inflammatory response syndrome is a risk factor for morbidity in preterm neonates. *American Journal of Obstetrics and Gynecology* 2013;209:542.e1-542.e11. <https://doi.org/10.1016/j.ajog.2013.08.030>.

[78] Intrauterine infection and the development of cerebral palsy - Yoon - 2003 - BJOG: An International Journal of Obstetrics & Gynaecology - Wiley Online Library n.d. <https://obgyn-onlinelibrary-wiley-com.ressources-electroniques.univ-lille.fr/doi/full/10.1046/j.1471-0528.2003.00063.x?sid=nlm%3Apubmed> (accessed January 17, 2020).

[79] 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. *American Journal of Obstetrics and Gynecology* 2010;202:82.e1-82.e9. <https://doi.org/10.1016/j.ajog.2009.08.020>.

[80] 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* 2014;93:93–101. <https://doi.org/10.1111/aogs.12286>.

[81] Burd I, Balakrishnan B, Kannan S. Models of fetal brain injury, intrauterine inflammation, and preterm birth. *Am J Reprod Immunol* 2012;67:287–94. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0897.2012.01110.x>.

[82] 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* 2019;1929:701–28. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-9030-6_44.

[83] Serpero LD, Pluchinotta F, Gazzolo D. The clinical and diagnostic utility of S100B in preterm newborns. *Clinica Chimica Acta* 2015;444:193–8. <https://doi.org/10.1016/j.cca.2015.02.028>.

[84] Bouvier D, Giguère Y, Pereira B, Bernard N, Marc I, Sapin V, et al. Cord blood S100B: reference ranges and interest for early identification of newborns with brain injury. *Clin Chem Lab Med* 2020;58:285–93. <https://doi.org/10.1515/cclm-2019-0737>.

[85] Gasparroni G, Graziosi A, Bersani I, Caulo M, Moataza B, Aboulgar H, et al. S100B protein, cerebral ultrasound and magnetic resonance imaging patterns in brain injured preterm infants. *Clin Chem Lab Med* 2021;59:1527–34. <https://doi.org/10.1515/cclm-2021-0278>.

- [86] Gayger-Dias V, Vizuete AF, Rodrigues L, Wartchow KM, Bobermin L, Leite MC, et al. How S100B crosses brain barriers and why it is considered a peripheral marker of brain injury. *Exp Biol Med (Maywood)* 2023;248:2109–19. <https://doi.org/10.1177/15353702231214260>.
- [87] Masaoka N, Nakajima Y, Morooka M, Tashiro H, Wada M, Maruta K, et al. The impact of intrauterine infection on fetal brain damage assessed by S100B protein concentrations in umbilical cord arteries. *J Matern Fetal Neonatal Med* 2016;29:2464–9. <https://doi.org/10.3109/14767058.2015.1087501>.
- [88] Friel LA, Romero R, Edwin S, Nien JK, Gomez R, Chaiworapongsa T, et al. The calcium binding protein, S100B, is increased in the amniotic fluid of women with intra-amniotic infection/inflammation and preterm labor with intact or ruptured membranes. *J Perinat Med* 2007;35:385–93. <https://doi.org/10.1515/JPM.2007.101>.
- [89] Murillo C, Eixarch E, Rueda C, Larroya M, Boada D, Grau L, et al. Evidence of brain injury in fetuses of mothers with preterm labor with intact membranes and preterm premature rupture of membranes. *Am J Obstet Gynecol* 2024:S0002-9378(24)00531-3. <https://doi.org/10.1016/j.ajog.2024.04.025>.
- [90] 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* 2021;264:173–7. <https://doi.org/10.1016/j.ejogrb.2021.06.042>.
- [91] Garnier Y, Berger R, Alm S, von Duering MU, Coumans ABC, Michetti F, et al. Systemic endotoxin administration results in increased S100B protein blood levels and periventricular brain white matter injury in the preterm fetal sheep. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2006;124:15–22. <https://doi.org/10.1016/j.ejogrb.2005.05.014>.
- [92] 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* 2009;16:758–66. <https://doi.org/10.1177/1933719109335801>.
- [93] Donato R, Cannon BR, Sorci G, Riuzzi F, Hsu K, Weber DJ, et al. Functions of S100 Proteins. *Curr Mol Med* 2013;13:24–57.
- [94] Steiner J, Bernstein H-G, Schiltz K, Haase T, Meyer-Lotz G, Dobrowolny H, et al. Decrease of serum S100B during an oral glucose tolerance test correlates inversely with the insulin response. *Psychoneuroendocrinology* 2014;39:33–8. <https://doi.org/10.1016/j.psyneuen.2013.10.001>.
- [95] Baik SJ, Kim TH, Yoo K, Moon IH, Choi JY, Chung KW, et al. Decreased S100B expression in chronic liver diseases. *Korean J Intern Med* 2017;32:269–76. <https://doi.org/10.3904/kjim.2015.296>.
- [96] Celikbilek A, Akyol L, Sabah S, Tanik N, Adam M, Celikbilek M, et al. S100B as a glial cell marker in diabetic peripheral neuropathy. *Neurosci Lett* 2014;558:53–7. <https://doi.org/10.1016/j.neulet.2013.10.067>.

[97] Chaves ML, Camozzato AL, Ferreira ED, Piazenski I, Kochhann R, Dall'Igna O, et al. Serum levels of S100B and NSE proteins in Alzheimer's disease patients. *J Neuroinflammation* 2010;7:6. <https://doi.org/10.1186/1742-2094-7-6>.

[98] Guerra MC, Tortorelli LS, Galland F, Da Ré C, Negri E, Engelke DS, et al. Lipopolysaccharide modulates astrocytic S100B secretion: a study in cerebrospinal fluid and astrocyte cultures from rats. *J Neuroinflammation* 2011;8:128. <https://doi.org/10.1186/1742-2094-8-128>.

Résumé

Introduction : L'infection fœtale avec syndrome de réponse inflammatoire fœtale (SRIF) pendant le travail est associée au risque de développer une septicémie néonatale, des troubles du développement neurologique, une paralysie cérébrale, voire un décès. Lorsque l'acidose se surajoute au SRIF pendant le travail, cela induit une situation à très haut risque pour le fœtus. Les méthodes actuelles pour diagnostiquer le SRIF sont insuffisantes. Nous avons émis l'hypothèse que l'analyse de la variabilité de la fréquence cardiaque fœtale (VFC) pourrait être utilisée pour détecter le SRIF. Par conséquent, le premier objectif de notre travail était d'explorer si la VFC se modifiait au cours d'un SRIF. Le second objectif était d'étudier les changements de la VFC pendant une hypoxie progressive associée à un SRIF, en comparaison à une hypoxie isolée.

Matériel et méthodes : Le modèle de SRIF était obtenu par l'injection de lipopolysaccharide (LPS) par voie intraveineuse à des fœtus de brebis instrumentés, proches du terme. Un groupe témoin recevait une injection de sérum physiologique. Les paramètres hémodynamiques, les gaz du sang, le dosage d'interleukine-6 (IL-6) et 14 indices de VFC étaient enregistrés pendant six heures. Des comparaisons étaient faites entre les groupes LPS et le groupe témoin toutes les heures. Pour le second objectif, deux autres groupes ont été comparés : l'un avec une hypoxie isolée, l'autre avec une hypoxie associée à un SRIF. L'hypoxie progressive était induite par des occlusions répétées du cordon ombilical d'une minute pendant trois phases d'occlusions : légères, modérées et sévères. Les paramètres hémodynamiques et gazométriques ainsi que la VFC étaient comparés entre les groupes.

Résultats : Concernant le premier objectif, 15 agneaux ont été instrumentés. Dans le groupe LPS (n = 8), l'IL-6 augmentait significativement après l'injection de LPS ($p < 0,001$), confirmant ainsi le modèle SRIF. La fréquence cardiaque fœtale augmentait significativement à partir de H5 ($p < 0,01$). Cinq mesures de la VFC étaient significativement différentes entre le groupe LPS et le groupe témoin (le SDNN (déviatoin standard des intervalles NN / Standard Deviation of Normal to Normal), la SD2 (déviatoin standard 2 / Standard Deviation 2), le DFA (analyse des fluctuations sans tendances / Detrended Fluctuation Analysis) alpha 1 et 2 et la VLT (Variabilité à Long Terme)). Concernant le second objectif, la mortalité était plus élevée dans le groupe hypoxie + SRIF (n = 4/9) en comparaison au groupe hypoxie isolée (n = 0/9). L'état gazométrique était modifié plus tôt en cas d'hypoxie associé au SRIF. Après les occlusions légères, le pH était significativement plus bas (7,22 [7,12-7,24] vs 7,28 [7,23-7,34], $p = 0,01$) et les lactates étaient significativement plus élevés (10,3 mmol/L [9,4-11,0] vs 6,0 mmol/L [4,1-8,2], $p < 0,001$) dans le groupe hypoxie + SRIF. Après les occlusions légères, six indices de VFC étaient significativement augmentés dans le groupe hypoxie + SRIF en comparaison au groupe hypoxie isolée (le SDNN, le RMSSD (racine carrée de la moyenne des carrés des différences entre intervalles NN successif / Root Mean Square of Successive Differences), la VCT (Variabilité à court terme), la VLT, les LF (basses fréquences / Low Frequencies) et les HF (hautes fréquences / High frequencies)). Après les occlusions modérées, le SDNN et le RMSSD restaient significativement augmentés.

Conclusion : Au cours d'un SRIF aigu, isolé ou associé à une hypoxie, la VFC est significativement modifiée. Ces changements semblent être médiés par une augmentation de la variabilité globale et une perte de complexité de la VFC. Ainsi, la VFC pourrait être utilisée pour la détection précoce de ces deux situations à risque.