



HAL
open science

Imagerie ultrarapide ultrasonore pour la caractérisation des fonctions cérébrales appliquée aux pathologies périnatales

Flora Faure

► **To cite this version:**

Flora Faure. Imagerie ultrarapide ultrasonore pour la caractérisation des fonctions cérébrales appliquée aux pathologies périnatales. Imagerie médicale. Université Paris sciences et lettres, 2023. Français. NNT : 2023UPSL020 . tel-04276585

HAL Id: tel-04276585

<https://pastel.hal.science/tel-04276585>

Submitted on 9 Nov 2023

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

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



THÈSE DE DOCTORAT
DE L'UNIVERSITÉ PSL

Préparée à l'Ecole supérieure de physique et de chimie
industrielles de la ville de Paris, Laboratoire Physique pour la
Médecine – UMR 8063 – INSERM 1273

**Imagerie ultrarapide ultrasonore pour la caractérisation
des fonctions cérébrales appliquée aux pathologies
périnatales**

Soutenue par

Flora FAURE

Le 16 juin 2023

Ecole doctorale n° 391

Sciences mécanique,
acoustique, électronique et
robotique

Spécialité

Acoustique

Composition du jury :

| | |
|---|------------------------------|
| Lucie, HERTZ-PANNIER Directrice de recherche, CEA | <i>Présidente du Jury</i> |
| Jean-Michel, ESCOFFRE Chargé de recherche, Université de Tours | <i>Rapporteur</i> |
| Fabrice, WALLOIS Professeur, Université de Picardie | <i>Rapporteur</i> |
| Valérie, BIRAN Professeur, Hôpital Robert Debré | <i>Examinatrice</i> |
| Nadège, ROCHE-LABARBE Maître de conférences, UNICAEN | <i>Examinatrice</i> |
| Mickaël, TANTER Directeur de recherche, ESPCI | <i>Examineur</i> |
| Charlie, DEMENE Maître de conférences, ESPCI | <i>Co-encadrant de thèse</i> |
| Franck, LEBRIN Associate Professor, ESPCI | <i>Directeur de thèse</i> |

Remerciements

Je voudrais tout d'abord remercier mes encadrants de thèse Franck Lebrin et Charlie Demené.

Merci Franck d'avoir accepté de prendre cette responsabilité et d'avoir été disponible à chaque fois que nécessaire.

Charlie, merci de m'avoir accepté au début pour un stage puis de m'avoir donné l'opportunité de poursuivre ce projet en thèse, ce fut un réel plaisir de travailler avec toi. J'espère être bientôt invitée à ta soutenance d'HDR. Je te remercie également pour la confiance que tu m'as accordée, pour tes qualités scientifiques et humaines qui m'ont permis de travailler en toute sérénité. Au-delà de ça, je souhaite te remercier d'avoir eu pour objectif, tout au long de cette thèse, de me donner confiance en moi et mes travaux.

Je souhaite ensuite remercier le Dr. Jean-Michel Escoffre et le Pr. Fabrice Wallois d'avoir accepté de rapporter mes travaux de thèses ainsi qu'aux autres membres du jury Pr. Lucie Hertz-Pannier, Dr. Nadège Roche-Labarbe, Dr. Mickael Tanter et Pr. Valérie Biran d'avoir pris le temps d'évaluer et de s'intéresser à mes travaux.

Je souhaite remercier le Dr. Gilles Damon, neuropédiatre, pour sa relecture bienveillante.

Cette thèse n'aurait pas été possible sans les nombreuses collaborations effectuées. Je tiens donc à remercier très chaleureusement la Professeure Valérie Biran, chef de service en néonatalogie à l'hôpital Robert Débré et ainsi que l'ensemble de son équipe, qui montre que la collaboration entre médecin et physicien est source de beaux projets. Je remercie également le Professeur Olivier Baud de l'Unité de néonatalogie des Hôpitaux Universitaires de Genève, dont nos échanges ont toujours été sources d'inspiration et d'enrichissement.

Je remercie le projet européen PREMSTEM, qui en plus d'avoir financé ma thèse, m'a permis d'ouvrir mes horizons en matière de biologie et plus particulièrement de neuroinflammation. Je remercie en particulier l'équipe du laboratoire NeuroDiderot à l'hôpital Robert Debré, qui, grâce à leur engouement pour le fUS m'ont permis d'obtenir de nombreuses données précliniques. Un grand merci à Pierre Gressens, Cindy Bokobsza et Juliette Van Steewickel pour cette collaboration.

Evidemment, je remercie tous les membres du laboratoire Physique pour la Médecine. Je réalise la chance que j'ai eu de venir au laboratoire et d'être entourée de gens aussi formidables et d'avoir pu partager des moments inoubliables, de Paris à Cargèse, en passant par Göttingen, Thessalonique ou Venise. Mickael et Mathieu, merci de faire en sorte que ce laboratoire soit si formidable. Merci à tous les autres chercheurs Thomas Deffieux, Clément Papadacci, Béatrice Berthon, Sophie Pezet, Jean-François Aubry et Justine Robin d'avoir toujours été disponible si besoin. Merci à tous les ingénieurs sans qui tout ce travail ne serait pas possible : Alexandre Houdoin, Florian Segura, Hicham Serroune, Philippe Mateo, Natalie Ialy-Radio, Igor Dimitrijevic, Youenn Travert-Jouanneau et Laurent Moizot. Merci également à l'équipe administrative (ancienne et nouvelle) Salima Hamoumi, Hinde Kakouri, Nicole Mercier, Paul Larrivoire et David Locoh-Donou sans qui nous ne pourrions pas faire grand-chose. Merci aussi Patricia Daenens, toi qui connais tous les secrets du laboratoire. Merci à Thu-Mai Nguyen, pour

Remerciements

ton investissement sans faille au laboratoire et Alexandre Dizieux pour imaginer si merveilleusement nos recherches.

Tout particulièrement merci à mes co-bureaux d'avoir rendu ce lieu de travail si plaisant. Merci aux anciens qui n'ont connu que le bureau sans fenêtre à Bastille : Mohamed Nouhoum pour tes plages horaires étendues permettant de ne jamais avoir été seule au bureau, Thomas Bancel pour ton hygiène dentaire impeccable, David Attali pour les virées mexicaines et Jean-Baptiste Guillaumin pour nos pauses goûters tactiques pendant ces 3 années. Merci aux (plus ou moins) nouveaux : Benjamin Guérif, Mathis Vert, Samuel Diebolt, Henri Leroy et à ceux que l'on a accueilli grâce au déménagement Adrien Bertolo et Felipe Cybis Pereira. J'attends encore le jour où nous serons tous présents en même temps ! Merci également aux autres doctorants et post-doctorants, présents ou passés, pour les moments passés ensemble au labo ou en dehors : Jérôme Baranger, Hannah Bendjador, Haleh Soleimanzad, Laura Zamfirov, Marta Matei, Julien Claron, Hugues Favre, Oscar Demeulanaere, Thomas Tiennot, Noémi Renaudin, Sofiane Decombas, Clémentine Morisset, Heiva Leblay, Olivier Pedreira, Cyprien Blanquart, Solène Ruinet, Manon Caudoux, Maxime Daniel, Clara Magnier, Matthieu Blons, Anatole Jimenez, Tom Manuel, Ge Zhang, Dimitris Perdios, Lauriane Delay, Toûka Meki, Janie Hanrard, Nabil Haidour, Giulia Rizzo, Silvia Cazzanelli, Victor Blanvillain, Nicolas Zucker, Benoît Béliard.

Je n'en serais probablement pas arrivée là sans tous ceux qui m'ont soutenu bien avant que ne commence cette thèse.

Merci à mes amies d'enfance Isabelle, Floriane, Léa, Ophélie, Romane, Margaux, Marine et Inès sur qui je sais que je peux toujours compter, malgré la distance et les différents chemins empruntés.

Merci à mes amies de prépa : Marion pour ton énergie intarissable, Mathilde pour les invitations au bord de mer et Clarisse pour cette année de coloc (merci pour les repas cuisinés avec amour entre deux déplacements et/ou entraînements de triathlon !).

Du ski aux randonnées, en passant par les jacuzzis, les audioguides et les soirées, merci Laure, Sylvain, Lucas, Constantin et Corentin pour tous les merveilleux moments passés ensemble depuis la sortie des Mines. Merci, aussi, à tous mes autres amis des Mines, c'est toujours un plaisir de vous voir. À quelques mois près, on aurait pu fêter cette thèse dans notre bar !

Enfin, merci Brice pour ton soutien, ton ambition et ton amour qui m'ont fait grandir ces dernières années.

Je souhaite avant tout remercier toute ma famille pour leur affection et plus particulièrement mes parents, Danièle et Henri, de m'avoir depuis toujours poussée à élargir mes horizons. De par vos parcours, vous m'avez probablement guidé à cette frontière entre ingénierie et médecine et je vous remercie de m'avoir rendu ce parcours plus facile de par votre soutien indéfectible. Pour ce manuscrit plus particulièrement, merci pour les multiples relectures et vos remarques pertinentes. À mon frère Loïs, je ne pouvais rêver mieux comme grand-frère, merci pour ta bienveillance et d'être toujours si fier de moi.

Résumé de thèse

Ces travaux de thèse portent sur l'utilisation de l'imagerie ultrasonore ultrarapide pour l'évaluation de la fonction vasculaire et de la connectivité fonctionnelle cérébrales dans le cadre du suivi de pathologies néonatales. La naissance prématurée (avant 37 semaines de gestation) est souvent associée à une perturbation cérébrovasculaire pouvant entraîner des lésions cérébrales détectables dans les semaines suivant la naissance. Toutefois, leur détection n'est pas suffisante pour établir une prédiction des troubles neurodéveloppementaux lourds (paralysie cérébrale, autisme, hyperactivité,...) pouvant résulter de ces lésions. La nécessité d'évaluer la fonction vasculaire du cerveau et l'activité cérébrale du nouveau-né le plus tôt possible est donc primordiale pour espérer détecter des anomalies précocement. Dans un premier temps, nous nous sommes intéressés à l'analyse de la résistivité vasculaire cérébrale chez des nouveau-nés. L'utilisation de l'imagerie Doppler ultrarapide permettant d'évaluer la résistivité dans l'ensemble du champ de vue simultanément, a permis de différencier les effets du diamètre et de l'arbre vasculaire du vaisseau considéré sur la résistivité. Cette analyse a aussi permis de décrire des nouveaux marqueurs globaux de résistivité vasculaire cérébrale pouvant être utilisés pour la prédiction d'apparition de lésions de la substance blanche. De plus, des mesures de rigidités cérébrales, évaluées par élastographie par ondes de cisaillement, ont été réalisées et ont permis d'améliorer la prédiction d'apparition de ces lésions. Dans un deuxième temps, nous nous sommes intéressés à la mesure de l'activité cérébrale du cerveau en développement. Par rapport à d'autres techniques d'imagerie fonctionnelle existantes (IRMf, fNIRS, EEG), l'imagerie fonctionnelle par ultrasons (fUS), qui repose sur la mesure des fluctuations du volume sanguin cérébral (CBV) liées à l'activité neuronale, combine une bonne résolution spatiale et temporelle tout en étant utilisable au chevet du patient. Une étape essentielle est le prétraitement des données pour s'assurer de retirer correctement les artefacts et ne conserver que les fluctuations liées à l'activité cérébrale. Nous présentons une méthode de prétraitement des données fUS basée sur l'analyse en composantes canoniques qui permet à la fois de supprimer des artefacts extérieurs ou des changements hémodynamiques systémiques. La connectivité fonctionnelle revêt un caractère dynamique que nous avons cherché à identifier par différentes techniques. Grâce au prétraitement et à l'analyse dynamique de connectivité, nous montrons, en collaboration avec l'équipe de Pierre Gressens, l'influence d'une naissance par césarienne et d'une inflammation systémique néonatale sur la connectivité dynamique dans deux études précliniques. Dans un troisième temps, nous montrons que ces techniques de traitements et d'analyse dynamique de la connectivité sont utilisables en clinique chez le nouveau-né. En particulier, nous sommes parvenus à montrer une différence de connectivité dynamique entre le thalamus et le cortex entre des nouveau-nés prématurés et à terme. Ensuite nous avons pu évaluer, chez des nouveau-nés prématurés, l'effet d'une écoute régulière de musique lors du séjour au centre de soins intensifs sur la connectivité cérébrale évaluée par le fUS. Dans ces études cliniques, nous avons cependant été limités notamment par le champ de vue possible avec les échographes et les sondes actuels. Nous abordons brièvement la conception et réalisation d'un nouveau neuroimageur clinique pour l'évaluation de l'activité fonctionnelle du nouveau-né. L'ensemble des résultats montrent que l'utilisation du fUS, aussi bien en clinique qu'en préclinique, est capable de révéler des altérations subtiles de la connectivité cérébrale chez le nouveau-né et que le fUS a tout le potentiel pour devenir une modalité d'imagerie pour la détection et le suivi de pathologies néonatales en routine clinique.

Summary

This thesis focuses on the application of ultrafast ultrasound imaging for the evaluation of cerebral vascular function and functional connectivity in the context of monitoring neonatal pathologies. Preterm birth (before 37 weeks of gestation) is often associated with cerebrovascular disruption that can lead to detectable brain lesions in the weeks following birth. However, their detection is not sufficient to predict severe neurodevelopmental disorders (cerebral palsy, autism, hyperactivity,...) that may result from these lesions. The need to evaluate the vascular function and the cerebral activity of the newborn brain as early as possible is therefore essential to detect abnormalities earlier. First, we were interested in the analysis of cerebral vascular resistivity in newborns. The use of ultrafast Doppler imaging, which allows to evaluate the resistivity in the whole field of view simultaneously, allowed to differentiate the effects of the diameter and the vascular tree of the considered vessel on the resistivity. This analysis also resulted in the description of new global markers of cerebral vascular resistivity that can be used for white matter lesions prediction. In addition, measurements of cerebral stiffness, assessed by shear wave elastography, were performed and helped to improve white matter lesions prediction. In a second step, we were interested in measuring brain activity in the developing brain. Compared to other existing functional imaging techniques (fMRI, fNIRS, EEG), functional ultrasound imaging (fUS), which is based on the measurement of cerebral blood volume (CBV) fluctuations related to neuronal activity, combines good spatial and temporal resolution while being usable at the bedside. An essential step is the preprocessing of the data to ensure that artifacts are properly removed and that only fluctuations related to brain activity are retained. We present a method for preprocessing fUS data based on canonical component analysis that allows both removal of external artifacts and systemic hemodynamic changes. Functional connectivity can be analysed in a dynamic through various techniques. Thanks to preprocessing and dynamic connectivity analysis, we show, in collaboration with Pierre Gressens' team, the influence of caesarean birth and neonatal systemic inflammation on dynamic connectivity in two preclinical studies. In a third step, we show that these techniques of treatment and dynamic connectivity analysis can be used in the clinic in newborns. In particular, we were able to show a difference in dynamic connectivity between the thalamus and the cortex between premature and full-term newborns. Then we were able to evaluate, in preterm newborns, the effect of regular music listening during the stay in the intensive care center on the brain connectivity evaluated by fUS. In these clinical studies, however, we were limited in particular by the field of view possible with current ultrasound scanners and probes. We briefly discuss the design and realization of a new clinical neuroimager for the evaluation of functional activity in the newborn. The overall results show that the use of fUS, both in clinical and preclinical settings, is capable of revealing subtle alterations of brain connectivity in the newborn and that fUS has the potential to become a imaging modality for the detection and monitoring of neonatal pathologies in clinical routine.

Table des matières

Chapitre 1 : Introduction générale

| | |
|--|----|
| 1.1. Pathologies cérébrales néonatales | 10 |
| 1.1.1. Naissances et prématurité | 10 |
| 1.1.2. Quelques éléments sur la structure et le fonctionnement du cerveau..... | 11 |
| 1.1.3. Lésions cérébrales du prématuré | 18 |
| 1.2. État de l'art de l'imagerie cérébrale du nouveau-né | 21 |
| 1.2.1. Méthodes d'imagerie utilisées en routine clinique pour la détection d'anomalies morphologiques | 21 |
| 1.2.2. Méthodes d'imagerie pour la détection des perturbations de la fonction vasculaire cérébrale..... | 24 |
| 1.2.3. Méthodes d'imagerie fonctionnelle pour évaluer l'activité neuronale..... | 27 |
| 1.3. Imagerie ultrasonore ultrarapide..... | 30 |
| 1.3.1. Rappel des principes de l'imagerie biomédicale conventionnelle par ultrasons..... | 30 |
| 1.3.2. Principe de l'imagerie ultrasonore ultrarapide..... | 34 |
| 1.3.3. Imagerie Doppler ultrarapide, pour imager le mouvement du sang..... | 36 |
| 1.3.4. Imagerie fonctionnelle par ultrasons (fUS), pour imager l'activité cérébrale..... | 38 |
| 1.4. Objectifs de la thèse..... | 39 |
| 1.4.1. Développer une méthode d'analyse quantitative de la résistivité vasculaire cérébrale chez le nouveau-né pour la prédiction d'apparition de lésions de la substance blanche et étudier l'apport de la mesure de rigidité du cerveau..... | 40 |
| 1.4.2. Améliorer les techniques de prétraitement et d'analyse dynamique de la connectivité fonctionnelle à l'état de repos et valider l'utilisation du fUS pour la détection d'altérations cérébrales néonatales de modèles précliniques..... | 40 |
| 1.4.3. Confirmer et améliorer la capacité du fUS à détecter des altérations cérébrales subtiles chez le nouveau-né humain | 41 |
| 1.5. Bibliographie du chapitre | 42 |

Chapitre 2 : Imagerie Doppler Ultrarapide quantitative pour le suivi de la résistivité cérébrale chez le nouveau-né humain et apport de la mesure de la rigidité des tissus cérébraux

| | |
|--|----|
| 2.1. Introduction à la résistivité vasculaire cérébrale..... | 46 |
| 2.1.1. L'index de résistivité mesuré par Doppler conventionnel pulsé et son utilisation clinique..... | 46 |
| 2.1.2. L'imagerie Doppler Ultrarapide permet de combiner quantification et imagerie..... | 49 |

| | |
|---|----|
| 2.1.3. Objectifs du chapitre..... | 50 |
| 2.2. Méthodes | 51 |
| 2.2.1. Inclusion des patients..... | 51 |
| 2.2.2. Acquisitions Doppler Ultrarapide..... | 51 |
| 2.2.3. Filtrage SVD semi-automatique..... | 54 |
| 2.2.4. Estimation du diamètre local des vaisseaux..... | 56 |
| 2.2.5. Analyse spectrale de l'UfD pour le calcul de l'index local de résistivité..... | 62 |
| 2.2.6. Différenciation des flux artériels et veineux | 63 |
| 2.2.7. Analyse de la résistivité en fonction du diamètre des vaisseaux..... | 64 |
| 2.2.8. Acquisitions d'élastographie par onde de cisaillement..... | 66 |
| 2.2.9. Détermination des nouveau-nés pathologiques à partir de l'IRM à l'âge équivalent au terme..... | 67 |
| 2.2.10. Évaluation de la performance d'une classification des nouveau-nés pathologiques.. | 68 |
| 2.3. Résultats..... | 69 |
| 2.3.1. La résistivité augmente avec le diamètre au sein d'un arbre vasculaire..... | 69 |
| 2.3.2. La résistivité est plus grande chez les bébés prématurés que ceux nés à terme..... | 71 |
| 2.3.3. La résistivité augmente avec l'âge postnatal..... | 71 |
| 2.3.4. La pente de la résistivité en fonction du diamètre diffère chez les nouveau-nés prématurés à la naissance et semble se normaliser avec le temps..... | 72 |
| 2.3.5. La résistivité d'un vaisseau dépend de l'arbre vasculaire auquel il appartient..... | 73 |
| 2.3.6. L'évolution de la résistivité en fonction du diamètre est prédictive de lésions de la substance blanche détectées par IRM..... | 74 |
| 2.3.7. L'apport complémentaire de l'élastographie pour la détection de lésions de la substance blanche | 76 |
| 2.4. Discussion..... | 79 |
| 2.5. Conclusion du chapitre..... | 83 |
| 2.6. Bibliographie du chapitre | 85 |
| Chapitre 3 : Études de la connectivité fonctionnelle dans des modèles précliniques d'altérations cérébrales néonatales subtiles | |
| 3.1. Introduction à la connectivité fonctionnelle par ultrasons..... | 89 |
| 3.1.1. Réseaux cérébraux..... | 89 |
| 3.1.2. Preuve de concept de l'imagerie fonctionnelle à l'état de repos par imagerie fonctionnelle ultrasonore (fUS)..... | 92 |

| | |
|--|-----|
| 3.1.3. Signal fUS et activité cérébrale | 94 |
| 3.1.4. Objectifs du chapitre..... | 95 |
| 3.2. Développement de méthodes d'évaluation de la connectivité fonctionnelle statique..... | 96 |
| 3.2.1. Prétraitement du signal fUS pour la connectivité statique..... | 96 |
| 3.2.2. Analyse de la connectivité statique | 99 |
| 3.3. Développement de méthodes d'évaluation de la connectivité fonctionnelle dynamique. | 100 |
| 3.3.1. Prétraitement par analyse canonique des corrélations..... | 101 |
| 3.3.2. Présentation des méthodes d'analyse de la connectivité fonctionnelle dynamique.. | 106 |
| 3.3.3. Comparaison des méthodes d'analyse de connectivité fonctionnelle dynamique | 113 |
| 3.4. Étude d'une inflammation systémique postnatale sur la connectivité fonctionnelle à P30 chez la souris | 116 |
| 3.4.1. Protocole | 116 |
| 3.4.2. Résultats de connectivité statique..... | 120 |
| 3.4.3. Résultats de connectivité dynamique | 122 |
| 3.4.4. Discussion..... | 125 |
| 3.5. Étude d'une naissance par césarienne et d'une inflammation postnatale sur la connectivité à P30 chez la souris | 126 |
| 3.5.1. Protocole | 126 |
| 3.5.2. Résultat de la connectivité statique | 129 |
| 3.5.3. Résultats de la connectivité dynamique | 130 |
| 3.5.4. Discussion..... | 136 |
| 3.6. Discussion générale | 137 |
| 3.7. Conclusions..... | 141 |
| 3.8. Bibliographie du chapitre | 142 |
| Chapitre 4 : Évaluation de la connectivité fonctionnelle à l'état de repos chez le nouveau- né humain et translation clinique | |
| 4.1. Introduction du chapitre..... | 147 |
| 4.2. Étude de la connectivité fonctionnelle à l'état de repos chez les nouveau-nés à terme et prématurés..... | 149 |
| 4.2.1. Travaux précédents sur l'imagerie fUS pour l'étude de la connectivité cérébrale à l'état de repos chez le nouveau-né | 149 |
| 4.2.2. Méthodes | 151 |
| 4.2.3. Résultats | 154 |

Table des matières

| | |
|--|-----|
| 4.2.4. Discussion..... | 156 |
| 4.3. Confirmation de la faisabilité de l'évaluation de la connectivité fonctionnelle à l'âge équivalent au terme chez le nouveau-né prématuré..... | 157 |
| 4.3.1. Méthodes..... | 158 |
| 4.3.2. Résultats..... | 163 |
| 4.3.3. Discussion..... | 167 |
| 4.4. Limitations actuelles de l'imagerie fonctionnelle chez le nouveau-né et perspectives pour un nouvel neuro-imageur..... | 168 |
| 4.4.1. Limitations actuelles de l'imagerie fonctionnelle chez le nouveau-né et cahier des charges de l'échographe..... | 168 |
| 4.4.2. Solutions techniques étudiées pour le neuro-imageur de la connectivité fonctionnelle du nouveau-né..... | 170 |
| 4.4.3. Perspectives d'applications..... | 178 |
| 4.5. Discussion..... | 179 |
| 4.6. Bibliographie du chapitre..... | 183 |
| Conclusion générale | |
| Communications scientifiques | |

Chapitre 1.

Introduction générale

Afin de mieux appréhender les travaux présentés dans ce manuscrit, nous aborderons d’abord la prématurité et quelques éléments sur le cerveau et son développement pour comprendre l’impact de la prématurité sur le neurodéveloppement et son risque d’engendrer des troubles à long terme (1.1). Nous présenterons ensuite les différentes techniques existantes pour imager la morphologie, la vascularisation et le fonctionnement du cerveau du nouveau-né en fonction de leur portabilité. En effet, pour une utilisation de routine en unité de soins néonataux, la méthode d’imagerie idéale doit avant tout être portable pour être utilisable au chevet du patient (1.2). Enfin, après un rappel des principes de l’imagerie ultrasonore conventionnelle focalisée, nous détaillerons les principes de l’imagerie ultrasonore ultrarapide, ses avantages en comparaison à l’imagerie ultrasonore conventionnelle et ses différentes modalités permettant d’imager le cerveau qui sont à la base des travaux de cette thèse (1.3).

1.1. Pathologies cérébrales néonatales

1.1.1. Naissances et prématurité

Une des populations les plus à risques de développer des pathologies cérébrales néonatales est celle des enfants prématurés. En 2010, on estime à 15 millions le nombre de naissances prématurées chaque année dans le monde (dont 60 000 en France), soit environ 11 % des naissances [1] et ce taux est en augmentation dans la quasi-totalité des pays. La prématurité se définit d’après l’Organisation Mondiale de la Santé par une naissance avant 37 semaines d’aménorrhée (SA), contrairement à la naissance à terme qui compte au moins 40 semaines de gestation. On distingue plusieurs stades de prématurité : l’extrême prématurité (naissance avant 28 SA), la grande prématurité (entre 28 et 32 SA) et la prématurité moyenne (entre 32 et 37 SA).

Les complications à la suite d’une naissance prématurée restent la première cause de mortalité chez les enfants de moins de 5 ans [2] mais le taux de mortalité est très inégal en fonction du pays. L’amélioration des soins portés aux prématurés, particulièrement dans les pays développés, a permis de réduire le taux de mortalité [3] mais ces enfants restent très à risques de développer des pathologies handicapantes à vie [4] à tout stade de prématurité. L’incidence de ces pathologies est proportionnelle avec le degré de prématurité. Ces pathologies sont pour la plupart des troubles neurodéveloppementaux (TND), moteurs ou cognitifs, dus à une altération cérébrale durant la période prénatale, périnatale ou postnatale. Cependant, il est très difficile d’obtenir une prédiction fiable

des conséquences neurologiques à long terme pour ces enfants prématurés, et les coûts émotionnel et financier pour les familles concernées restent très élevés.

Les altérations cérébrales et les troubles neurodéveloppementaux évoqués peuvent évidemment aussi atteindre les nouveau-nés nés à terme. L'intérêt d'imager le cerveau du nouveau-né le plus précocement possible est donc crucial pour l'ensemble de la population néonatale pour approfondir les connaissances sur la maturation cérébrale et diagnostiquer au plus tôt les troubles cérébraux susceptibles d'avoir des effets à long terme. La possibilité d'en faire un suivi régulier pour espérer avoir un pronostic fiable, et éventuellement suivre l'effet d'un traitement, est également essentielle.

1.1.2. Quelques éléments sur la structure et le fonctionnement du cerveau

Avant de s'intéresser aux altérations possibles du développement cérébral chez le nouveau-né, nous allons voir comment s'organise et fonctionne le cerveau avec une maturation cérébrale normale.

1.1.2.1. Anatomie et physiologie

Jusqu'au début du XXe siècle, les neurobiologistes supportent la théorie réticulaire, c'est-à-dire une organisation en un réseau continu de cellules nerveuses. Il faudra attendre la découverte du neurobiologiste Ramon y Cajal, qui lui vaudra le prix Nobel de Physiologie/Médecine en 1906 avec Golgi, pour abandonner cette théorie. Il démontra, grâce à une technique de marquage par sels d'argent, que les cellules nerveuses sont en réalité discontinues et communiquent entre elles en des endroits de discontinuité précis, appelés « synapses ».

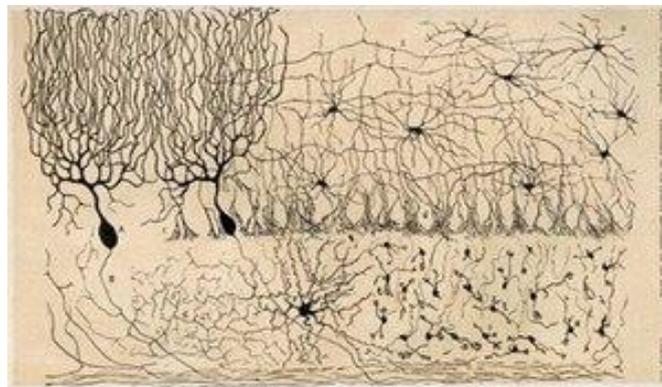


Figure 1. Dessin des cellules du cervelet de poulet par Santiago Ramón y Cajal (Tiré de "Estructura de los centros nerviosos de las aves" (Domaine public))

Il est désormais admis que le tissu cérébral est constitué de deux types de cellules [5] : les **neurones**, l'unité du système nerveux central, qui ont comme spécificité la communication intercellulaire, et les **cellules gliales**, qui vont supporter les neurones dans leur rôle et les protéger.

Un **neurone** est formé d'un corps cellulaire, de dendrites et d'un axone (Figure 2). La communication entre les neurones s'effectue par la transmission d'un signal électrique appelé potentiel d'action. Le potentiel d'action créé dans un neurone se propage le long de l'axone jusqu'au bouton synaptique. Son arrivée déclenche une libération de composés chimiques, les neurotransmetteurs, dans la fente synaptique entre les deux neurones. Le neurone post-synaptique réceptionne alors les neurotransmetteurs via ses dendrites. Les neurotransmetteurs sont soit qualifiés d'excitateurs s'ils ont pour but d'activer la cellule post-synaptique (tels que le glutamate ou l'acétylcholine) et de déclencher un nouveau potentiel d'action soit d'inhibiteurs si leur rôle est de désactiver le neurone post-synaptique (comme l'acide γ -aminobutyrique « GABA »).

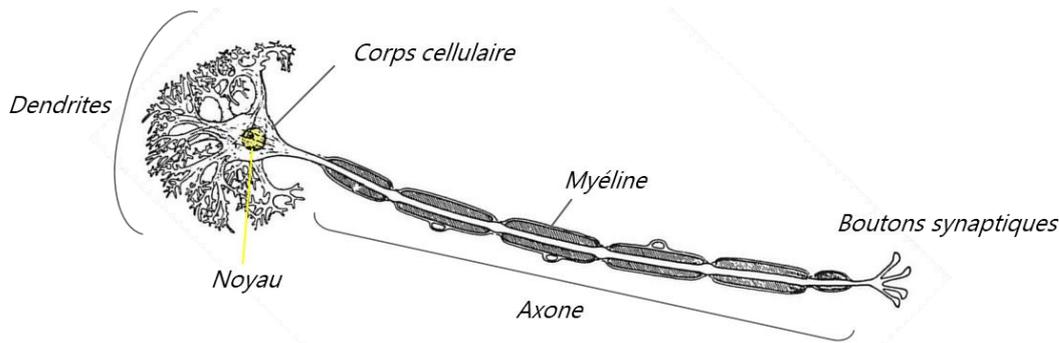


Figure 2. Schéma de la structure typique d'un neurone. Le corps cellulaire se prolonge d'un côté en dendrites et de l'autre en un axone recouvert de myéline. Au bout de l'axone se situent les boutons synaptiques remplis de neurotransmetteurs. (Légende ajoutée d'après "Myelinated motor neuron" par National Institutes of Health (NIH), licensed under CC BY-NC 2.0)

Les milliards de neurones dans le cerveau forment un réseau complexe transmettant rapidement l'activité cérébrale sur de longues distances. Pour assurer une bonne et rapide transmission du signal électrique, le neurone a besoin d'une gaine, la **myéline**, le long de son axone. Les neurones, selon leur localisation et fonction, vont avoir un réseau dendritique varié afin de recevoir et d'intégrer l'information en provenance d'autres neurones. Il existe plusieurs types de neurones :

- les neurones moteurs, multipolaires (= nombreuses dendrites) et excitateurs, qui envoient l'information du cerveau jusqu'aux muscles.

- les neurones sensoriels, pseudo-unipolaires (= une seule dendrite) et excitateurs, qui reçoivent les informations sensorielles périphériques pour les envoyer au cerveau.
- les interneurons, multipolaires et majoritairement inhibiteurs, avec des prolongements à faible distance qui transmettent l'information entre deux neurones.

Les **cellules gliales**, bien que ne jouant pas un rôle direct dans la communication synaptique et électrique, ont un rôle critique dans la transmission de l'information, la régulation des besoins du cerveau et la neuroprotection. Bien plus nombreuses que les neurones, elles se distinguent en trois catégories (Figure 3) :

- les **astrocytes** qui jouent un rôle dans la régulation de l'énergie, apportée sous forme d'oxygène et de glucose par le sang, nécessaire aux neurones. Ils sont donc à l'interface entre les vaisseaux sanguins et les neurones.
- les **oligodendrocytes** qui sont responsables du processus de formation de la myéline, la myélinisation, autour des axones. Un défaut de myélinisation peut entraîner des problèmes de communication entre neurones.
- les **microglies** qui sont chargées de la défense immunitaire du cerveau.

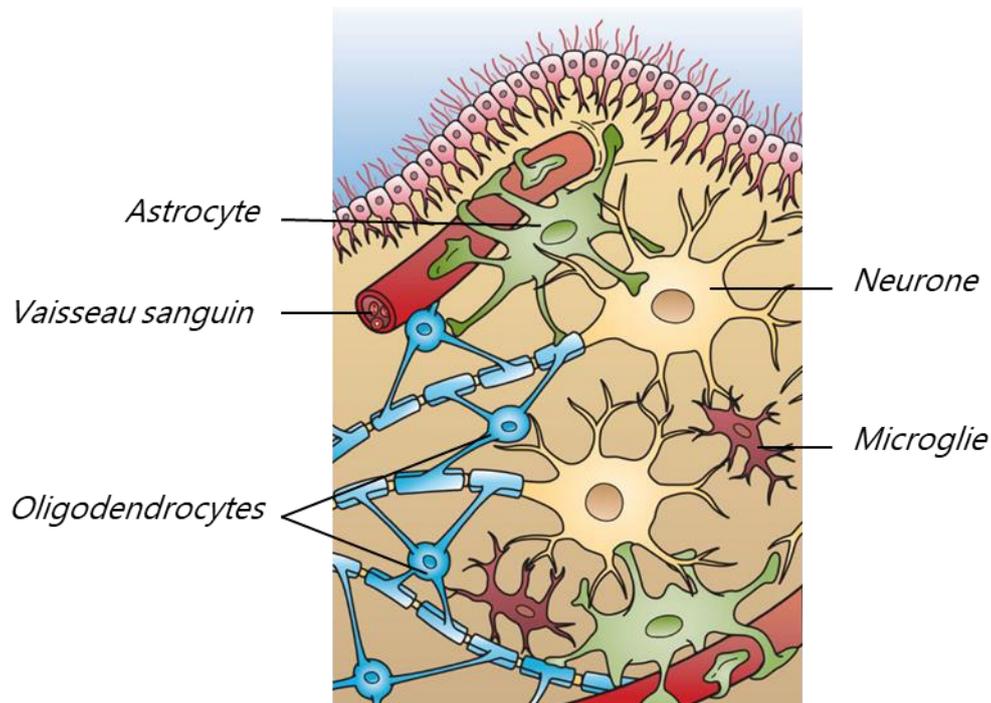


Figure 3. Schéma des différentes cellules gliales et de leur rôle : les astrocytes (en vert) en lien avec les vaisseaux sanguins (en rouge) pour apporter l'énergie aux neurones, les oligodendrocytes (en bleu) responsables de la myélinisation et les microglies (en rouge foncé) impliquées dans la défense immunitaire du cerveau. (D'après l'œuvre de Holly Fischer, <http://open.umich.edu/education/med/resources/second-look-series/>, CNS Slide 4, CC BY 3.0)

D'un point de vue structurel, le cerveau est divisé en **deux hémisphères** : un hémisphère droit et un hémisphère gauche, reliés par le corps calleux. Chaque hémisphère est lui-même divisé en plusieurs **lobes** délimités par les « reliefs » à la surface du cerveau (les bosses sont nommées « gyri » et les creux « sulci »). Chaque lobe est associé à des fonctions spécifiques : le lobe frontal est notamment associé au langage, au raisonnement et à la prise de décision, le lobe pariétal à la conscience du corps et de l'environnement, le lobe occipital à la vision et le lobe temporal à la mémoire et aux émotions. En dessous du cerveau, se trouve le cervelet qui est impliqué principalement dans le contrôle moteur. Le tronc cérébral se prolonge par la moelle épinière, qui forme avec le cerveau le système nerveux central. La moelle épinière permet de transmettre les commandes cérébrales au système nerveux périphérique.

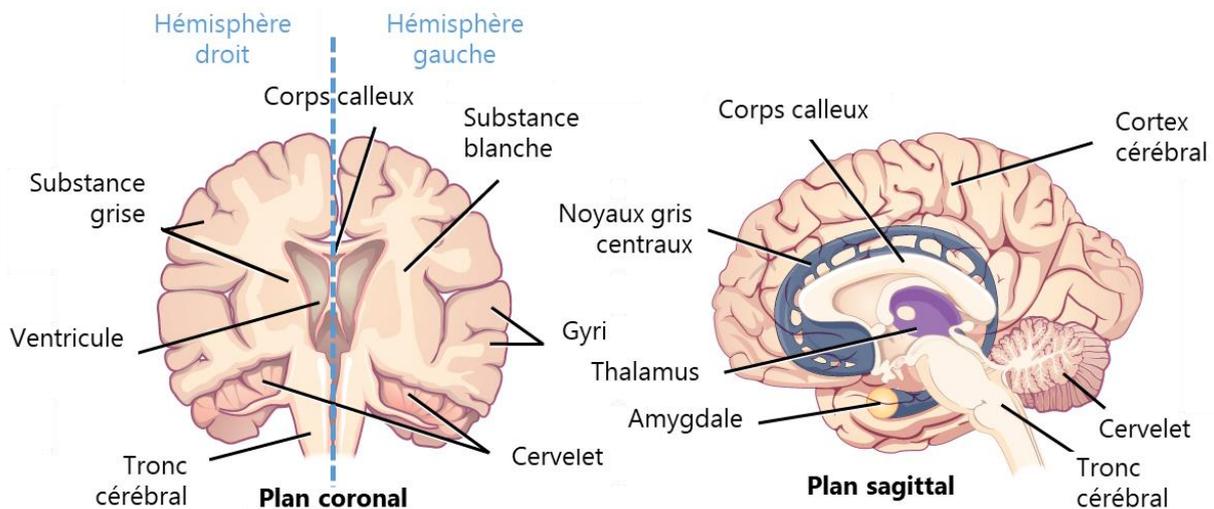


Figure 4. **Anatomie structurelle du cerveau** : en plan coronal à gauche et sagittal à droite. (Adapté de [6], Access for free at <https://openstax.org/books/biology/pages/1-introduction>, CC BY 4.0)

La répartition des corps cellulaires et des axones des neurones structure le cerveau en deux composantes : la **substance (ou matière) grise**, avec une importante concentration de corps cellulaires, de dendrites et de cellules gliales et la **substance (ou matière) blanche**, essentiellement constituée d'axones myélinisés se regroupant en faisceaux. La matière grise est principalement située à la surface du cerveau, dans le cortex, mais on trouve également des structures plus profondes telles que le thalamus, l'hypothalamus ou encore les noyaux gris centraux, la substance blanche occupant le reste de cerveau.

C'est dans la matière grise que l'on trouve la plus grande concentration de **vaisseaux sanguins** car ils permettent d'alimenter les besoins en énergie des neurones en apportant oxygène et nutriments. L'approvisionnement en sang se fait par deux artères principales :

l'artère carotide interne (ACI) qui se divise ensuite en l'artère cérébrale antérieure (ACA) pour irriguer la partie antérieure du cerveau et les artères vertébrales qui irriguent les zones postérieures du cerveau. Pour atteindre les différentes zones du cerveau, les vaisseaux se ramifient et se rétrécissent devenant des artérioles puis des capillaires. Les capillaires, dont le diamètre est de quelques microns, sont le lieu des échanges de glucose et d'oxygène avec les neurones. Le sang désoxygéné est alors évacué via des veinules qui s'élargissent pour devenir des veines : on distingue des veines superficielles et des veines profondes.

Enfin, l'ensemble du cerveau est protégé par le crâne, une enveloppe dure de protection constituée de 8 os fusionnant entre eux le long de lignes de suture. À l'intérieur du crâne, le cerveau baigne dans le liquide cérébro-spinal (LCS) qui permet d'absorber et d'amortir les chocs. Le LCS circule tout autour du cerveau, mais aussi à l'intérieur dans les quatre ventricules cérébraux (Figure 4).

1.1.2.2. Métabolisme

Pour fonctionner le cerveau utilise entre 15 et 20 % de l'énergie du corps alors qu'il ne représente que 2 % de la masse corporelle. Ne pouvant pas stocker l'énergie, son approvisionnement est entièrement régulé par la circulation sanguine. L'afflux sanguin cérébral est un mécanisme hautement régulé afin de répondre aux besoins métaboliques du cerveau. Les tissus cérébraux sont très sensibles aux variations du flux sanguin et une perfusion cérébrale trop élevée ou trop faible peut entraîner des dommages cérébraux.

Le cerveau dispose d'un mécanisme d'**autorégulation du flux sanguin** pour maintenir un flux sanguin constant malgré des variations de pression sanguine [7]. Si le fonctionnement précis de l'autorégulation n'est pas encore connu dans le détail, il semble reposer sur trois points : 1/ une réponse métabolique engendrée par les sous-produits de la consommation du glucose qui auraient un effet vasoactif, 2/ une réponse mécanique des muscles des parois des vaisseaux à la pression sanguine entraînant leur dilatation ou constriction et enfin 3/ une réponse neurologique avec la libération par certains neurones de neurotransmetteurs vasodilatateurs.

Un autre phénomène de régulation du flux sanguin est déclenché en parallèle lors d'une activation neuronale. Pour s'adapter aux besoins énergétiques des neurones activés dans une région spécifique, l'afflux sanguin va augmenter localement pour mettre à disposition l'oxygène et le glucose nécessaires, c'est ce qu'on appelle le **couplage neurovasculaire (CNV)**. Tout comme l'autorégulation, les mécanismes exacts du CNV sont encore

méconnus. Depuis 2001, le terme d'« unité neurovasculaire » avait été choisi pour désigner l'ensemble complexe des éléments contribuant au lien étroit existant entre les neurones et les vaisseaux sanguins. Les études sur le sujet ont cherché principalement à comprendre le rôle de l'unité vasculaire sur l'enchaînement des mécanismes responsables du CNV [8]. Cependant, devant la diversité de l'arbre vasculaire cérébral et de son association avec les neurones et les cellules gliales, l'hypothèse d'un « complexe neurovasculaire » comprenant plusieurs unités fonctionnelles a été avancée par Schaeffer et Iadecola [9].

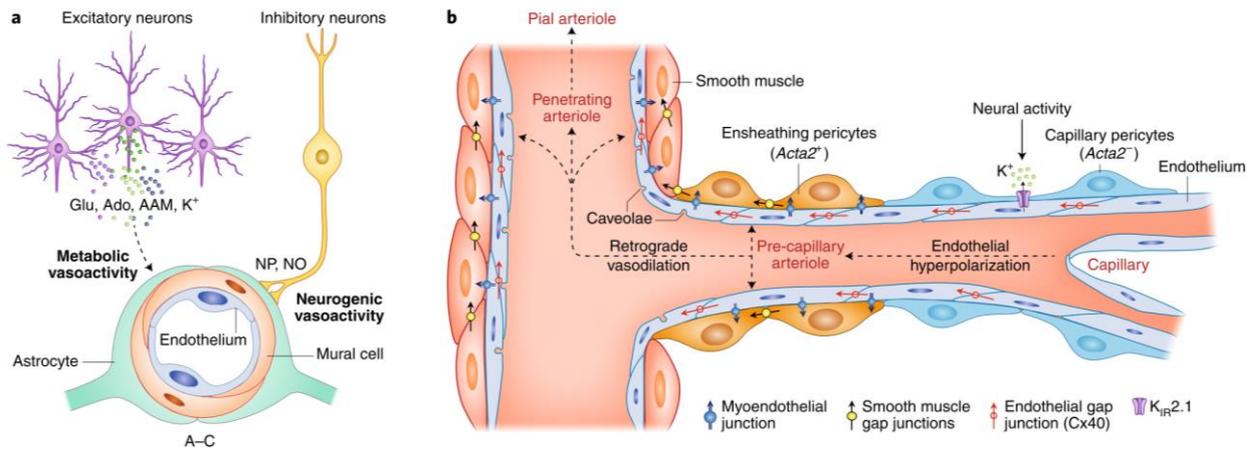


Figure 5. Schéma des mécanismes impliqués lors du couplage neurovasculaire. (a) Réponse locale due à une activité métabolique et neuronale. À gauche, est illustrée la cause métabolique due à la libération de Glutamate (Glu), Adenosine (Ado), ... résultant de l'activation des neurones excitateurs (en violet). À droite, est illustrée la cause neuronale due directement à l'activation d'interneurones inhibiteurs. (b) Réponse à distance par hyperpolarisation en cascade des cellules des parois vasculaires. (D'après Schaeffer et Iadecola [9])

Le CNV résulterait de la combinaison d'une réponse locale impliquant les micro-vaisseaux autour du site d'activation neuronale (Figure 5(a)) et d'une réponse à distance par la régulation en cascade du flux sanguin dans les artères en amont (Figure 5(b)).

La **régulation locale du CNV** autour du site d'activation neuronale aurait une première cause métabolique due à la libération de neurotransmetteurs et de sous-produits vasoactifs lors de l'activation de neurones excitateurs (en violet sur la Figure 5(a)). La seconde cause, neuronale, résulterait directement de l'activation d'interneurones inhibiteurs (en jaune sur la Figure 5(a)). Ces deux mécanismes ciblent les muscles lisses vasculaires et les péricytes, qui constituent respectivement la paroi des artères/artérioles et celle des pré-capillaires/capillaires, et qui contrôlent le calibre de ces vaisseaux. Les astrocytes joueraient également un rôle dans la régulation du calibre des vaisseaux.

Certaines études montrent également le potentiel effet de la dilatation des capillaires grâce aux sphincters pré-capillaires [10].

L'hypothèse pour la **régulation du flux amont** dans les plus grosses artères est l'hyperpolarisation des cellules endothéliales des capillaires qui se propage ensuite aux cellules de la paroi vasculaire telles que les muscles lisses des artérioles. Cette hyperpolarisation en cascade entraîne petit à petit la relaxation des muscles des parois vasculaires : il s'agit d'une vasodilatation rétrograde.

La compréhension du CNV s'avère importante puisque de nombreuses méthodes d'imagerie reposent sur son principe. En effet plutôt que de mesurer directement l'activité cérébrale électrique, on peut mesurer la réponse hémodynamique du cerveau puisque les deux sont liées par le CNV.

1.1.2.3. Développement fœtal et néonatal du cerveau

Le développement du cerveau pour atteindre les fonctions décrites précédemment est un processus complexe qui débute dès la 3^{ème} semaine de gestation avec l'apparition de la plaque neurale. La neurulation transforme ensuite la plaque neurale en tube neural qui sera à l'origine des cellules du **système nerveux central** (cerveau et moelle épinière) et en crête neurale qui sera à l'origine des cellules du système nerveux périphérique (nerfs et cellules sensorielles). La **neurogenèse**, c'est-à-dire la différenciation des cellules souches neuronales en neurones, débute à la 10^{ème} semaine. Les neurones migrent ensuite depuis leur lieu de différenciation, plutôt au centre du cerveau, jusqu'à leur emplacement final, en périphérie.

Ces événements suivent une chronologie précise et orchestrée par différents processus chimiques et biologiques. Au même moment, la gyrification (=processus de formation des plis caractéristiques du cortex cérébral) débute afin d'augmenter la surface corticale pouvant accueillir les neurones en évitant d'augmenter considérablement le volume cérébral. Une fois en place, les neurones créent de nombreuses connexions entre eux avant de subir un élagage synaptique, qui continue jusqu'après la naissance, visant à éliminer des connexions inutiles. D'autres modifications radicales se déroulent après la naissance, par exemple le rôle du neurotransmetteur GABA passant d'excitateur à inhibiteur.

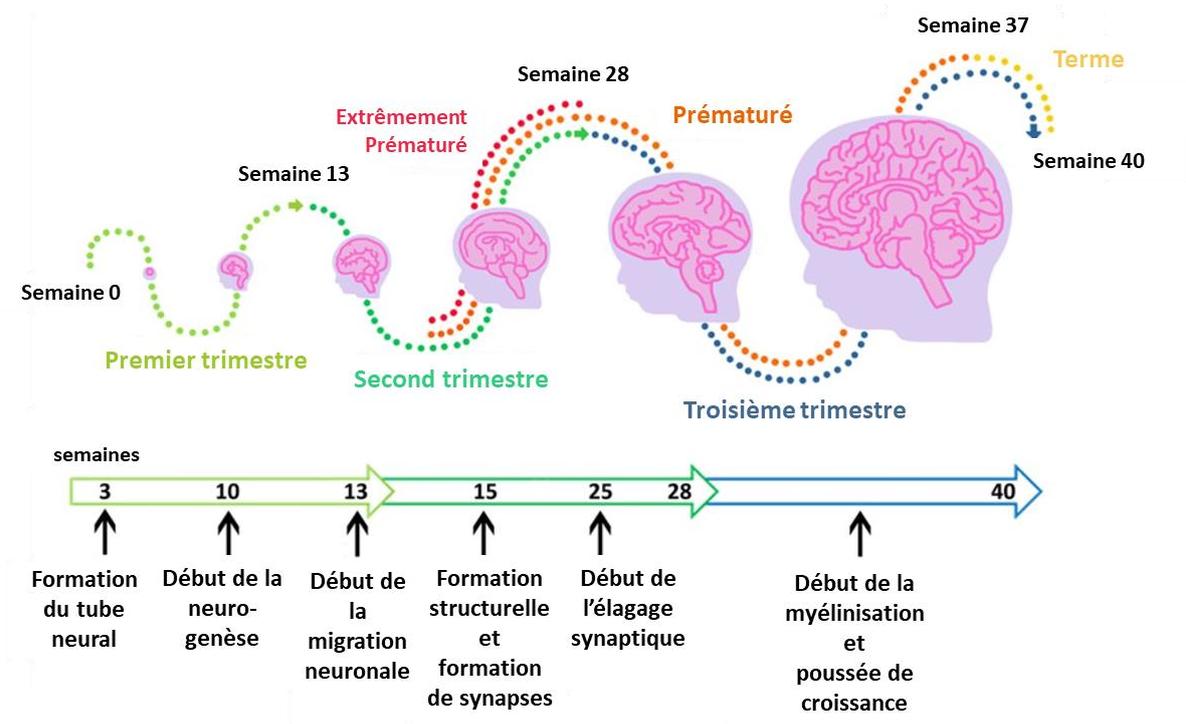


Figure 6. Chronologie simplifiée du développement cérébral fœtal et néonatal. (Adapté de Newville et al.[11])

On observe aussi des différences du CNV entre les stades précoces et tardifs du développement cérébral. Ces différences sont liées aux modifications des interactions entre neurones, cellules gliales et vaisseaux sanguins. Notamment en parallèle du développement des neurones, la création de nouveaux vaisseaux sanguins, l'angiogenèse, se met en place et se finalise lors du dernier trimestre de la grossesse. Les astrocytes, impliqués dans le CNV, se différencient et migrent aussi selon une chronologie propre.

Tout cela rend compte des **modifications rapides et complexes qui ont lieu lors du développement du cerveau jusqu'à la période postnatale**. Le cerveau continue ensuite de se transformer tout au long de la vie.

1.1.3. Lésions cérébrales du prématuré

La naissance prématurée vient perturber brutalement le développement global du cerveau, le rendant vulnérable à l'apparition de lésions. Elle perturbe aussi le développement d'autres organes, notamment des poumons dont la maturation nécessite les 40 semaines de gestation.

Deux principaux types de lésions cérébrales sont diagnostiqués chez les enfants nés prématurément : premièrement les **lésions cérébrales touchant la substance**

blanche (leucomalacies), de types variés, et qui peuvent entraîner des séquelles motrices ou cognitives et deuxièmement les **hémorragies intraventriculaires (HIV)**, qui sont principalement dues à l'immatunité du système d'autorégulation vasculaire associée à des facteurs hémodynamiques déclenchants. La prévalence des lésions de la substance blanche est bien plus importante que celle des hémorragies [12] et le diagnostic de certaines formes de lésions de la substance blanche reste un enjeu de santé majeur.

Parmi les **lésions de la substance blanche**, on distingue les lésions kystiques, localisées, et les lésions diffuses. Grâce à l'amélioration des soins néonataux, l'occurrence des lésions kystiques a diminué. Cependant, on observe de plus en plus de lésions diffuses de la substance blanche. La principale cause de ces lésions diffuses est la **perturbation de la maturation des oligodendrocytes** responsable de la myélinisation. La maturation des oligodendrocytes ne survient qu'au cours du troisième trimestre de grossesse et est très sensible à des perturbations cérébrales telles que l'hypoxie-ischémie ou une infection/inflammation systémique [13].

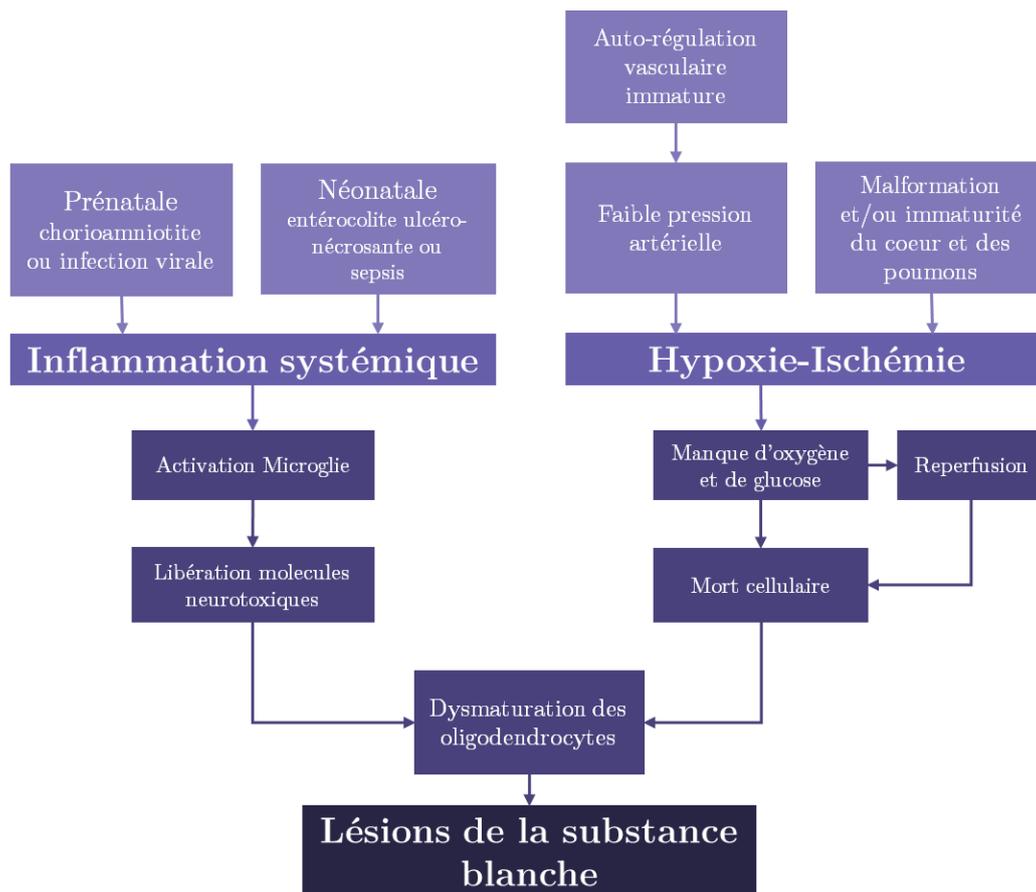


Figure 7. Schéma récapitulatif de la physiopathologie des lésions de la substance blanche.

Les épisodes d'**hypoxie-ischémie** se définissent par une **diminution de l'apport en oxygène et/ou en flux sanguin au cerveau**. Ils peuvent être causés par une prééclampsie (élévation de la pression artérielle de la mère), un nœud du cordon ombilical ou des anomalies du placenta, une immaturité des poumons ou du cœur ou encore une pression sanguine très faible (due à une perte de l'autorégulation chez le prématuré). La première phase, qui consiste en une baisse d'oxygénation plus ou moins longue, déclenche un enchaînement de réactions chimiques engendrant la mort cellulaire. Cependant, lors de la reperfusion, lorsque l'oxygène est à nouveau disponible dans le cerveau, de multiples produits de la reprise métabolique peuvent à leur tour entraîner la mort cellulaire.

La réponse à une **inflammation systémique** prénatale (e.g. chorioamniotite) ou néonatale (e.g. sepsis ou entérocolite ulcéro-nécrosante) est l'activation des microglies qui sont responsables du système immunitaire du cerveau. Cependant, leur activation va également engendrer la libération de molécules neurotoxiques impactant la maturation des oligodendrocytes et du développement axonal [14].

Les oligodendrocytes étant responsables de la myélinisation, la perturbation de leur maturation va empêcher une bonne myélinisation des axones et donc une bonne communication entre neurones. Les lésions primaires de la substance blanche peuvent ensuite entraîner des lésions secondaires des structures de la matière grise telles qu'une diminution du volume de la matière grise (et une augmentation de l'espace subarachnoïdien) ou une dysmaturation de la giration du cortex [15].

L'ensemble de ces lésions peuvent ensuite impacter à long terme la vie des nouveau-nés nés prématurément. L'occurrence de nombreux **troubles neurodéveloppementaux** est plus élevée dans la population des nouveau-nés prématurés comparée à celle du reste de la population [16]. Ces troubles peuvent impacter la capacité motrice (infirmité motrice cérébrale (IMC)), troubles du développement de la coordination (TDC), la socialisation (troubles du spectre autistique (TSA)), les capacités cognitives (dysphasie, déficience intellectuelle...), le comportement (troubles de l'attention et de l'hyperactivité (TDAH)) ou encore la vision, en fonction notamment des aires cérébrales fonctionnelles lésées [17].

Les quelques traitements possibles peuvent être regroupés selon deux stratégies différentes [18]. La première stratégie, dite **neuroprotectrice**, regroupe les interventions cherchant à empêcher la dysmaturation des oligodendrocytes comme l'utilisation d'érythropoïétine (EPO) connue pour ses effets antioxydant, anti-inflammatoire et anti-apoptotique ou la mise en place d'une hypothermie corporelle afin de ralentir le

métabolisme lors d'un événement d'hypoxie-ischémie. Des études précliniques s'intéressent également à l'utilisation de facteurs de croissance.

La seconde stratégie de traitement, dite **neurorestauratrice**, vise quant à elle à prévenir les altérations secondaires liées à la dysmaturation des oligodendrocytes. Des études cliniques se sont intéressées notamment à la nutrition et aux facteurs environnementaux. Par exemple, il a été montré que l'écoute de musique pendant le séjour en unité de soins néonataux améliorerait la maturation de la substance blanche [19]. Des études précliniques ont montré l'efficacité de l'utilisation de cellules souches comme traitement neurorestaurateur, mais ceci nécessite d'être confirmé sur des modèles animaux variés avant le passage en clinique [20][21].

1.2. État de l'art de l'imagerie cérébrale du nouveau-né

1.2.1. Méthodes d'imagerie utilisées en routine clinique pour la détection d'anomalies morphologiques

Deux techniques sont principalement utilisées en routine clinique pour imager la morphologie cérébrale afin de détecter toutes anomalies (lésions de la substance blanche, hémorragies ou malformations) : **l'imagerie par résonance magnétique (IRM)** et **l'échographie transfontanellaire (ETF)**.

1.2.1.1. Méthode **non-portable** au chevet du patient : Imagerie par résonance magnétique

Développée dans les années 70, **l'imagerie par résonance magnétique (IRM)** est maintenant une technique largement répandue en pratique clinique pour l'imagerie de la plupart des organes en 3D. Son principe repose sur la physique quantique. En effet, les atomes d'hydrogène présents dans notre corps possèdent un moment magnétique de spin et lorsque le patient est installé dans le tunnel de l'unité d'IRM ces spins vont s'aligner suivant le champ magnétique statique B_0 créé par l'aimant de la machine. Un champ d'intensité perpendiculaire et transitoire B_1 va alors être appliqué, grâce à une bobine, pour modifier l'orientation des spins d'hydrogène. L'IRM mesure alors le temps de relaxation que va mettre le spin à se réorienter selon le champ d'intensité B_0 à l'arrêt du champ transitoire B_1 . Ce temps de relaxation dépend de l'agitation thermique du milieu et donc de sa composition. Par exemple, les os, la graisse et l'eau vont avoir des temps de relaxation différents ce qui va permettre de créer une image avec des contrastes différents pour ces composés. Elle est très largement utilisée pour l'imagerie cérébrale

chez l'adulte car non-invasive et avec une résolution spatiale de l'ordre du millimètre. C'est également la **méthode de référence pour la détection de lésions de la substance blanche chez les prématurés** qui vont apparaître avec un contraste différent (Figure 8). Toutefois, son manque de disponibilité, son coût important et la difficulté à maintenir le nouveau-né immobile lors de l'IRM limitent son utilisation pour le suivi de l'évolution des lésions [22] et généralement une seule acquisition IRM est réalisée à l'âge équivalent au terme. Cependant, aucun consensus n'a été atteint sur les pronostics neurodéveloppementaux à long terme basés sur l'analyse d'images IRM postnatales de lésions de la substance blanche [23][24].

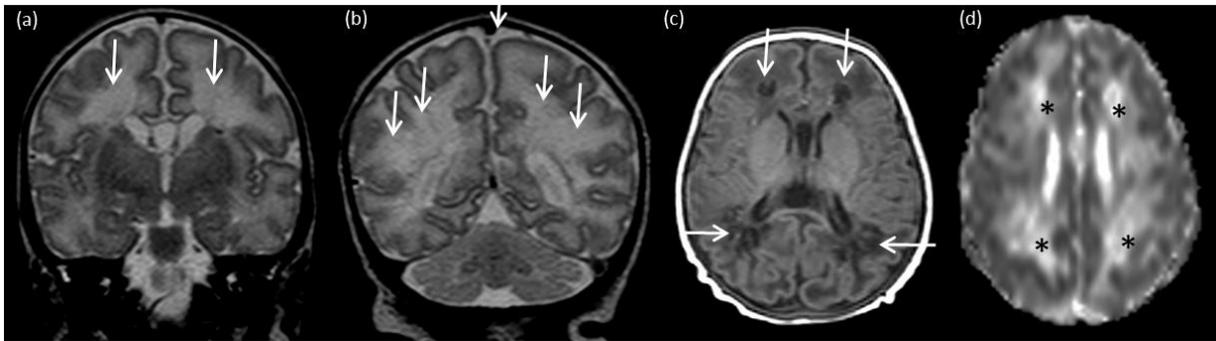


Figure 8. IRM du cerveau d'un nouveau-né à J22. (a-b) Acquisition T2 coronale : les flèches indiquent un hypersignal hétérogène diffus de la substance blanche périventriculaire. (c) Acquisition axiale T1 : les flèches indiquent un hyposignal que l'on retrouve sur (d) la cartographie de diffusion avec une augmentation du coefficient de diffusion (indiquée par *).

1.2.1.2. Méthode **portable** au chevet du patient : *Echographie transfontanellaire*

L'échographie dite « conventionnelle » est une technique d'imagerie qui repose sur l'émission et réception d'ondes ultrasonores focalisées et qui dispose de plusieurs modalités. Les principes physiques de l'imagerie ultrasonore conventionnelle seront plus amplement détaillés dans la section 1.3.1 du manuscrit. Nous verrons ici seulement l'intérêt de l'imagerie B-mode conventionnelle pour l'étude clinique de la morphologie du cerveau du nouveau-né, appelé aussi **échographie transfontanellaire (ETF)**.

L'imagerie du cerveau par ultrasons chez l'adulte n'est pas répandue car l'os atténue fortement et aberre les ultrasons. Toutefois, chez le nouveau-né, afin de faciliter son passage lors de l'accouchement, les 8 os de son crâne ne sont pas complètement fusionnés à la naissance laissant des « ouvertures » molles : **les fontanelles** (Figure 9).

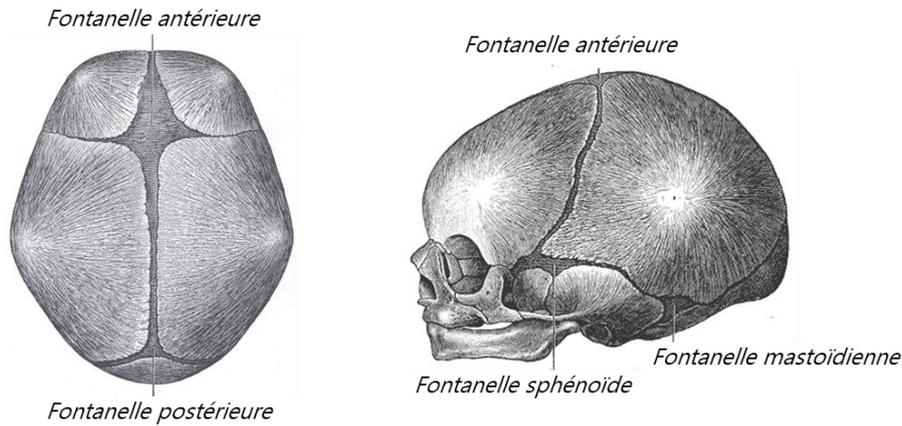


Figure 9. Dessin du crane d'un nouveau-né montrant les différentes fontanelles. (D'après Henry Gray (1918) Anatomy of the Human Body (Domaine publique))

La plus grande fontanelle, la fontanelle antérieure, située sur le dessus du crâne entre les os frontaux et pariétaux et formant un losange d'environ 4 cm de large, est une véritable fenêtre échographique permettant d'imager le cerveau du nouveau-né, d'où le nom d'**échographie transfontanelle** (ETF). En plus de son faible coût, l'atout majeur de l'ETF est l'accès à une image morphologique immédiate du cerveau au chevet du patient, et ce, dès la naissance (Figure 10). L'ETF permet donc d'imager facilement, et régulièrement si besoin, le cerveau du nouveau-né.

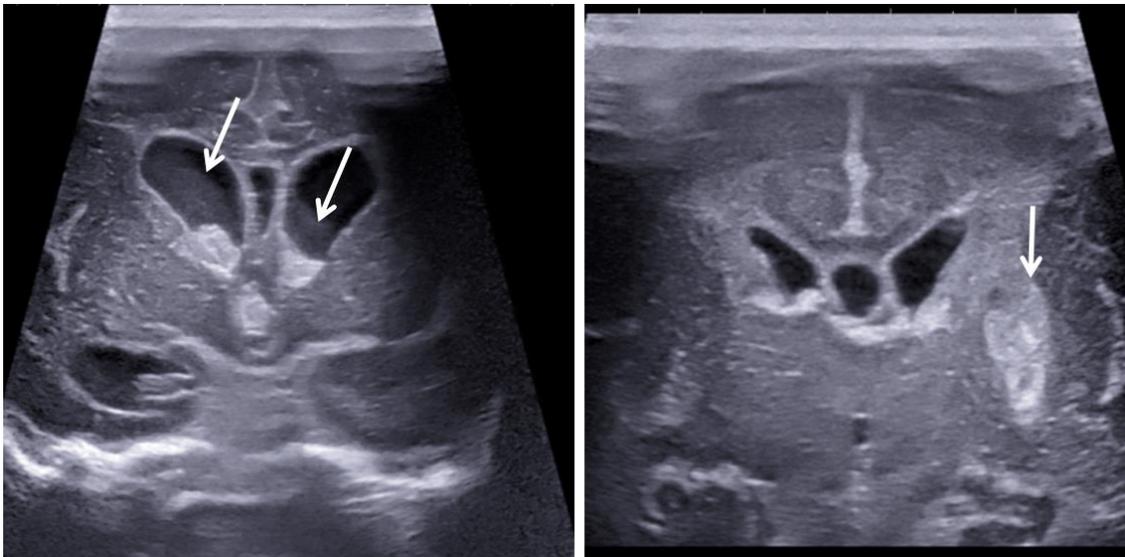


Figure 10. Echographie transfontanelle anormale chez deux nouveau-nés. (a) ETF réalisée à J5 : le patient souffre d'une hémorragie intra-ventriculaire (HIV). Les flèches indiquent le niveau du liquide à l'intérieur des ventricules qui sont dilatés. (b) ETF réalisée à J11 : Leucomalacie périventriculaire. La flèche indique une lésion de la substance blanche hyperéchogène due à des lésions ischémiques récentes.

C'est pour ces raisons qu'il s'agit de la **méthode de référence pour la détection d'hémorragie chez le nouveau-né** et pour le suivi cérébral du prématuré [25]. Elle

peut également être utilisée pour la détection de lésions de la substance blanche [26], avec toutefois une sensibilité plus faible que l'IRM notamment pour les lésions diffuses.

1.2.2. Méthodes d'imagerie pour la détection des perturbations de la fonction vasculaire cérébrale

Pour compléter l'information morphologique, il est aussi très important de pouvoir imager et évaluer la **fonction vasculaire cérébrale**, car comme vu dans la section 1.1.2.2, la perfusion du cerveau est primordiale pour un fonctionnement normal. De nombreuses techniques d'imagerie sont capables de mesurer la perfusion cérébrale du nouveau-né [27] mais peu d'entre-elles ont le potentiel d'être appliquées en routine clinique.

1.2.2.1. Méthodes d'imagerie vasculaire **non-portables** au chevet du patient

Angiographie par IRM

Plusieurs techniques d'angiographie par IRM sont utilisées : on les regroupe en deux catégories [27]. La première catégorie de méthodes nécessite l'injection d'un agent de contraste, généralement le gadolinium, ionisant, ce qui limite leur utilisation chez le nouveau-né. Dans la deuxième catégorie, on retrouve les méthodes non-invasives telles que l'IRM à contraste de phase ou encore l'IRM par marquage de spins artériels, appelée aussi Arterial Spin Labelling (ASL). L'IRM à contraste de phase repose sur le décalage en fréquence de spins, lors de leur déplacement dans un champ de gradient magnétique, qui est proportionnel à la vitesse des spins. Dans le cas de l'ASL, il est possible de suivre les molécules d'eau contenues dans le sang et se déplaçant dans le cerveau en soustrayant une image « marquée » à une image contrôle obtenue au préalable permettant ainsi d'éliminer le signal statique provenant du tissu. L'image « marquée » se fait par inversion des spins des molécules d'eau du sang arrivant dans le cerveau [28]. Même si ces techniques sont intéressantes, elles restent cantonnées à la recherche de par leur coût important et leur **faible adaptabilité à l'utilisation en unité de soins intensifs néonataux** puisqu'elles sont non-portables au chevet du patient.

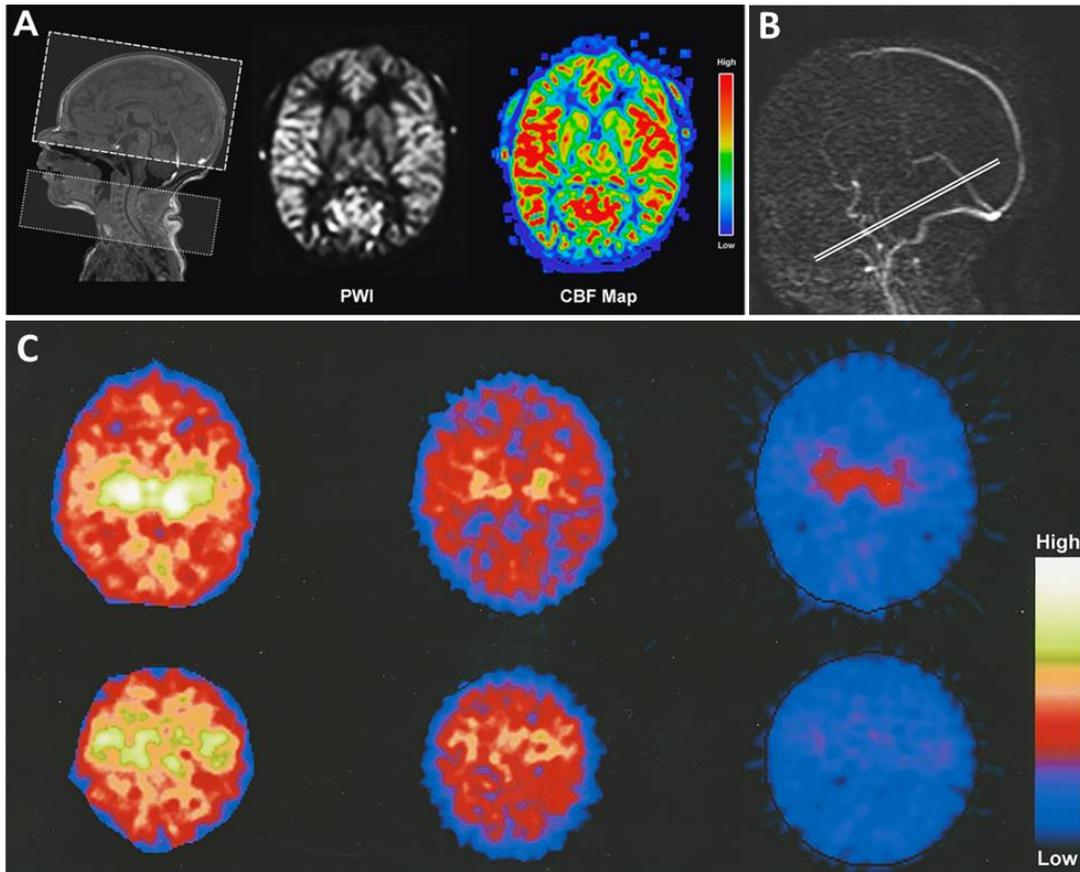


Figure 11. Exemples d'imagerie de la perfusion cérébrale. Imageries par IRM (en haut) : (A) IRM par marquage de spin artériel (Tiré de De Vis et *al.* 2013) et (B) IRM à contraste de phase (Tiré de Benders et *al.* 2011). (C) Imagerie TEP (Tiré de Thornngren-Jerneck et *al.* 2001)

Imagerie nucléaire (TEP)

L'imagerie nucléaire repose sur l'injection d'un traceur, marqué par un atome radioactif, dont on sait qu'il va réagir lors d'une activité métabolique précise. On parle de **tomographie par émissions de positons (TEP)** lorsque le marquage se fait par des atomes radioactifs relâchant des positons lors de leur désintégration. Ces positons vont produire, lors de leur rencontre avec un électron, deux photons partant dans des directions diamétralement opposées que l'on va mesurer à l'aide d'une caméra TEP entourant le patient. C'est grâce à cette propriété qu'il est possible de connaître la localisation de la source émettrice. En général, le traceur injecté est le fluorodesoxyglucose (FDG) qui permet de mesurer la consommation de glucose (par les neurones dans le cerveau par exemple). Encore une fois, même si la TEP a permis de mieux comprendre le métabolisme cérébral lors d'hypoxie-ischémie ou d'hémorragie intraventriculaire [29][30], le **caractère invasif, ionisant et non-portable** de cette méthode limite très fortement son application en routine clinique chez le nouveau-né.

1.2.2.2. Méthodes d'imagerie vasculaire **portables** au chevet du patient

Doppler conventionnel

L'imagerie Doppler est une méthode d'imagerie ultrasonore qui cherche à visualiser le mouvement du flux sanguin. Les deux principaux modes d'imagerie Doppler sont le **Doppler pulsé** qui donne des informations quantitatives sur la vitesse du flux sanguin, mais seulement en un point du champ d'imagerie à la fois et le **Doppler couleur** qui permet d'afficher une carte dynamique de la vitesse estimée du flux sanguin dans le champ d'imagerie, mais sans quantification précise (Figure 12).

Il en résulte une **disjonction entre l'imagerie et la quantification**, cette dernière n'étant possible que dans un ensemble d'emplacements choisis. De plus, la valeur de la vitesse mesurée dépend de l'angle d'insonification et donc du placement de la sonde par l'opérateur ce qui en fait une mesure peu reproductible.

Toutefois, l'imagerie Doppler est la **méthode de référence pour l'imagerie clinique de la perfusion cérébrale du nouveau-né** car, comme l'ETF, il s'agit d'une méthode portable au chevet du patient, dès la naissance, et à peu de frais [31]. À partir de la mesure des vitesses au cours d'un cycle cardiaque, on peut définir des indices vasculaires (indice de résistivité ou de pulsatilité). De nombreuses études cherchent à établir un diagnostic ou un pronostic à partir de ces indices vasculaires [32][33].

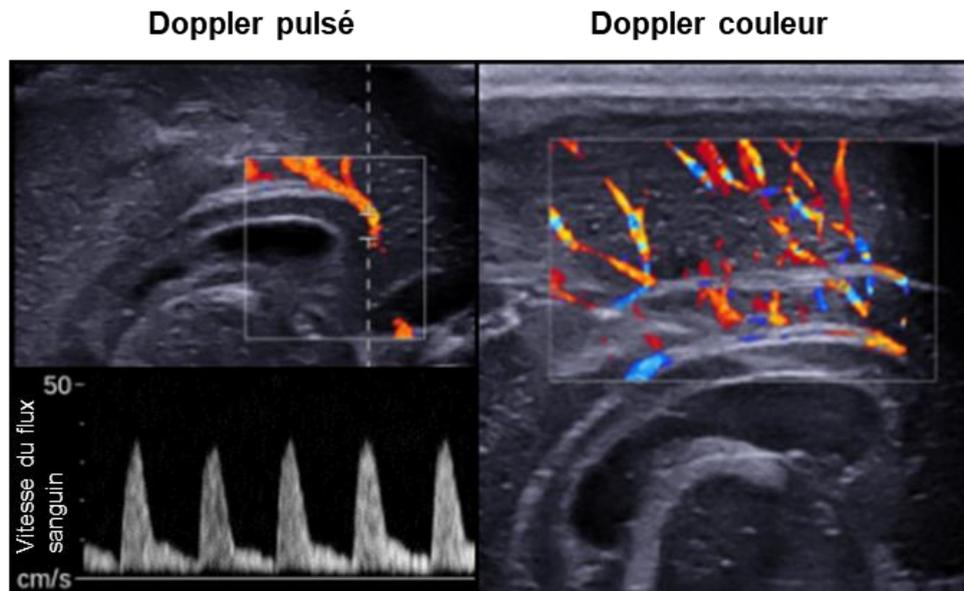


Figure 12. Imagerie Doppler conventionnel. À gauche, le Doppler pulsé : la vitesse du flux est mesurée sur la ligne pointillée au niveau de la séparation. À droite, l'imagerie Doppler couleur : le rouge correspond au flux allant en direction de la sonde, le bleu correspond aux flux s'éloignant de la sonde.

Imagerie par spectroscopie dans le proche infrarouge

Depuis ses premières applications chez le nouveau-né dans les années 90 [34], la **spectroscopie dans le proche infrarouge** (NIRS) est une méthode prometteuse pour l'imagerie vasculaire cérébrale chez le nouveau-né grâce à son caractère non-invasif et utilisable au chevet du patient. Le principe de la NIRS repose sur la variation d'absorption des ondes dans le proche infrarouge (650 à 1350 nm) par l'hémoglobine en fonction de son oxygénation. L'hémoglobine est une protéine des globules rouges responsable de la fixation de l'oxygène. L'utilisation dans le domaine médical est notamment possible car les tissus biologiques sont relativement transparents dans cette gamme de longueur d'ondes. En mesurant l'absorption par l'hémoglobine, grâce à des capteurs optiques posés sur le crâne, on peut alors avoir une mesure quantitative du rapport oxy/déoxy-hémoglobine et donc du métabolisme. La NIRS est utilisée pour le suivi de l'oxygénation cérébrale. Combinée à la mesure de la pression sanguine artérielle, elle permet aussi de faire un suivi de l'auto-régulation cérébrale [35]. La NIRS dispose d'une très bonne résolution temporelle (10 millisecondes) mais est limitée spatialement par sa faible pénétration (~1.5 cm) due à l'atténuation de la lumière par les tissus biologiques. Malgré son potentiel, cette technique reste au stade d'étude de faisabilité pour des applications cliniques de diagnostic ou pronostic [36].

1.2.3. Méthodes d'imagerie fonctionnelle pour évaluer l'activité neuronale

D'un point de vue clinique, ce que l'on souhaite détecter *in fine* sont les potentielles altérations cérébrales qui pourraient conduire à des troubles cognitifs ou moteurs invalidants. Or, en raison de la grande plasticité du cerveau, les altérations anatomiques et/ou vasculaires ne suffisent pas pour rendre compte d'altérations de l'activité neuronale. L'évaluation de l'**activité neuronale du cerveau** lors du développement chez le nouveau-né est donc fondamentale à la fois pour mieux comprendre les processus entraînant des altérations neuronales et également pour espérer établir un pronostic neurodéveloppemental plus fiable. Nous présentons dans ce paragraphe plusieurs méthodes d'imagerie fonctionnelle développées durant les dernières décennies.

1.2.3.1. Méthodes **non-portables** au lit du patient

Magnétoencéphalographie

La **magnétoencéphalographie (MEG)** est une méthode directe d'enregistrement de l'activité neuronale. Elle mesure le champ magnétique généré par le déclenchement des

potentiels d'action grâce à des capteurs de flux magnétique. Similaire à l'électroencéphalographie en termes de résolution temporelle (milliseconde), l'avantage de la MEG est que l'activité magnétique est moins sensible aux milieux traversés et permet donc de gagner en précision pour la localisation des sources. Cependant, pour être sensible aux très faibles variations magnétiques dues à l'activité neuronale (de l'ordre de 10^{-13} Tesla), le patient et la machine doivent être placés dans une chambre blindée pour supprimer l'effet du champ magnétique terrestre (5×10^{-5} Tesla) et toute autre perturbation extérieure. De plus, les capteurs fabriqués à partir de supraconducteurs, nécessitent d'être refroidis à très basse température avec de l'hélium liquide. Ce qui fait de la MEG une méthode coûteuse et non-transportable au chevet du patient et donc utilisée principalement en recherche [37].

Imagerie par résonance magnétique fonctionnelle

Depuis son développement au début des années 1990, l'**imagerie par résonance magnétique fonctionnelle (IRMf)** est considérée comme l'une des meilleures techniques pour étudier les fonctions du cerveau grâce à sa résolution spatiale millimétrique et à son caractère non-invasif. L'IRMf mesure un signal dépendant des variations locales du niveau d'oxygène sanguin, ou signal BOLD (« *blood-oxygen-level dependent* » en anglais). Comme vu précédemment lors du couplage neurovasculaire (section 1.1.2.2) le flux de sang oxygéné augmente lors de l'activation neuronale. Cependant, la consommation en oxygène par les neurones est plus faible que l'apport et s'ensuit une modification du rapport local oxy/désoxy-hémoglobine modifiant les propriétés magnétiques des tissus et donc le temps de relaxation des spins. Il s'agit donc d'une méthode d'imagerie indirecte de l'activité cérébrale. Le temps de répétition qui est le temps entre deux scans séquentiels d'un même point du cerveau limite la résolution temporelle de l'IRMf. L'IRMf est une technologie très coûteuse, peu disponible et qui nécessite également que le patient reste totalement immobile, ce qui devient difficile chez le nouveau-né, cantonnant l'IRMf à une pratique de recherche.

*1.2.3.2. Méthodes **portables** utilisables au chevet du patient*

Electroencéphalographie

L'**électroencéphalographie (EEG)** permet d'enregistrer directement l'activité électrique des potentiels d'action générés lors de l'activation de neurones. Via plusieurs électrodes disposées sur le cuir chevelu, l'EEG mesure plus exactement les champs électriques en surface, résultant de l'activation simultanée de larges populations de

neurones. Malheureusement, il n'existe pas d'unique solution pour déterminer la position réelle des sources électriques ayant contribué aux signaux mesurés par les différentes électrodes [38], ce qui fait de la résolution spatiale de l'EEG sa principale limitation. De plus, l'activité cérébrale mesurée se limite principalement à l'activité corticale. Toutefois, il s'agit d'une méthode non-invasive, peu coûteuse, facilement utilisable au lit du patient et avec une très bonne résolution temporelle de l'ordre de la milliseconde. Elle est donc souvent utilisée en clinique chez le nouveau-né pour le diagnostic de crise épileptique et le suivi de traitement associé, avec également une recherche active pour la détection automatique des épisodes épileptiques [39].

Imagerie fonctionnelle par spectroscopie dans le proche infrarouge fNIRS

La spectroscopie fonctionnelle dans le proche infrarouge (fNIRS) est une technique d'imagerie fonctionnelle cérébrale non-invasive et portable. Comme l'IRMf, la fNIRS détecte l'activité fonctionnelle indirectement grâce aux changements d'oxygénation de l'hémoglobine et permet ainsi de détecter les zones d'activation cérébrale par l'intermédiaire du couplage neurovasculaire. Sa principale limitation réside dans la complexité à établir la trajectoire précise des faisceaux infrarouges et donc une difficulté à établir la localisation des sources neuronales. De plus, l'infrarouge est très vite atténué par les tissus et donc l'imagerie fonctionnelle se limite au cortex superficiel.

Imagerie fonctionnelle par ultrasons (fUS)

L'imagerie fonctionnelle par ultrasons (fUS) est une nouvelle technique d'imagerie fonctionnelle développée dans notre laboratoire depuis quelques années. Elle permet d'imager l'activité cérébrale indirectement grâce au couplage neurovasculaire en mesurant les **fluctuations du volume sanguin cérébral** (« *Cerebral Blood Volume* », CBV) au cours du temps. Elle repose sur **l'imagerie ultrasonore ultrarapide** dont les principes seront explicités dans la section 1.3.4. Il s'agit d'une méthode utilisable au chevet du patient, avec une résolution temporelle suffisante pour imager la connectivité ($< 1s$) et une bonne résolution spatiale (200 μm). Sa première application clinique en 2017 a été réalisée chez le nouveau-né et a ouvert la voie pour des analyses de l'activité cérébrale du nouveau-né [40]. Cependant pour pouvoir étendre l'utilisation du fUS, il apparaît nécessaire de développer des méthodes robustes de prétraitement et d'analyse des données pour l'évaluation de la connectivité fonctionnelle ainsi que des améliorations techniques lors des acquisitions. Ce sont les travaux développés au laboratoire et présentés dans les chapitres 3 et 4 de ce manuscrit.



Figure 13. Les différentes méthodes d'imagerie cérébrale pour le nouveau-né. Les méthodes non-portables en haut : (A) MEG (B) MRI (C) TEP et portables en bas : (C) : EEG (D) NIRS (E) Ultrasons (fUS).

Parmi toutes ces méthodes d'imagerie cérébrale anatomique, vasculaire et fonctionnelle, celles basées sur les **ultrasons ont l'avantage d'être peu chères et facilement utilisables au chevet du nouveau-né**, en faisant des méthodes parfaitement adaptées pour le suivi de pathologies néonatales en clinique. Le développement de nouvelles techniques d'imagerie ultrasonore et d'analyse des données devraient permettre l'amélioration des valeurs diagnostiques et pronostiques cliniques.

1.3. Imagerie ultrasonore ultrarapide

1.3.1. Rappel des principes de l'imagerie biomédicale conventionnelle par ultrasons

Comme nous l'avons vu dans le paragraphe précédent, l'imagerie médicale par ultrasons, ou **échographie**, est utilisée en routine clinique pour l'imagerie cérébrale chez le nouveau-né, mais est aussi très largement utilisée pour l'imagerie d'autres organes chez l'adulte.

L'échographie repose sur l'émission d'**ondes ultrasonores** et la réception des échos rétrodiffusés par les particules du milieu imagé, appelées **diffuseurs ultrasonores**. Les ondes ultrasonores, tout comme les ondes sonores audibles, correspondent à la propagation de proche en proche de zones de surpressions et de dépressions des particules

du milieu qu'elles traversent (Figure 14). Cette propagation se fait sans transport de matière, mais avec transport d'énergie.

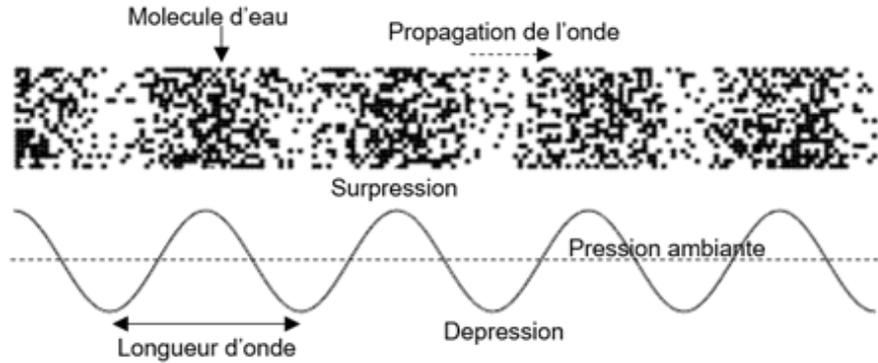


Figure 14. Exemple d'onde acoustique se propageant dans l'eau. Les zones de surpressions et de dépressions des molécules d'eau successives se propagent de proche en proche. (D'après la thèse de Jérôme Baranger)

On définit dans ce cas la **longueur d'onde** λ comme la distance entre deux pics de compressions (ou décompressions) et la **fréquence** f comme le nombre de cycles compression/décompression se succédant en une seconde. Ces deux grandeurs sont liées à la vitesse de propagation de l'onde dans le milieu c par l'équation :

$$(Eq 1.) c = \lambda \times f$$

C'est la fréquence qui permet de différencier les ondes sonores audibles par l'oreille humaine (comprise entre 20 Hz et 20 kHz) et les ondes ultrasonores dont les **fréquences** sont **au-delà de 20 kHz**. En imagerie médicale, les fréquences sont généralement comprises entre 1 et 20 MHz car pour cette bande de fréquence les tissus biologiques mous sont relativement transparents aux ondes ultrasonores (contrairement aux os).

Pour **l'émission de l'onde ultrasonore**, des transducteurs piézoélectriques sont utilisés car ils ont la propriété de se déformer lorsqu'une tension est appliquée à leurs extrémités. En contrôlant les déformations, il est alors possible de créer une succession de compressions et décompressions du milieu créant l'onde ultrasonore. Une sonde échographique est généralement composée d'un alignement de plusieurs transducteurs piézoélectriques permettant ainsi de contrôler le front de l'onde sonore émise. Alors qu'un seul piézoélectrique, de dimension inférieure ou égale à λ , génère en première approximation une onde sphérique, en appliquant des lois de délais appropriés aux différents éléments piézoélectriques de la sonde, il est possible de générer une **onde focalisée**, concentrant l'énergie à une certaine profondeur dans le plan d'imagerie de la

sonde (Figure 15 à gauche). Il s'agit d'une focalisation à l'émission et c'est ce qui est couramment implémenté sur les échographes médicaux.

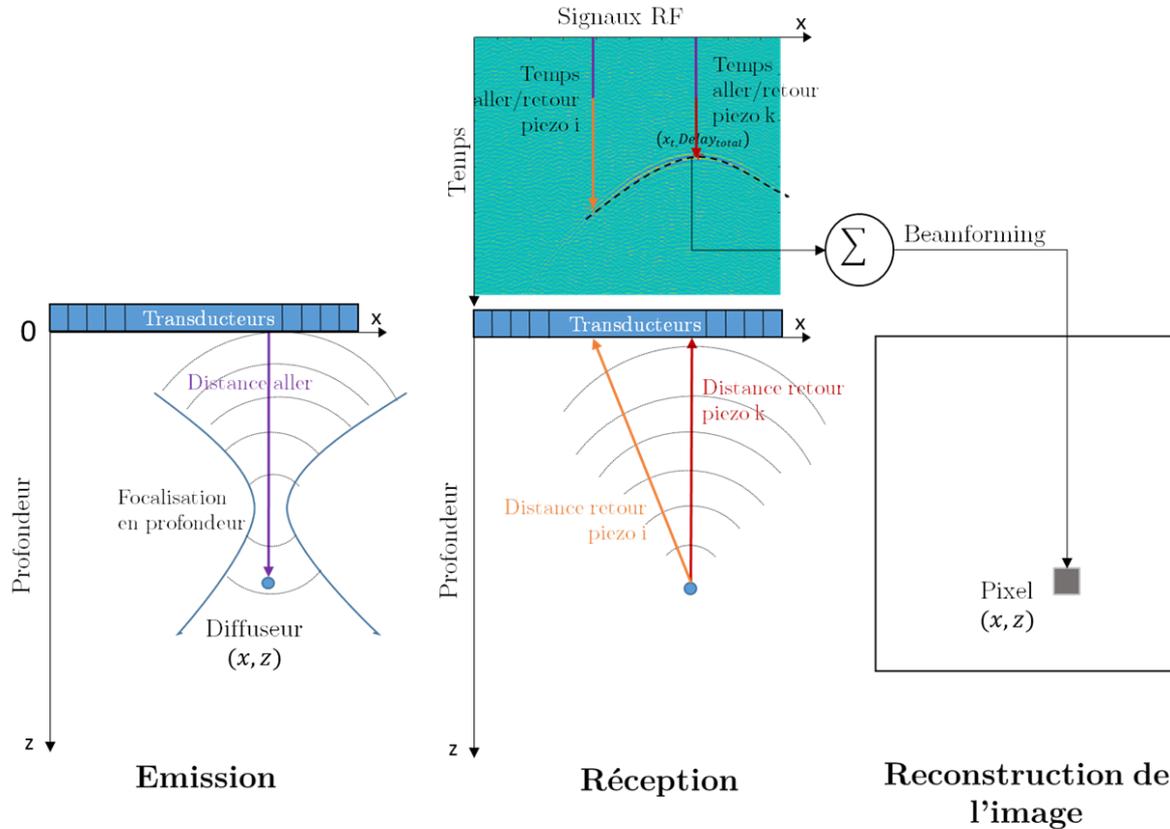


Figure 15. Schéma explicatif des différentes étapes de l'imagerie ultrasonore focalisée. Lors de l'émission, les différents délais appliqués aux piézoélectriques permettent de créer une onde ultrasonore, focalisée en profondeur, qui se propage dans le milieu. Lors de la réception, les échos créés par le diffuseur en position (x,z) sont rétrodiffusés vers la sonde et mesurés par les différents piézoélectriques. Lors de la reconstruction de l'image, on somme pour chaque piézoélectrique l'intensité mesurée au temps correspondant pour faire la distance aller (violet) et retour (rouge ou orange) entre la position que l'on veut reconstruire (pixel (x,z)) et le piézoélectrique considéré.

Ensuite, lors de la propagation de l'onde dans le milieu, des échos vont se créer à la rencontre des multiples diffuseurs du milieu. Ces échos vont à leur tour être enregistrés par les différents piézoélectriques de la barrette ultrasonore, c'est la **période de réception** (Figure 15, au centre). Ces signaux sont les données brutes de l'imagerie ultrasonore appelée signaux « RF » (pour Radiofréquence). En partant de l'hypothèse que la vitesse des ondes ultrasonores dans les tissus biologiques est constante (environ 1 540 m/s) et qu'on se trouve dans un mode de diffusion simple, la localisation spatiale du diffuseur à la source d'un écho enregistré par un piézoélectrique dépend simplement du délai nécessaire à l'onde pour faire l'aller-retour entre le transducteur et le diffuseur.

Pour reconstruire un pixel de l'image, on somme les amplitudes associées aux lois de délais spécifiques pour tous les éléments piézoélectriques de la barrette (Figure 15, à droite). La **reconstruction de l'image** à partir des signaux RF se nomme **beamforming** et consiste en une focalisation à la réception.

Pour un tir ultrasonore focalisé, on ne reconstruit généralement l'image que sur la ligne verticale où l'onde a été focalisée. Pour l'image entière, il est nécessaire de répéter l'étape d'émission/réception ligne par ligne pour scanner le milieu. L'image obtenue est alors une image 2D en nuance de gris appelée **B-mode** (Figure 16) où l'intensité de l'image est proportionnelle à l'échogénicité du milieu, c'est-à-dire à sa capacité à réfléchir les ultrasons (dépendant de ses propriétés physiques). Ce mode d'imagerie permet d'obtenir des **images anatomiques** de nombreux organes et il s'agit probablement du mode d'imagerie ultrasonore le plus connu puisqu'il est utilisé pour le suivi du fœtus lors de la grossesse (Figure 16).



Figure 16. **Image B-Mode d'un fœtus.** On peut remarquer que le placenta et le fœtus sont fortement échogènes (blanc/gris sur l'image) tandis que le liquide amniotique n'est que peu, voire pas, échogène (noir sur l'image). ("Échographie" par jfourmierphoto sous la licence CC BY-NC-ND 2.0.)

L'aspect granuleux de l'imagerie B-mode, appelé **bruit de speckle**, que l'on peut voir Figure 16 est dû à la présence de multitudes de diffuseurs, plus petits que la longueur d'onde, dont les échos vont créer aléatoirement des interférences destructives ou constructives.

Le temps nécessaire pour acquérir une ligne étant limité par le temps d'aller-retour de l'onde, la **cadence d'imagerie** de l'image entière est alors limitée par ce temps multiplié par le nombre de lignes insonifiées. Généralement, la cadence d'imagerie atteinte est entre 50 et 100 images par seconde.

La résolution spatiale axiale (en profondeur) de l'image va dépendre de la fréquence des ultrasons choisis, car plus la fréquence est élevée plus la longueur d'onde est petite et donc meilleure sera la résolution. Malheureusement plus la fréquence est élevée, plus les ultrasons sont atténués et donc plus la pénétration est faible. Le **choix de la fréquence** est donc un **compromis entre résolution axiale et profondeur de pénétration** et dépend de l'application souhaitée.

1.3.2. Principe de l'imagerie ultrasonore ultrarapide

La cadence d'imagerie obtenue avec l'imagerie conventionnelle par ultrasons permet de nombreuses applications cliniques, mais reste trop faible pour imager certains phénomènes transitoires rapides. À la fin des années 1990, une nouvelle technique d'imagerie a été développée, c'est l'**imagerie ultrasonore ultrarapide** [41].

Elle repose sur l'émission d'**ondes planes** au lieu de tirs focalisés permettant ainsi d'insonifier et de reconstruire une image de tout le milieu avec un seul tir. Cependant, l'énergie n'étant pas focalisée à l'émission, le contraste de l'image s'en trouve dégradé. Pour remédier à ce problème, il suffit d'envoyer plusieurs ondes planes inclinées avec des angles différents puis de faire la **sommation cohérente** des signaux obtenus [42]. Ce procédé permet de créer une focalisation synthétique à l'émission en tout point de l'image (Figure 17) et d'ainsi améliorer le contraste. Malgré la nécessité d'envoyer plusieurs ondes planes, ce type d'imagerie permet d'atteindre une cadence d'imagerie de 1 000 à 10 000 Hz soit $10\times$ à $100\times$ plus importante que l'imagerie conventionnelle, d'où son nom d'imagerie ultrarapide.

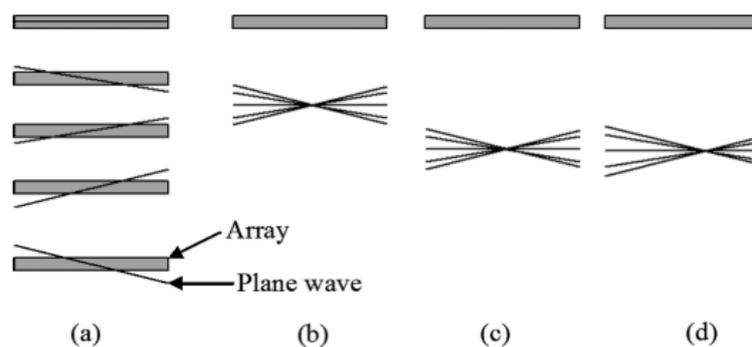


Figure 17. Schéma explicatif de la focalisation synthétique à l'émission par ondes planes. À partir de (a) l'émission de plusieurs ondes planes inclinées, il est possible de retrouver une focalisation à (b-c) différentes profondeurs et à (c-d) différents points horizontalement a posteriori (Tiré de Montaldo et al. [42]).

L'augmentation de cette cadence d'imagerie a permis l'exploration de phénomènes rapides, jusque-là impossibles à imager avec les ultrasons conventionnels. Par exemple, la **vitesse de propagation d'une onde de cisaillement** dans un milieu est comprise généralement entre 1 et 30 m/s, il était donc impossible de suivre sa propagation avec l'imagerie focalisée. La capacité de suivre cette propagation grâce à l'imagerie ultrasonore ultrarapide a mené à l'étude de la **rigidité des tissus** aussi appelée **élastographie**. Une des techniques développées est l'élastographie par onde de cisaillement (ou *shear wave elastography* en anglais) [43]. La première phase de cette technique consiste à créer l'onde de cisaillement en émettant plusieurs tirs ultrasonores alignés et focalisés avec une forte énergie. La deuxième phase consiste à imager la propagation de cette onde à l'aide d'ondes planes ultrasonores et d'en mesurer la vitesse de propagation à partir du déphasage du signal de chaque pixel. La vitesse de l'onde de cisaillement c_s est alors liée à la rigidité du milieu où elle se propage (module d'élasticité ou module d'Young E) par la formule suivante :

$$(Eq\ 2.)\ E = 3\rho c_s^2 \text{ (avec } \rho \text{ la densité)}$$

L'élastographie permet à la fois d'avoir une image du contraste entre des zones de rigidité différente et une mesure quantitative de ces rigidités (Figure 18). Plusieurs applications cliniques ont été développées pour la détection de fibrose du foie ou la détection de tumeurs dans le sein, la thyroïde ou encore le rein [44]. Nous verrons également dans le chapitre 2, la possibilité d'utiliser cette technique pour la caractérisation de la rigidité des tissus du cerveau du nouveau-né.

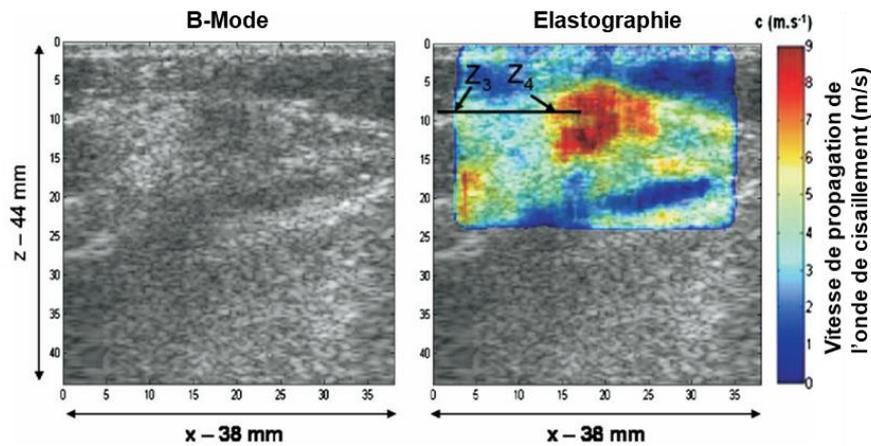


Figure 18. Visualisation d'une tumeur du sein (carcinome canalaire infiltrant de grade III) par élastographie par onde de cisaillement. À gauche, l'imagerie B-mode où la tumeur apparaît légèrement plus foncée. À droite, une carte de la vitesse de propagation de l'onde de cisaillement. La tumeur ressort rouge donc avec une forte rigidité comparée au reste du milieu. (Tiré de Tanter et al.[45])

1.3.3. Imagerie Doppler ultrarapide, pour imager le mouvement du sang

Plutôt que de s'intéresser à un film anatomique en B-mode, **l'imagerie Doppler permet d'imager le mouvement** et plus particulièrement celui du sang. Ce mode d'imagerie tire son nom de l'effet Doppler sur lequel il repose. Il s'agit plus précisément de l'effet Doppler pulsé que l'on peut expliquer de la manière suivante. Lorsqu'un diffuseur se déplace dans le milieu, sa position va être différente entre deux émissions/réceptions d'ondes ultrasonores. Une position différente signifie que l'écho reçu lors de la deuxième réception aura un délai modifié par rapport à la première réception (plus grand si le diffuseur s'éloigne de la sonde et plus petit s'il s'en rapproche). Or, ce délai est proportionnel à la vitesse du diffuseur et on peut lier la fréquence centrale du signal Doppler (la fréquence Doppler $f_{Doppler}$) à la vitesse axiale v_z des diffuseurs par la formule suivante :

$$(Eq\ 3.)\ f_{Doppler} = \frac{2f_{pulse}v_z}{c}$$

Avec f_{pulse} , la fréquence du pulse ultrasonore et c la vitesse de l'onde ultrasonore dans le milieu.

Si l'on calcule la fréquence centrale du signal tel quel, la vitesse calculée sera la contribution de tous les diffuseurs des pixels qu'ils proviennent du sang ou du tissu. Afin **d'étudier le signal provenant uniquement du sang**, il est donc nécessaire de supprimer les composantes venant majoritairement des tissus environnants.

Sous l'hypothèse que la vitesse du sang est plus rapide que celle des mouvements infimes du tissu, la fréquence Doppler associée au sang sera plus élevée que celle du tissu, et l'application d'un **filtre temporel passe-haut** permet alors en théorie de ne garder que le signal provenant du sang. En appliquant le filtrage passe-haut à l'imagerie ultrarapide, cela permet de gagner en sensibilité en comparaison aux ultrasons conventionnels comme illustré Figure 19 pour un bloc de 0.32 s, notamment grâce à l'amélioration du rapport de l'intensité du signal d'intérêt sur celle du signal du bruit par la sommation cohérente et au plus grand nombre d'échantillons temporels disponibles pour chaque pixel [46].

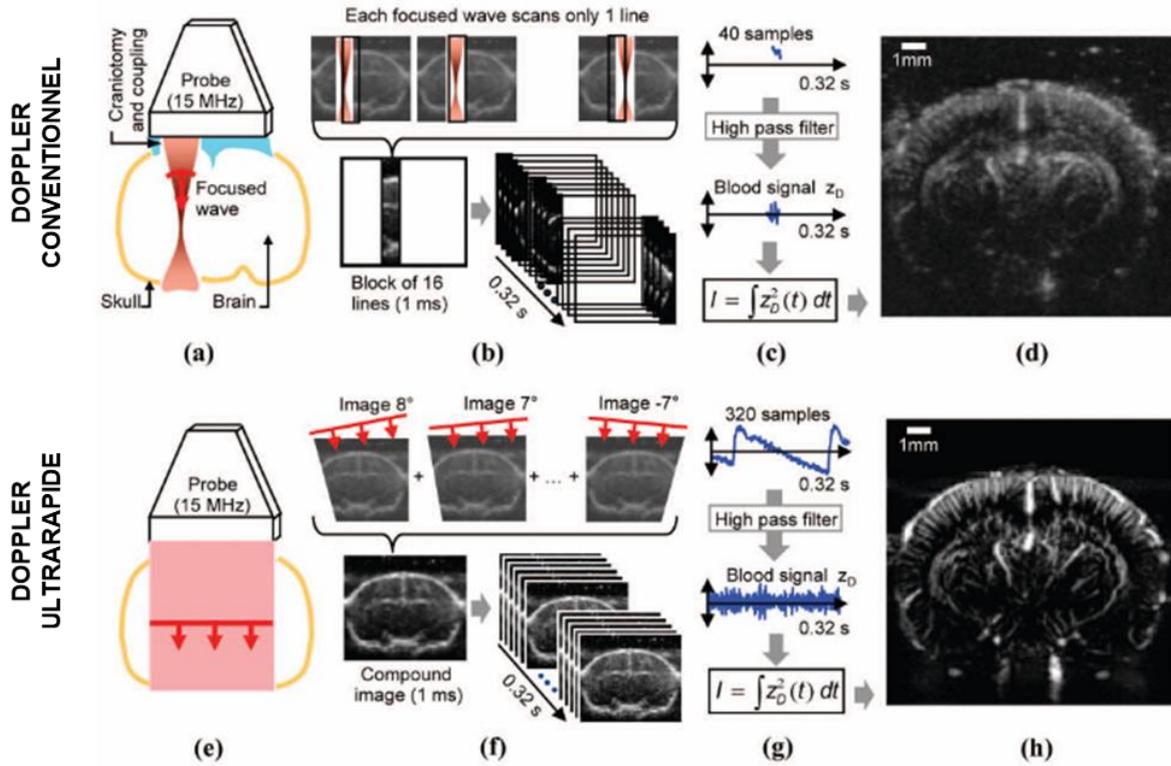


Figure 19. Comparaison du Doppler conventionnel (en haut) par tir focalisé (a) et du Doppler ultrarapide (en bas) par émission d’ondes planes (e). On remarque que le Doppler de puissance obtenu par Doppler ultrarapide (h) a une meilleure sensibilité que le Doppler de puissance obtenu par Doppler conventionnel (d). Ceci s’explique notamment par le plus grand nombre d’échantillons disponibles en tout point de l’image pour un temps d’acquisition donnée de 0.32 s (b et f) (Tiré de Macé et *al.*[46])

Cependant, en pratique, le filtrage en fréquence ne parvient pas toujours à séparer suffisamment les composantes sang et tissu.

L’utilisation de l’imagerie ultrarapide a permis le développement d’une nouvelle technique de filtrage basée sur 1/ le caractère synchrone des signaux de tous les pixels de l’image (puisque insonifiés en même temps) et 2/ le plus grand nombre d’échantillons pour un pixel [47]. Cette fois, l’hypothèse est la suivante : les signaux provenant des tissus sont nombreux et ont les mêmes variations au cours du temps, ils ont donc une grande cohérence spatio-temporelle. En appliquant une **décomposition en valeur singulière** (SVD), on va décomposer notre image en différents modes pour lesquels vont correspondre à chaque fois une composante temporelle, une composante spatiale et une valeur singulière. Le tissu ayant une forte cohérence spatio-temporelle, il va correspondre aux plus grandes valeurs singulières de la décomposition SVD.

En pratique, l’imagerie Doppler consiste en un bloc d’images ultrarapides beamformées, appelé bloc IQ, que l’on peut considérer comme une matrice de dimension (n_x, n_z, n_t) . La

décomposition SVD nécessite de réarranger la matrice de bloc IQ en sa matrice de Casorati S de dimension $(n_x \times n_z, n_t)$. La décomposition SVD est appliquée à cette matrice pour obtenir :

$$(Eq\ 4.)\ S = U\Delta V^*$$

Avec U la matrice de vecteurs singuliers spatiaux de dimension $(n_x \times n_z, n_t)$, Δ la matrice diagonale des valeurs singulières de dimension (n_t, n_t) et V la matrice des vecteurs singuliers temporels de dimension (n_t, n_t) . Pour supprimer la composante tissulaire, il suffit alors de mettre les plus grandes valeurs singulières de la matrice Δ à zéro avant de remultiplier les matrices U, Δ et V^* .

Le choix du nombre de valeurs singulières à retirer, appelé seuil SVD, est crucial pour correctement enlever le signal tissulaire. Il peut être effectué manuellement ou de manière adaptative en se basant par exemple sur la matrice de similarité des vecteurs spatiaux [48].

Une fois filtrée, l'énergie du signal Doppler peut ensuite être intégrée pour chaque pixel sur le temps d'acquisition du bloc IQ donnant ce qu'on appelle une image en **Doppler de puissance** où l'intensité est proportionnelle au nombre de globules rouges en mouvement dans le pixel (Figure 19 (h)) [49].

Nous verrons également dans le chapitre 2 de ce manuscrit comment calculer la fréquence centrale du signal Doppler à partir des données ultrasonores filtrées afin d'étudier quantitativement la vitesse des flux.

1.3.4. Imagerie fonctionnelle par ultrasons (fUS), pour imager l'activité cérébrale

Nous venons de voir qu'avec le Doppler de puissance, l'intensité du signal est **proportionnelle au nombre de globules rouges** dans un pixel. Le Doppler de puissance permet donc d'avoir une mesure du **volume sanguin cérébral** (« *Cerebral Blood Volume* » **CBV**). En réalisant plusieurs Doppler de puissance à une cadence adéquate, il est possible de suivre les fluctuations du CBV au cours du temps. Grâce au couplage neurovasculaire, on a alors théoriquement une mesure indirecte de l'activité fonctionnelle.

Cette nouvelle technique d'imagerie fonctionnelle cérébrale, nommée **imagerie fonctionnelle par ultrasons (fUS)** a vu sa première preuve de concept en 2011 [46]

où il a été montré qu'une augmentation du CBV était détectable dans le cortex somatosensoriel suite à des stimulations des vibrisses chez le rat (Figure 20).

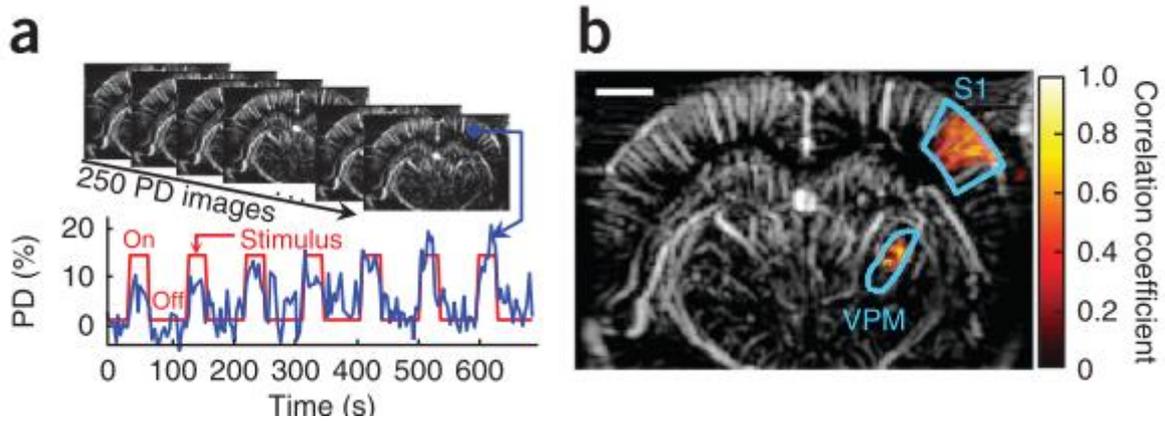


Figure 20. Première preuve de concept de l'imagerie fonctionnelle par ultrasons (fUS) chez la souris suite à des stimulations de vibrisses. (a) Le signal du Doppler de puissance dans la zone du cortex associée aux vibrisses augmente lors de la stimulation (ON). (b) Carte de corrélation des pixels avec le stimulus. On remarque que la zone activée correspond à la zone du cortex associée aux vibrisses. (Tiré de Macé et al. [50])

Une autre étude a montré en 2014 [51] la possibilité de mesurer chez le rat la **connectivité fonctionnelle**, c'est-à-dire la corrélation entre les activités spontanées des différentes régions fonctionnelles qui sont naturellement présentes à l'état de repos. La première application chez l'humain a été réalisée chez le nouveau-né en 2017 [40] montrant la capacité du fUS d'un côté à discriminer les états de sommeil chez le nouveau-né sain et de l'autre à mettre en avant une augmentation du CBV lors de crises épileptiques chez un nouveau-né pathologique. Cette application relativement rapide en clinique pour le nouveau-né a été facilitée par la possibilité d'imager par la fontanelle et l'existence de l'échographe ultrarapide clinique de la société SuperSonic Imagine.

1.4. Objectifs de la thèse

Nous avons vu que la naissance prématurée peut provoquer une perturbation de la perfusion cérébrale chez le nouveau-né pouvant conduire à des lésions de la substance blanche (détection anatomique possible relativement tôt) et augmentant alors le risque de développer des handicaps à vie pour les nouveau-nés concernés (détectables tardivement au fur et à mesure du développement moteur et cognitif de l'enfant). Cependant, le pronostic du neurodéveloppement du nouveau-né sur la base d'observations cérébrales anatomiques, vasculaires ou fonctionnelles n'est pas encore assez fiable, malgré les nombreuses techniques déjà existantes. Si certains mécanismes ont déjà été identifiés, plusieurs maillons sont manquants afin de mieux comprendre ce

phénomène. Les objectifs de cette thèse concernent le développement de nouvelles techniques d'évaluation de l'activité cérébrale pour l'amélioration du suivi des pathologies néonatales.

1.4.1. Développer une méthode d'analyse quantitative de la résistivité vasculaire cérébrale chez le nouveau-né pour la prédiction d'apparition de lésions de la substance blanche et étudier l'apport de la mesure de rigidité du cerveau

La résistivité vasculaire cérébrale chez le nouveau-né, permettant d'évaluer la fonction vasculaire du cerveau, est habituellement mesurée, en clinique, par imagerie Doppler pulsé conventionnel. Cependant, cette mesure est limitée à des points de mesures stéréotypés, dans les larges artères cérébrales, ne rendant pas compte de la résistivité sur l'ensemble du cerveau. Le développement de l'image Doppler ultrarapide a permis de supprimer cette limitation en donnant la possibilité de cartographier la résistivité dans l'ensemble du champ de vue simultanément. Les études s'étaient pour l'instant limitées à des considérations qualitatives. Nous avons développé une méthode d'analyse quantitative de la résistivité en fonction du diamètre des vaisseaux dont nous avons extrait deux biomarqueurs, illustrant mieux la résistivité globale de l'arbre vasculaire. En collaboration avec le Pr Valérie Biran et le Pr Olivier Baud à l'Hôpital Robert Debré à Paris, nous avons pu évaluer ces biomarqueurs sur une large cohorte de nouveau-nés prématurés pour la prédiction d'apparition de lésions de la substance blanche. Nous évaluons également l'apport de la mesure de rigidité par élastographie par ondes de cisaillement pour la détection des lésions de la substance blanche. La possibilité d'imager/détecter les perturbations de la perfusion cérébrale avant l'apparition des lésions de la substance blanche est un enjeu clinique important pour espérer améliorer le pronostic à long-terme des patients.

1.4.2. Améliorer les techniques de prétraitement et d'analyse dynamique de la connectivité fonctionnelle à l'état de repos et valider l'utilisation du fUS pour la détection d'altérations cérébrales néonatales de modèles précliniques

De par la grande plasticité du cerveau, de nombreuses trajectoires neuro-développementales sont possibles. Faire le lien entre les perturbations cérébrales (perfusions/lésions de la substance blanche) et les troubles moteurs et cognitifs se révèle alors difficile. L'évaluation de la connectivité fonctionnelle à l'état de repos est un outil

indispensable pour mieux comprendre et identifier les trajectoires neuro-développementales anormales. L'imagerie fonctionnelle par ultrasons (fUS) a déjà montré sa capacité à évaluer la connectivité fonctionnelle en préclinique dans différentes études. Dans ce chapitre, nous testons des méthodes de prétraitement plus robustes et comparons des techniques d'analyse de la connectivité dynamique afin d'améliorer l'analyse des données fUS. Enfin, nous avons appliqué ces techniques sur deux modèles précliniques d'altérations cérébrales néonatales, afin d'évaluer leur impact sur la connectivité fonctionnelle. Ces deux modèles, développés chez la souris par l'équipe de Pierre Gressens (NeuroDiderot) à l'Hôpital Robert Debré, utilisent la naissance par césarienne et une inflammation néonatale systémique induite par injection d'interleukine-bêta-1 en période postnatale.

1.4.3. Confirmer et améliorer la capacité du fUS à détecter des altérations cérébrales subtiles chez le nouveau-né humain

La première preuve de concept d'imagerie fUS chez le nouveau-né humain a ouvert la voie à l'étude de l'activité cérébrale néonatale dès la naissance, et au chevet du patient. Cependant, l'évaluation de la connectivité à l'état de repos par imagerie fUS chez le nouveau-né présente encore de nombreux défis. L'objectif de ce dernier chapitre est de confirmer la possibilité de l'évaluation de la connectivité sur deux cohortes de nouveau-nés. La première étude a été réalisée en collaboration avec le Pr Valérie Biran et le Pr Olivier Baud à l'Hôpital Robert Debré, et cherche à évaluer d'éventuelles différences de connectivité entre des nouveau-nés prématurés et à terme. La deuxième étude, en collaboration avec le Pr Olivier Baud aux Hôpitaux Universitaires de Genève, comprend une cohorte de patients nés prématurément et imagés à terme équivalent. La présence de plus nombreux artéfacts de mouvement pour cette cohorte de nouveau-nés, nous a permis de tester la robustesse de la méthode de prétraitement utilisée pour les études précliniques. Cependant, les limitations actuelles en termes de champ de vue et de cadence d'imagerie, ont contraint nos études chez le nouveau-né et nécessitent d'être levées pour les travaux futurs. Nous proposons donc enfin des solutions techniques pour la construction d'un nouveau neuro-imageur, utilisable en clinique, pour l'évaluation de la connectivité fonctionnelle chez le nouveau-né.

1.5. Bibliographie du chapitre

- [1] H. Blencowe *et al.*, “National, regional, and worldwide estimates of preterm birth rates in the year 2010 with time trends since 1990 for selected countries: A systematic analysis and implications,” *Lancet*, vol. 379, no. 9832, pp. 2162–2172, 2012.
- [2] L. Liu *et al.*, “Global, regional, and national causes of under-5 mortality in 2000–15: an updated systematic analysis with implications for the Sustainable Development Goals,” *Lancet*, vol. 388, no. 10063, pp. 3027–3035, 2016.
- [3] P. Y. Ancel *et al.*, “Survival and morbidity of preterm children born at 22 through 34 weeks’ gestation in France in 2011: results of the EPIPAGE-2 cohort study,” *JAMA Pediatr*, vol. 169, no. 3, pp. 230–238, 2015.
- [4] V. Pierrat *et al.*, “Neurodevelopmental outcomes at age 5 among children born preterm: EPIPAGE-2 cohort study,” *BMJ*, vol. 373, 2021.
- [5] D. Purves *et al.*, *Neuroscience*, Third edit. Sinauer Associates, 2004.
- [6] C. Rye, R. Wise, V. Jurukovski, J. DeSaix, J. Choi, and Y. Avissar, *Biology*. Houston, Texas: OpenStax.
- [7] Cipolla MJ., “Chapter 5: Control of Cerebral Blood Flow,” in *The Cerebral Circulation.*, 2009.
- [8] H. Girouard and C. Iadecola, “Neurovascular coupling in the normal brain and in hypertension, stroke, and Alzheimer disease,” *J Appl Physiol*, vol. 100, no. 1, pp. 328–335, 2006.
- [9] S. Schaeffer and C. Iadecola, “Revisiting the neurovascular unit,” *Nat Neurosci*, vol. 24, no. 9, pp. 1198–1209, 2021.
- [10] S. Grubb *et al.*, “Precapillary sphincters maintain perfusion in the cerebral cortex,” *Nat Commun*, vol. 11, no. 1, 2020.
- [11] J. Newville, M. C. Ortega, and J. R. Maxwell, “Babies Born Early Can Have Brain Injury,” *Front Young Minds*, vol. 6, no. May, 2018.
- [12] J. J. Volpe, “Brain injury in premature infants: a complex amalgam of destructive and developmental disturbances,” *Lancet Neurol*, vol. 8, no. 1, pp. 110–124, 2009.
- [13] D. R. M. G. Ophelders *et al.*, “Preterm Brain Injury, Antenatal Triggers, and Therapeutics: Timing Is Key,” *Cells*, vol. 9, no. 8, pp. 1–42, 2020.
- [14] B. Fleiss, J. Van Steenwinckel, C. Bokobza, I. K. Shearer, E. Ross-Munro, and P. Gressens, “Microglia-mediated neurodegeneration in perinatal brain injuries,” *Biomolecules*, vol. 11, no. 1, pp. 1–22, 2021.
- [15] B. Fleiss, P. Gressens, and H. B. Stolp, “Cortical Gray Matter Injury in Encephalopathy of Prematurity: Link to Neurodevelopmental Disorders,” *Front Neurol*, vol. 11, no. July, 2020.
- [16] E. H. Chung, J. Chou, and K. A. Brown, “Neurodevelopmental outcomes of preterm infants: a recent literature review,” vol. 9, pp. 3–8, 2020.
- [17] J. J. Neil and J. J. Volpe, *Encephalopathy of Prematurity: Clinical-Neurological Features, Diagnosis, Imaging, Prognosis, Therapy. Clinical-Neurological Features, Diagnosis, Imaging, Prognosis, Therapy.*, Sixth Edit. Elsevier Inc., 2017.
- [18] J. J. Volpe, “Dysmaturation of Premature Brain: Importance, Cellular Mechanisms, and Potential Interventions,” *Pediatr Neurol*, vol. 95, pp. 42–66, 2019.
- [19] J. Sa de Almeida *et al.*, “Music enhances structural maturation of emotional processing neural pathways in very preterm infants,” *Neuroimage*, 2019.
- [20] S. Passera *et al.*, “Therapeutic potential of stem cells for preterm infant brain damage: can we move from the heterogeneity of preclinical and clinical studies to established therapeutics?,” *Biochem Pharmacol*, vol. 186, no. December 2020, p. 114461, 2021.
- [21] S. Nair *et al.*, “Neuroprotection offered by mesenchymal stem cells in perinatal brain injury: Role of mitochondria, inflammation, and reactive oxygen species,” *J Neurochem*, no. July, pp. 1–15,

- 2020.
- [22] M. Guillot, V. Chau, and B. Lemyre, “Routine imaging of the preterm neonatal brain,” *Paediatr Child Heal*, vol. 25, no. 4, pp. 249–255, 2020.
- [23] T. Guo *et al.*, “Quantitative assessment of white matter injury in preterm neonates,” *Neurology*, vol. 88, no. 7, pp. 614–622, 2017.
- [24] M. Martinez-Biarge *et al.*, “Neurodevelopmental Outcomes in Preterm Infants with White Matter Injury Using a New MRI Classification,” *Neonatology*, vol. 116, no. 3, pp. 227–235, 2019.
- [25] R. Sauve, “Routine screening cranial ultrasound examinations for prediction of long term neurodevelopmental outcomes in preterm infants,” *Paediatr Child Health (Oxford)*, vol. 6, no. 1, pp. 39–43, 2001.
- [26] T. Agut *et al.*, “Preterm white matter injury: ultrasound diagnosis and classification,” *Pediatr Res*, vol. 87, pp. 37–49, 2020.
- [27] J. Baranger *et al.*, “Brain perfusion imaging in neonates,” *NeuroImage Clin*, vol. 31, p. 102756, 2021.
- [28] E. T. Petersen, I. Zimine, Y. C. L. Ho, and X. Golay, “Non-invasive measurement of perfusion: A critical review of arterial spin labelling techniques,” *Br J Radiol*, vol. 79, no. 944, pp. 688–701, 2006.
- [29] L. W. Doyle, C. Nahmias, G. Firnau, D. B. Kenyon, E. S. Garnett, and J. C. Sinclair, “Regional Cerebral Glucose Metabolism of Newborn Infants Measured by positron Emission Tomography,” *Dev Med Child Neurol*, vol. 25, no. 2, pp. 143–151, 1983.
- [30] J. J. Volpe, P. Herscovitch, J. M. Perlman, K. L. Kreusser, and M. E. Raichle, “Positron emission tomography in the asphyxiated term newborn: Parasagittal impairment of cerebral blood flow,” *Ann Neurol*, vol. 17, no. 3, pp. 287–296, 1985.
- [31] A. Couture and C. Veyrac, *Transfontanellar Doppler Imaging in Neonates*. Springer, Berlin, Heidelberg, 2001.
- [32] G. J. Gerner *et al.*, “Transfontanellar duplex brain ultrasonography resistive indices as a prognostic tool in neonatal hypoxic-ischemic encephalopathy before and after treatment with therapeutic hypothermia,” *J Perinatol*, vol. 36, no. 3, pp. 202–206, 2016.
- [33] J. W. Allison, L. A. Faddis, D. L. Kinder, P. K. Roberson, C. M. Glasier, and J. J. Seibert, “Intracranial resistive index (RI) values in normal term infants during the first day of life,” *Pediatr Radiol*, vol. 30, no. 9, pp. 618–620, 2000.
- [34] J. S. Wyatt *et al.*, “Quantitation of cerebral blood volume in human infants by near-infrared spectroscopy,” *J Appl Physiol*, vol. 68, no. 3, pp. 1086–1091, 1990.
- [35] A. A. Garvey and E. M. Dempsey, “Applications of near infrared spectroscopy in the neonate,” *Curr Opin Pediatr*, vol. 30, no. 2, pp. 209–215, 2018.
- [36] N. Lin, J. Flibotte, and D. J. Licht, “Neuromonitoring in the neonatal ECMO patient,” *Semin Perinatol*, vol. 42, no. 2, pp. 111–121, 2018.
- [37] L. Lauronen, P. Nevalainen, and E. Pihko, “La magnétoencéphalographie chez le nouveau-né,” *Neurophysiol Clin*, vol. 42, no. 1–2, pp. 27–34, 2012.
- [38] S. Asadzadeh, T. Yousefi Rezaei, S. Beheshti, A. Delpak, and S. Meshgini, “A systematic review of EEG source localization techniques and their applications on diagnosis of brain abnormalities,” *J Neurosci Methods*, vol. 339, no. February, 2020.
- [39] A. Temko, E. Thomas, W. Marnane, G. Lightbody, and G. Boylan, “EEG-based neonatal seizure detection with Support Vector Machines,” *Clin Neurophysiol*, vol. 122, no. 3, pp. 464–473, 2011.
- [40] C. Demene *et al.*, “Functional ultrasound imaging of brain activity in human newborns,” *Sci Transl Med*, vol. 9, no. 411, 2017.
- [41] L. Sandrin, S. Catheline, M. Tanter, X. Hennequin, and M. Fink, “Time-resolved pulsed elastography with ultrafast ultrasonic imaging,” *Ultrason Imaging*, vol. 21, no. 4, pp. 259–272,

- 1999.
- [42] G. Montaldo, M. Tanter, J. Bercoff, N. Benech, and M. Fink, “Coherent Plane-Wave Compounding for Very High Frame Rate Ultrasonography and Transient Elastography,” *IEEE Trans Ultrason Ferroelectr Freq Control*, vol. 56, no. 1, pp. 489–506, 2009.
 - [43] J. Bercoff, M. Tanter, and M. Fink, “Supersonic shear imaging: A new technique for soft tissue elasticity mapping,” *IEEE Trans Ultrason Ferroelectr Freq Control*, vol. 51, no. 4, pp. 396–409, 2004.
 - [44] R. M. S. Sigrist, J. Liau, A. El Kaffas, M. C. Chammas, and J. K. Willmann, “Ultrasound elastography: Review of techniques and clinical applications,” *Theranostics*, vol. 7, no. 5, pp. 1303–1329, 2017.
 - [45] M. Tanter *et al.*, “Quantitative Assessment of Breast Lesion Viscoelasticity: Initial Clinical Results Using Supersonic Shear Imaging,” *Ultrasound Med Biol*, vol. 34, no. 9, pp. 1373–1386, 2008.
 - [46] E. Mace, G. Montaldo, B. F. Osmanski, I. Cohen, M. Fink, and M. Tanter, “Functional ultrasound imaging of the brain: Theory and basic principles,” *IEEE Trans Ultrason Ferroelectr Freq Control*, vol. 60, no. 3, pp. 492–506, 2013.
 - [47] C. Demené *et al.*, “Spatiotemporal Clutter Filtering of Ultrafast Ultrasound Data Highly Increases Doppler and fUltrasound Sensitivity,” *IEEE Trans Med Imaging*, vol. 34, no. 11, pp. 2271–2285, 2015.
 - [48] J. Baranger, B. Arnal, F. Perren, O. Baud, M. Tanter, and C. Demene, “Adaptive Spatiotemporal SVD Clutter Filtering for Ultrafast Doppler Imaging Using Similarity of Spatial Singular Vectors,” *IEEE Trans Med Imaging*, vol. 37, no. 7, pp. 1574–1586, 2018.
 - [49] T. Deffieux, C. Demené, and M. Tanter, “Functional Ultrasound Imaging: A New Imaging Modality for Neuroscience,” *Neuroscience*, vol. 474, pp. 110–121, 2021.
 - [50] E. MacÉ, G. Montaldo, I. Cohen, M. Baulac, M. Fink, and M. Tanter, “Functional ultrasound imaging of the brain,” *Nat Methods*, vol. 8, no. 8, pp. 662–664, 2011.
 - [51] B. F. Osmanski, S. Pezet, A. Ricobaraza, Z. Lenkei, and M. Tanter, “Functional ultrasound imaging of intrinsic connectivity in the living rat brain with high spatiotemporal resolution,” *Nat Commun*, vol. 5, 2014.

Chapitre 2.

Imagerie Doppler Ultrarapide
quantitative pour le suivi de la
résistivité cérébrale chez le nouveau-
né humain et apport de la mesure de
la rigidité des tissus cérébraux

2.1. Introduction à la résistivité vasculaire cérébrale

2.1.1. L'index de résistivité mesuré par Doppler conventionnel pulsé et son utilisation clinique

Comme expliqué précédemment dans le chapitre d'introduction (section 1.1.2.2), une bonne perfusion du cerveau est primordiale pour son bon fonctionnement. La circulation du sang dans le corps est possible en premier lieu grâce au cœur, le moteur du **système vasculaire**, qui agit comme une pompe et propulse le sang dans tout le corps via un réseau de vaisseaux sanguins : les artères. Le système vasculaire étant un système fermé le sang revient, après échanges d'oxygène et de nutriments avec les autres organes, au cœur via d'autres vaisseaux : les veines. Plus précisément, un cycle cardiaque se décompose en deux phases : la **systole** où les muscles du cœur vont se contracter rapidement pour expulser le sang dans le corps et la **diastole** où les muscles du cœur se relâchent pour se remplir de sang.

Lorsqu'on mesure la vitesse du flux sanguin dans un vaisseau au cours d'un cycle cardiaque, on obtient un pic qui correspond à la systole puis une phase de relaxation qui correspond à la diastole comme on peut le voir sur la Figure 21. On peut alors définir deux vitesses spécifiques : la **vitesse maximale au pic systolique** (« peak-systolic velocity » PSV) et la **vitesse minimum en fin de diastole** (« end-diastolic velocity » EDV).

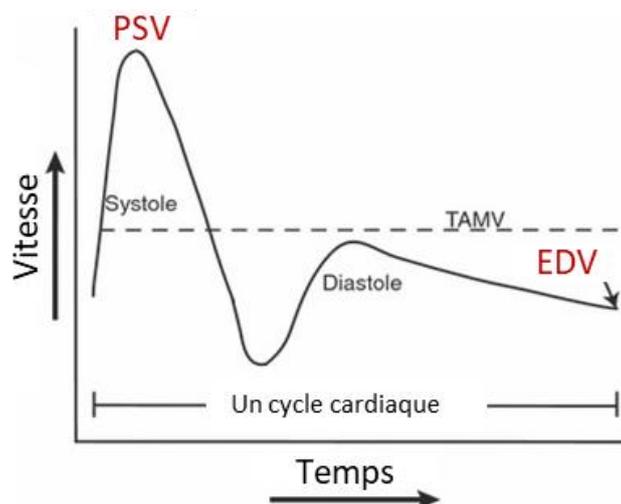


Figure 21. Vitesse du flux sanguin au cours d'un cycle cardiaque. On distingue les deux phases du cycle cardiaque : systole et diastole ainsi que deux vitesses spécifiques PSV et EDV. (D'après Siddiqui et al, [1])

L'index de résistivité (IR), aussi appelé index de Pourcelot, se définit alors comme le rapport de la différence entre ces deux vitesses sur la vitesse diastolique avec la formule :

$$(Eq\ 5.)\ IR = \frac{PSV-EDV}{PSV}$$

Il mesure la résistance du vaisseau au flux qui s'écoule, c'est-à-dire la **résistance du vaisseau à la perfusion**. Cette résistance est **causée par le réseau micro-vasculaire** en aval du vaisseau : plus l'index de résistivité est faible, plus les artérioles laissent passer de sang dans les tissus de l'organe.

Dans le contexte clinique, l'index de résistivité permet **d'évaluer la fonction vasculaire dans un organe**. Il est fréquemment mesuré par Doppler pulsé en échographie obstétricale au niveau de l'artère ombilicale pour le dépistage de souffrances fœtales [2] ou en échographie rénale pour l'évaluation d'un dysfonctionnement du rein [3]. Il sert également dans le cadre de **l'évaluation vasculaire cérébrale chez le nouveau-né**. Avec le Doppler conventionnel pulsé, l'index de résistivité ne peut être mesuré qu'à un seul endroit à la fois. Le site préférentiel de mesure est le segment A3 de l'artère cérébrale antérieure (ACA) le long du genou du corps calleux (Figure 22) et nécessite donc un radiologue ou un néonatalogiste expérimenté pour se placer dans le plan sagittal adapté à travers la fontanelle antérieure.

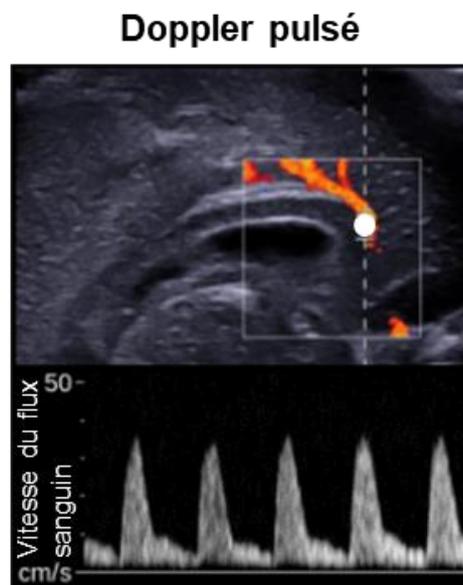


Figure 22. Localisation typique (point blanc) de la mesure de l'index de résistivité dans le segment A3 de l'artère cérébrale antérieure par Doppler pulsé. En dessous, le profil de la vitesse du flux en ce point du vaisseau est affiché.

Par définition, l'index de résistivité varie lorsque la vitesse systolique ou la vitesse en fin de diastole est modifiée. **Certaines pathologies cérébrales vont modifier l'IR**, car elles impactent les vitesses systoliques et/ou diastoliques comme décrit par Riedesel et *al.* [4]. Par exemple, lors d'un épisode d'hypoxie-ischémie (HI), caractérisée par la réduction de l'apport en oxygène et/ou du flux sanguin au cerveau, l'EDV est plus élevée que la normale résultant en une diminution de l'index de résistivité (Figure 23A). Un des traitements possibles de l'HI est l'hypothermie qui consiste à réduire la température du cerveau du nouveau-né afin de réduire ses besoins énergétiques et de limiter les lésions cérébrales. Dans ce cadre-là, de nombreuses études ont cherché à montrer que l'index de résistivité cérébrale pouvait être utilisé comme outil de pronostic du neuro-développement [5][6].

À l'inverse, avec une pression intracrânienne élevée, l'EDV a tendance à diminuer et l'index de résistivité est alors plus élevé que la normale (Figure 23B).

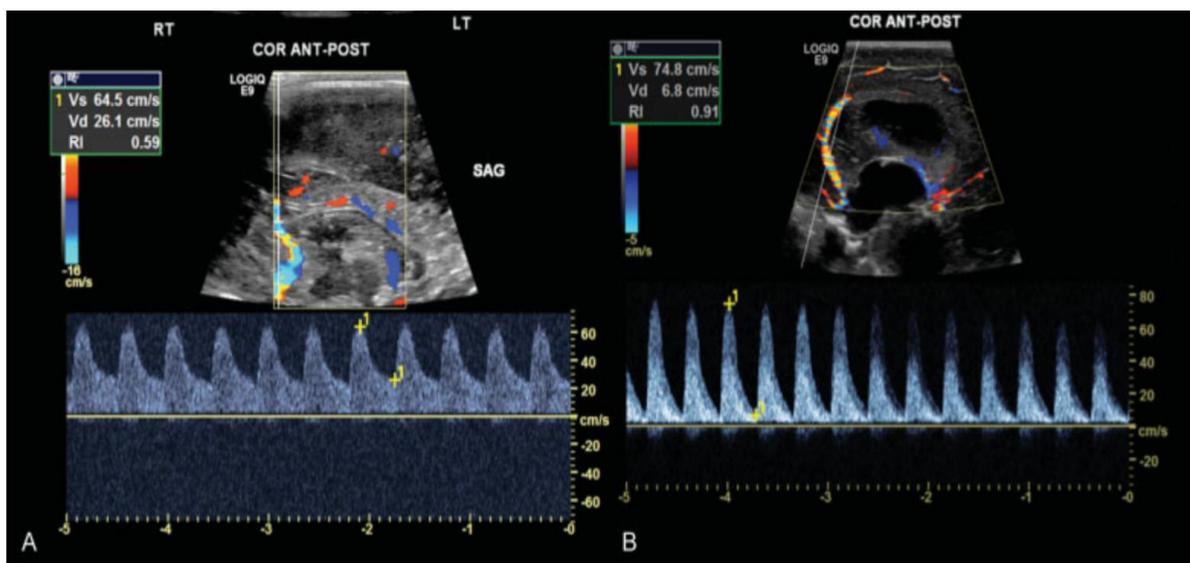


Figure 23. Images Doppler transfontanellaires chez des nouveau-nés avec pathologies cérébrales. (A) Nouveau-né né à terme avec une hypoxie-ischémie : le flux en fin de diastole est plus élevé que la normale ce qui entraîne une diminution de l'index de résistivité. (B) Nouveau-né avec une pression intracrânienne élevée (on peut voir les ventricules remplis) : le flux en fin de diastole est plus faible que la normale ce qui entraîne une augmentation de la résistivité. (D'après Riedesel et *al.* [4])

Un index de résistivité élevé peut aussi être expliqué par la persistance du canal artériel [7]. Il s'agit d'une pathologie cardiaque qui résulte de l'absence de fermeture du canal artériel (canal entre l'artère pulmonaire et l'aorte) à la naissance. Il en résulte qu'une partie du flux sanguin oxygéné est court-circuité et est envoyé à l'arbre vasculaire

pulmonaire au lieu d'être envoyé au reste du corps. Ceci peut alors entraîner une diminution de la vitesse en fin de diastole.

Une fois encore, même s'il a été démontré que l'indice de résistivité reflète certains aspects de la circulation sanguine cérébrale, sa pertinence pour le suivi de l'état cérébral néonatal n'a pas été clairement établie. Cela peut être dû à plusieurs raisons : 1/ les indices de résistivité sont généralement mesurés à des localisations anatomiques stéréotypées, telles que le segment A3 de l'artère cérébrale antérieure, dont l'anatomie locale et le diamètre du vaisseau peuvent changer d'un individu à l'autre, augmentant les variances intra-groupe, 2/ ces localisations anatomiques de référence peuvent ne pas refléter correctement l'état de résistivité vasculaire en d'autres endroits de la structure vasculaire cérébrale, 3/ la faible sensibilité du Doppler conventionnel empêche la mesure de l'IR dans les petits vaisseaux et en aval de l'arbre vasculaire 4/ la mesure de l'IR n'est effectuée que pendant de courtes périodes espacées dans le temps, car elle doit être réalisée par un opérateur qualifié, ce qui empêche une surveillance fine et durable de l'état vasculaire cérébral.

En résumé, à ce jour, les mesures de résistivité donnent des informations fragmentées de la circulation cérébrale, tant dans l'espace que dans le temps.

2.1.2. L'imagerie Doppler Ultrarapide permet de combiner quantification et imagerie

Comme nous l'avons évoqué dans l'introduction (section 1.3.3) l'imagerie Doppler ultrarapide a une meilleure sensibilité grâce notamment au plus grand nombre d'échantillons temporels pour chaque pixel. Cela permet également de supprimer le dilemme des modes Doppler conventionnels entre l'imagerie (Doppler couleur) et la quantification (Doppler pulsé), en recueillant des **informations temporelles quantitatives sur la vitesse du flux sanguin dans tous les vaisseaux, même les plus petits, simultanément**. Il est alors possible d'étudier la résistivité cérébrovasculaire dans tout le plan d'imagerie avec une seule acquisition comme cela a été montré dans des études précédentes avec la cartographie de l'IR dans le cerveau de nouveau-nés [8](Figure 24), l'évaluation des vitesses du flux sanguin dans les petits vaisseaux des noyaux gris centraux [9] ou le suivi des changements de résistivité du cerveau dans un modèle de réanimation cardiaque [10].

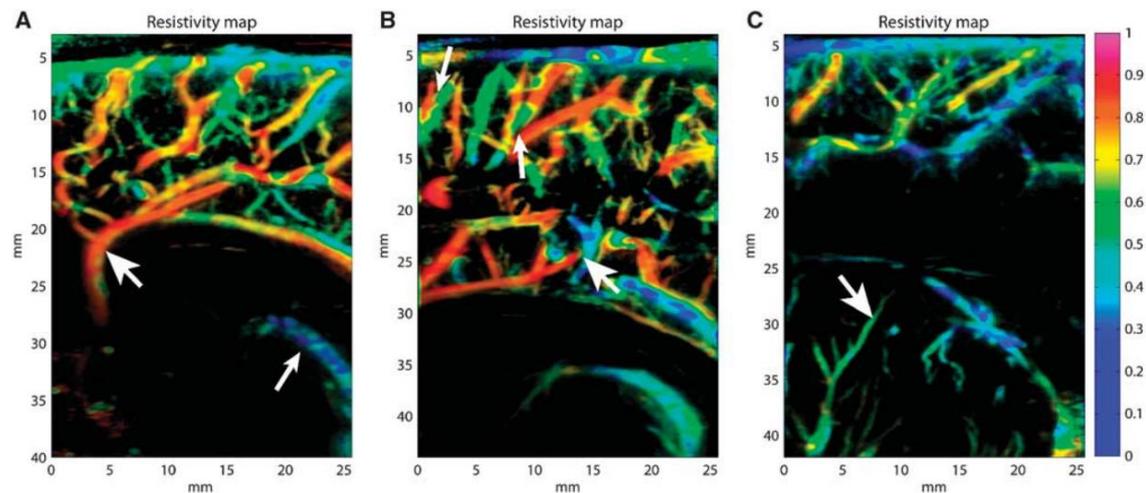


Figure 24. Cartographies de la résistivité cérébrale d'un nouveau-né dans différents plans. (D'après Demené et *al.* [8])

Il a été démontré que des valeurs comparables des paramètres hémodynamiques cérébraux (PSV, EDV, IR) chez les nouveau-nés sont obtenues avec l'imagerie Doppler ultrarapide et l'échographie Doppler conventionnelle [11]. Cependant, ces mesures simultanées de résistivité dans tout le champ de vue sont restées qualitatives.

2.1.3. Objectifs du chapitre

Pour cette étude, réalisée en collaboration avec l'équipe du Pr. Valérie Biran et le Pr Olivier Baud à l'Hôpital Robert Debré à Paris, nous avons donc voulu développer une **méthode d'analyse quantitative de la résistivité cérébrale chez le nouveau-né à la fois non-supervisée, fiable et reproductible** afin de répondre aux questions suivantes : Peut-on définir des biomarqueurs plus pertinents pour suivre l'évolution de la résistivité cérébrale chez le nouveau-né ? Ces biomarqueurs sont-ils capables de prédire l'apparition de lésions de la substance blanche ?

Des modifications des propriétés mécaniques du cerveau sont aussi attendues puisque ces lésions de la substance blanche sont engendrées par des dérèglements cellulaires (mort cellulaire, dysmaturation des oligodendrocytes, anomalie de la myélinisation). Nous avons donc cherché à évaluer également l'apport de l'analyse de la rigidité du cerveau du nouveau-né, mesuré par élastographie par ondes de cisaillement, pour la prédiction d'apparition de ces lésions.

2.2. Méthodes

2.2.1. Inclusion des patients

Un total de 90 nouveau-nés nés à l'Hôpital Robert Debré à Paris a été inclus dans l'étude entre 2015 et 2017 après avoir obtenu le consentement écrit des parents. Il s'agit de 78 nouveau-nés prématurés nés entre 24 et 32 semaines de gestation et de 12 nouveau-nés « contrôle » nés à terme. Pour l'étude de résistivité, les données étaient analysables pour $n = 74$ nouveau-nés prématurés et $n = 10$ nouveau-nés à terme (voir Figure 25 pour plus de détails dans la répartition des âges gestationnels à la naissance).

Le protocole a été approuvé par le comité d'éthique local (Hôpital Robert Debré, Comité de Protection des Personnes #120601, protocole BELUGA, promu par l'INSERM, Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale, Institut Français de la Santé) et est strictement conforme aux principes éthiques de la recherche médicale impliquant des sujets humains de la Déclaration d'Helsinki de l'Association Médicale Mondiale.

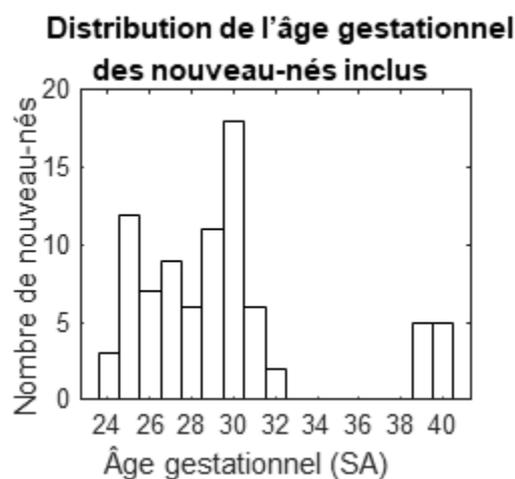


Figure 25. Répartition de l'âge gestationnel (en semaines d'aménorrhée (SA)) à la naissance des nouveau-nés inclus dans l'étude de résistivité

2.2.2. Acquisitions Doppler Ultrarapide

2.2.2.1. Caractéristiques des séquences ultrasonores

Deux séquences échographiques (voir les caractéristiques dans Tableau 1) ont été programmées sur un système échographique Aixplorer (SuperSonic Imagine, Aix-en-Provence, France). La première favorise l'échantillonnage sans repliement du spectre des vitesses élevées (jusqu'à 40 cm/s) via l'utilisation d'une fréquence d'échantillonnage élevée supérieure à deux fois la fréquence maximale des hautes vitesses (3200 Hz). La

seconde favorise la sensibilité aux petits vaisseaux (tels que les artères lenticulostrées) grâce à l'utilisation d'un plus grand nombre (5) d'angles. Le champ de vue est une fenêtre de 25 mm de largeur (utilisant uniquement les 128 éléments centraux de la sonde) et jusqu'à 60 mm de profondeur. La durée d'acquisition pour les deux séquences, bien que courte (<1s), est suffisante pour couvrir 2 à 3 cycles cardiaques. Les puissances acoustiques ont été calibrées et respectent strictement les recommandations de la FDA Track 3 (MI<1.9, ISPTA<720 mW/cm² et ISPPA<190 W/cm²).

| | Séquence ultrasonore haute vitesse | Séquence ultrasonore faible vitesse |
|---|---|--|
| Profondeur (mm) | [4 50] | [2 60] |
| PRF (Hz) | 9600 | 8000 |
| Angle des ondes planes | (-3°, 0, 3°) | (-5°, -3°, -1°, 1°, 3°) |
| Fréquence d'échantillonnage (Hz) | 3200 | 1600 |
| Durée des acquisitions (s) | 0.78 | 1 |
| Nombre d'image "compound" | 2500 | 1600 |
| MI | 0.5 | 0.5 |
| ISPTA (mW/cm²) | 190 | 158 |
| ISPPA (W/cm²) | 62 | 62 |

Tableau 1. Caractéristiques des séquences ultrasonores utilisées

2.2.2.2. Positionnement de la sonde

Les images Doppler ultrarapides (UfD) transfontanellaires ont été acquises au chevet du patient dans les plans sagittal et coronal à l'aide d'une sonde ultrasonore linéaire de 6 MHz (SL10-2 Supersonic Imagine, 192 éléments, pas inter-élément de 0,2 mm). La sonde a été placée manuellement par un opérateur spécialisé sur la fontanelle antérieure en utilisant à la fois l'imagerie B-Mode et des repères vasculaires pour sélectionner les plans souhaités (Figure 26). L'acquisition durant moins de 1 s, la sonde est simplement maintenue manuellement.



Figure 26. Positionnement et maintien de la sonde par un opérateur expérimenté en plan coronal (à gauche) et sagittal (à droite)

2.2.2.3. Protocole d'imagerie Doppler

Pour les nouveau-nés prématurés, l'imagerie UfD a été réalisée aux jours postnatals 3 (J3), 9 (J9), 21 (J21) et à âge équivalent d'une naissance à terme (40 SA). À chaque jour d'imagerie, un total de 4 acquisitions dans des plans différents avec les deux séquences ultrasonores ont été effectuées pour chaque patient (Figure 27).

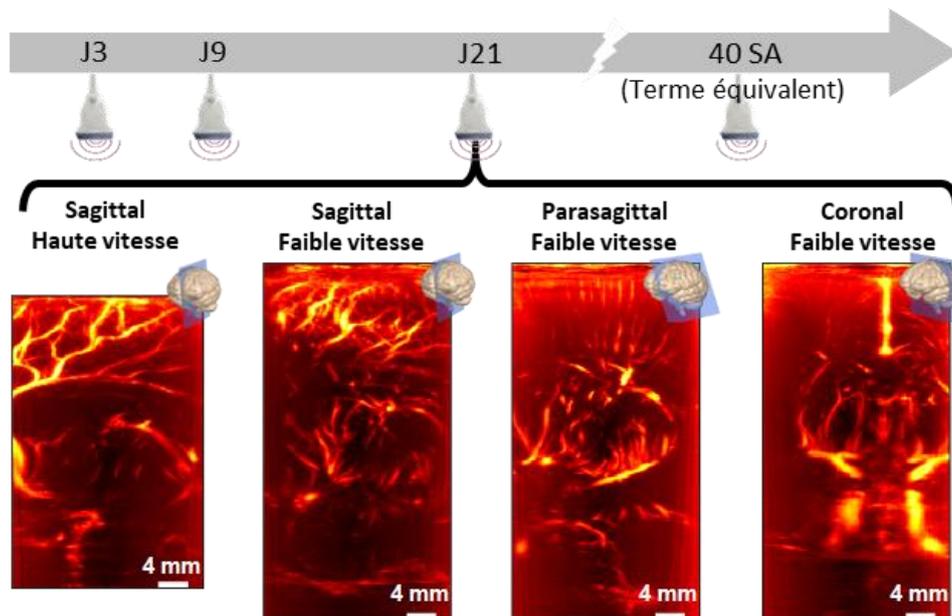


Figure 27. Chronologie des acquisitions pour un patient prématuré : à chaque point temporel (jours postnatals J3, J9, J21 et à 40 semaines équivalent terme (40SA)), 4 plans d'imagerie différents sont imagés par Doppler ultrarapide avec soit une séquence dédiée à l'imagerie des hautes vitesses du flux sanguin (fréquences d'images de 3200 Hz) soit une séquence dédiée aux basses vitesses du flux sanguin (1600 Hz).

Pour les nouveau-nés nés à terme, seule l'imagerie au jour postnatal 3 a été effectuée.

Les données manquantes représentent 14 % de toutes les acquisitions et sont dues soit à une sortie d'hôpital, un transfert ou une impossibilité de mesure due à l'état du patient.

2.2.3. Filtrage SVD semi-automatique

Une fois les images ultrasonores *beamformées*, les données sont filtrées en utilisant un filtrage spatio-temporel par décomposition en valeur singulière (SVD) [12] pour garder uniquement les composantes provenant du sang (section 1.3.3).

De par la variété des plans d'imagerie, du type de séquence et des structures imagées (la profondeur d'imagerie étant fixe, les régions imagées varient en fonction de la taille du cerveau), l'utilisation d'un seuil fixe commun pour toutes les images (445 au total) n'était pas suffisamment satisfaisante. Il a donc été nécessaire de développer une méthode **de seuillage adaptatif**.

Une méthode de seuillage automatique basée sur la **matrice de similarité spatiale** avait été proposée par Baranger et *al.* [13]. La matrice de similarité spatiale s'obtient en calculant la corrélation entre chaque paire de vecteurs singuliers spatiaux de la décomposition SVD. Les coefficients de corrélation sont élevés si les vecteurs sont similaires et faibles s'ils sont différents. Sur la matrice de similarité spatiale, on distingue donc des "blocs de similarité", plus ou moins carrés, correspondants aux différents **sous-espaces des signaux : le tissu, le sang et le bruit** (Figure 28, à gauche). Le premier sous-espace en haut à gauche correspond au tissu (premiers vecteurs singuliers), puis le deuxième au sang et le dernier au bruit. Le principe du seuillage est de trouver les valeurs permettant de **séparer les sous-espaces correctement**.

Un algorithme de détection des seuils cherchant, par itération, les tailles des carrés optimales pour décrire les différents sous-espaces avait été proposé [13], cependant pour certaines acquisitions, les sous-espaces ne sont pas parfaitement carrés et l'algorithme peut avoir des difficultés à converger. De plus, le temps de calcul de cette méthode est assez élevé.

Une méthode basée sur la projection des pixels de la matrice de similarité spatiale sur la diagonale principale a été développée afin d'être adaptée même lorsque les sous-espaces ne sont pas carrés et de diminuer le temps de calcul.

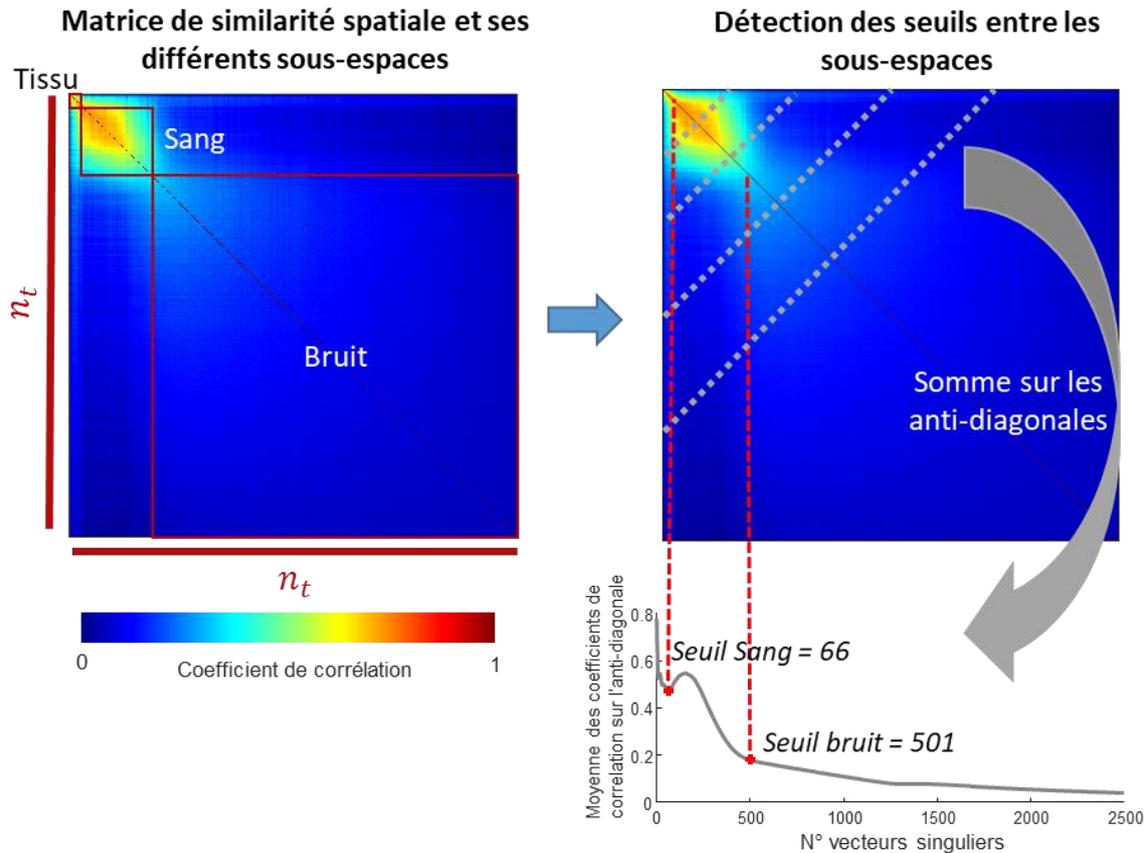


Figure 28. Principe de la méthode de détermination automatique des seuils entre les sous-espaces Tissu/Sang et Sang/Bruit sur la matrice de similarité des vecteurs singuliers spatiaux. On voit sur la matrice de similarité spatiale (à gauche), calculée à partir des corrélations entre les vecteurs singuliers spatiaux de la décomposition SVD, les différents sous-espaces : tissu, sang et bruit. En moyennant les coefficients sur les anti-diagonales (lignes pointillées grises à droite) on obtient la courbe grise en bas sur laquelle on va détecter les valeurs des seuils des sous-espaces (croix rouges).

En traçant la courbe de la moyenne des coefficients des anti-diagonales en fonction des indices de la matrice (Figure 28, courbe grise à droite), on remarque que le premier minimum local correspond à la frontière entre le sous-espace du tissu et du sang et le point d'inflexion qui correspond au seuil Sang/Bruit. On peut alors venir détecter automatiquement les indices correspondants à ce minimum et ce point d'inflexion sur la courbe (Figure 28).

Cette méthode a l'avantage d'obtenir un filtrage vasculaire optimal avec un temps de calcul plus faible que des méthodes précédemment développées.

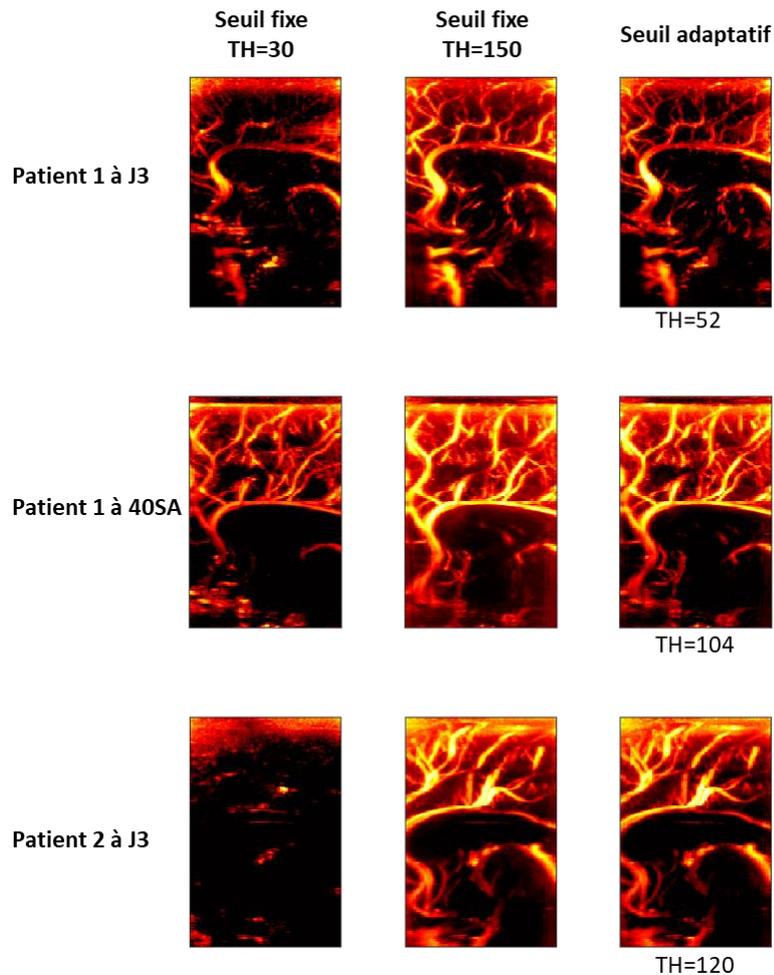


Figure 29. Doppler de puissance obtenus après différents seuillages SVD pour des âges et des patients différents. Le seuil fixe à 30 valeurs propres (1^{ère} colonne) ne filtre pas suffisamment le tissu pour certaines acquisitions. Le seuil fixe à 150 (2^{ème} colonne) permet de voir tous les vaisseaux pour toutes les acquisitions, mais les intensités des vaisseaux sont parfois saturées. On peut remarquer la variabilité due à l'âge pour un même patient (ligne 1 et 2) et la variabilité entre deux patients (ligne 1 et 3). Le filtrage avec seuil adaptatif mis en place permet de filtrer correctement pour les différents cas.

2.2.4. Estimation du diamètre local des vaisseaux

Une fois les images filtrées, un algorithme a été mis en place pour l'estimation du diamètre local des vaisseaux.

2.2.4.1. Principe de l'algorithme

L'algorithme d'estimation du diamètre local peut se décomposer en **quatre étapes** successives représentées sur la Figure 30.

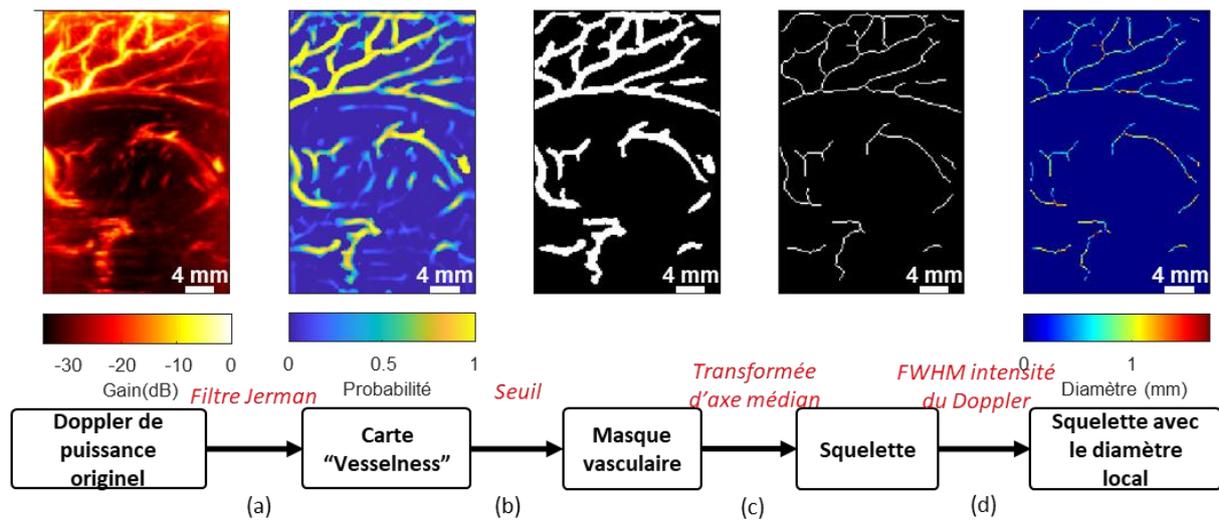


Figure 30. Principales étapes pour l'estimation du diamètre local. (a) Un filtre de rehaussement vasculaire (filtre de Jerman) est utilisé pour obtenir à partir de l'image Doppler PW une carte de probabilité pour un pixel d'appartenir à un vaisseau, appelée carte « vesselness ». (b) Cette carte est ensuite seuillée pour obtenir un masque vasculaire, et (c) son squelette en est extrait en utilisant une méthode basée sur la transformée d'axe médian. (d) Grâce à l'évaluation de la largeur à mi-hauteur de l'intensité du Doppler, on obtient enfin la cartographie du diamètre local pour les points du squelette.

La **première étape** est de calculer, à partir du Doppler de puissance, une carte « vesselness » en utilisant un filtre de rehaussement vasculaire (code MATLAB 'vesselness2D' implémentant le filtre de Tim Jerman [14])(Figure 30(a)). Cet algorithme s'appuie sur l'hypothèse qu'un vaisseau peut être modélisé par un tube de rayon R avec une répartition gaussienne de l'intensité du flux sanguin dans un plan orthogonal au tube. Dans ce modèle, l'intensité maximale du flux sanguin se situe au milieu du vaisseau et son écart-type correspond au rayon (Figure 31).

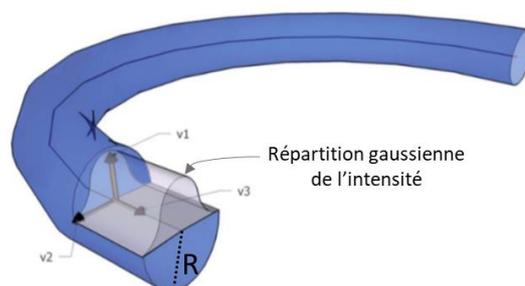


Figure 31. Modèle d'un vaisseau sanguin en 3D, avec une répartition gaussienne de l'intensité du flux sanguin dans un vaisseau. (Adapté d'après la thèse d'Emmanuel Cohen)

Le principe du filtre de rehaussement vasculaire est illustré Figure 32. Un filtre gaussien, d'écart-type σ donné, est appliqué à l'image Doppler. On calcule ensuite la matrice Hessienne H , c'est-à-dire la matrice des dérivées secondes, de l'image filtrée I :

$$(Eq\ 6.)\ H = \begin{pmatrix} H_{x,x} & H_{x,y} \\ H_{x,y} & H_{y,y} \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} \frac{\partial^2 I}{\partial x^2} & \frac{\partial^2 I}{\partial x \partial y} \\ \frac{\partial^2 I}{\partial x \partial y} & \frac{\partial^2 I}{\partial y^2} \end{pmatrix}$$

La matrice H étant définie symétrique, on peut faire une décomposition en éléments propres pour obtenir les deux valeurs propres λ_1 et λ_2 de la matrice H . Chaque filtre de rehaussement vasculaire propose alors une fonction de rehaussement permettant pour un pixel donné de déterminer une probabilité pour le pixel d'appartenir à un vaisseau, à partir des valeurs λ_1 et λ_2 du pixel, respectivement pour les matrices Λ_1 et Λ_2 .

La fonction de rehaussement v proposée par Jerman en 2D [14] pour un pixel est :

$$(Eq\ 7.)\ v = \begin{cases} 0, & \text{si } \lambda_2 \leq 0 \text{ ou } \lambda_p \leq 0 \\ 1, & \text{si } \lambda_2 \geq \lambda_p/2 > 0 \\ \lambda_2^2(\lambda_p - \lambda_2) \left[\frac{3}{\lambda_2 + \lambda_p} \right]^3, & \text{sinon} \end{cases}$$

$$(Eq\ 8.)\ \text{Avec } \lambda_p = \begin{cases} \lambda_2, & \text{si } \lambda_2 > \tau \max(\lambda_2) \\ \tau \max(\lambda_2), & \text{si } 0 < \lambda_2 \leq \tau \max(\lambda_2) \\ 0, & \text{sinon} \end{cases}$$

Cette fonction permet alors d'obtenir une **carte « vesselness »** pour le paramètre σ donné, c'est-à-dire une **carte de la probabilité pour chaque pixel d'appartenir à un vaisseau** dont l'écart-type de l'intensité du flux sanguin est égal à σ .

Ce principe est répété pour différents écarts-types σ afin de révéler des vaisseaux de différents diamètres. Il faut ensuite, pour chaque pixel, sélectionner la probabilité maximale parmi les différentes cartes « vesselness » afin de former la carte « vesselness » globale.

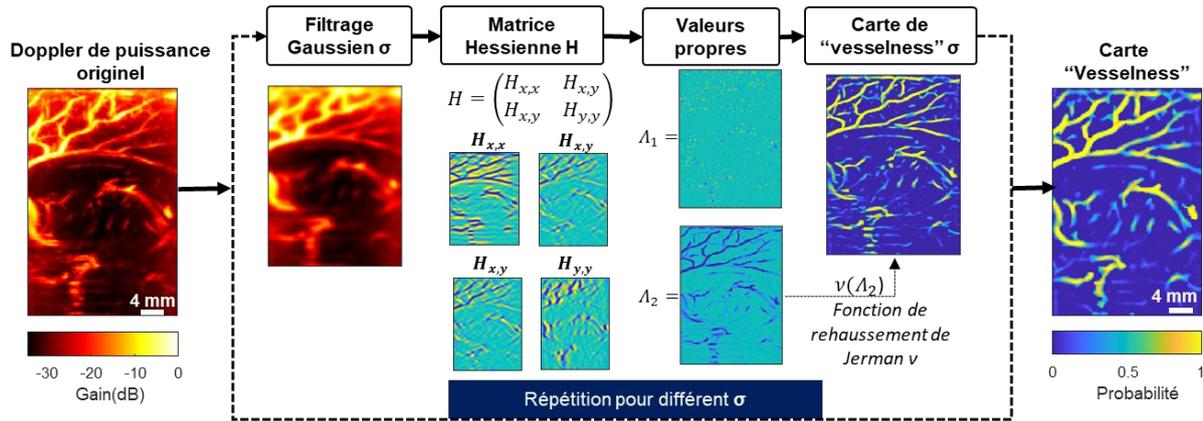


Figure 32. Illustration de l'implémentation du filtre de Jerman pour obtenir, à partir de l'image Doppler, une carte « vesselness » correspondant à la probabilité pour chaque pixel d'appartenir à un vaisseau sanguin.

Au final, cette carte représente la probabilité pour chaque pixel d'appartenir à un vaisseau.

La **deuxième étape** revient simplement à seuiller la carte « vesselness » globale pour obtenir un **masque binaire** de la vascularisation (Figure 30(b)). Le seuil est fixé à 0.3 pour ne garder que les pixels dont la probabilité d'appartenir à un vaisseau est supérieure à 0.3.

La **troisième étape** est d'obtenir le **squelette topologique** du masque binaire, c'est-à-dire une unique ligne centrée dans la forme du masque. Plus précisément, le squelette se définit comme l'ensemble des points qui correspondent au centre d'un cercle inscrit touchant plus d'une fois la bordure et dont le rayon est maximal. Pour cela on utilise la fonction MATLAB 'bwskel', dont l'algorithme repose sur une transformée d'axe médian (Figure 30(c)).

La **quatrième étape** consiste à estimer le diamètre local à partir de la largeur à mi-hauteur de l'intensité de l'image Doppler, et ce, pour chacun des pixels du squelette (Figure 30(d)), dont les étapes sont illustrées Figure 33. Il faut d'abord calculer, pour chaque point du squelette, le vecteur d'orientation local défini comme le vecteur entre ses deux points adjacents sur le squelette. On évalue ensuite l'angle local θ qu'il forme avec un vecteur vertical en calculant leur produit scalaire. Cet angle θ est ensuite utilisé pour faire pivoter un voisinage carré de pixels de dimension 11×11 de l'image Doppler, centré sur le pixel du squelette, afin de positionner le vaisseau verticalement. Cette rotation de l'image est un moyen d'effectuer efficacement l'interpolation transversale. D'après notre hypothèse de répartition gaussienne de l'intensité du flux sanguin dans le

vaisseau, si l'on trace l'intensité de la ligne médiane orthogonale au vaisseau, on obtient un pic au milieu du vaisseau. Pour déterminer le diamètre, il reste à **évaluer la largeur à mi-hauteur de ce pic** (Figure 33, à droite) en utilisant la fonction MATLAB 'findpeaks'. Cette fonction calcule la largeur du pic comme la distance entre les points d'intersection du signal avec une ligne de référence horizontale dont la hauteur est fixée à la moitié de la proéminence du pic. Les valeurs des coordonnées des points d'intersection sont calculées par interpolation linéaire.

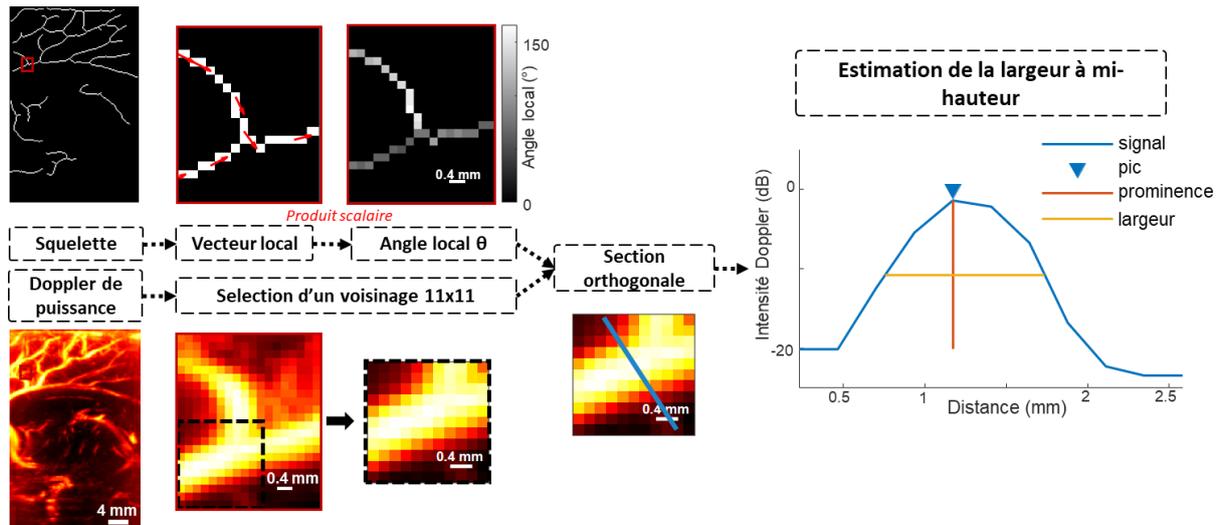


Figure 33. Détail de l'implémentation de l'estimation du diamètre par la méthode de la largeur à mi-hauteur. En haut à gauche : l'orientation locale du vaisseau par rapport à la verticale est déterminée pour chaque pixel du squelette. En bas à gauche : sélection d'un voisinage de pixels de dimension 11×11 du Doppler de puissance centré autour d'un pixel sélectionné sur le squelette. À droite : la courbe bleue correspond au signal des intensités des pixels du Doppler de puissance de la section transversale au vaisseau. Le diamètre est estimé par la largeur maximale à mi-hauteur (en jaune) de la proéminence du pic (en orange).

2.2.4.2. Validation de la méthode sur un fantôme de flux

Bien qu'il soit difficile de **valider notre estimation des diamètres** par rapport aux valeurs réelles des vaisseaux cérébraux chez le nouveau-né, nous avons testé notre méthode sur des fantômes de flux. Chaque fantôme était constitué d'un réservoir d'eau traversé par un tube de diamètre défini (0.46 mm, 0.86 mm ou 1.6 mm) à travers duquel une solution Doppler (Doppler test fluid, ATS Laboratories) était injectée manuellement (Figure 34). La sonde était placée dans l'eau au-dessus du tube et les mêmes séquences ultrasonores que dans le protocole ont été utilisées.

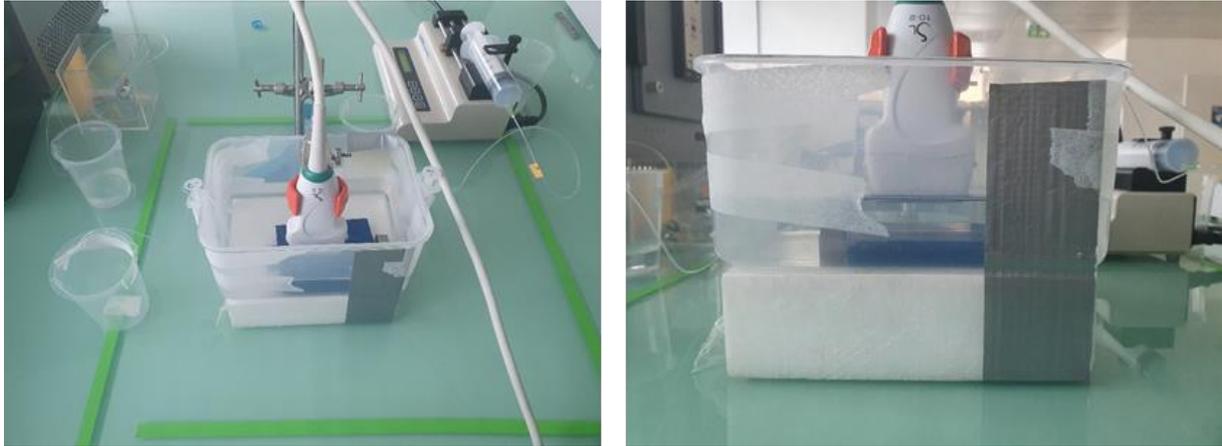


Figure 34. Mise en place de l'expérimentation sur fantôme de flux. La sonde est plongée dans l'eau au-dessus d'un tube dans lequel est injectée une solution manuellement via une seringue.

Les mêmes étapes ont été utilisées (Figure 35(a-c)) et l'algorithme a trouvé des valeurs cohérentes pour les différents diamètres. L'estimation moyenne du diamètre des pixels du squelette était de $d = 0.75 \pm 0.19$ mm pour une valeur réelle de 0.86 mm, $d = 1.34 \pm 0.11$ mm pour une valeur réelle de 1.60 mm et $d = 0.52 \pm 0.28$ mm pour une valeur réelle de 0.46 mm. Les valeurs moyennes sont toutes significativement différentes (analyse ANOVA $p < 0.001$) (Figure 35(d)), l'algorithme est donc capable d'évaluer correctement les diamètres et de différencier des tailles différentes.

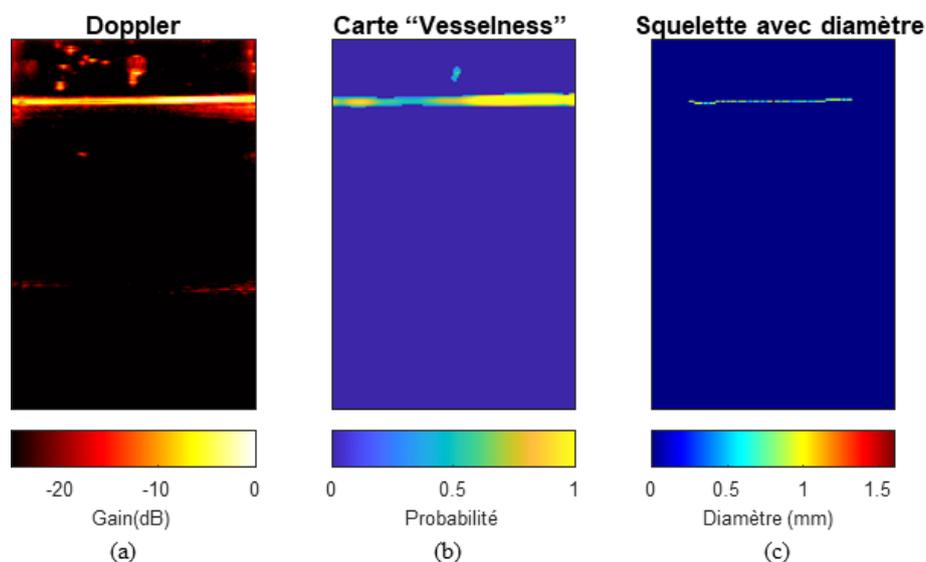


Figure 35. Validation de l'estimation du diamètre sur un fantôme de flux de diamètre 0.86 mm (a) Image Doppler de puissance d'un flux dans un tube de 0.86 mm (b) Carte « vesselness » à partir de l'image Doppler. (c) Squelette avec diamètre estimé.

2.2.5. Analyse spectrale de l'UfD pour le calcul de l'index local de résistivité

Nous savons que le contenu spectral des données ultrasonores UfD après filtrage SVD est directement influencé par la vitesse des diffuseurs locaux, étant donné que la **fréquence Doppler $f_{Doppler}$ est directement liée à la vitesse V des globules rouges en mouvement** selon

$$(Eq\ 9.)\ V = \frac{f_{Doppler} c_0}{2 f_{Pulse} \cos(\theta)}$$

où c_0 est la vitesse du son dans le milieu, f_{Pulse} la fréquence de la sonde et θ l'angle entre le vecteur d'onde de l'onde ultrasonore reçue par le diffuseur en mouvement et le vecteur de vitesse de ce dernier. Il faut souligner que l'étendue de ce spectre est influencée non seulement par la distribution des vitesses des nombreux globules rouges en mouvement dans le voxel, mais aussi par la diversité des vecteurs d'ondes ultrasonores (due à la combinaison d'ondes planes) et par la diversité des angles de réception (formation de faisceau avec une grande ouverture). À partir du spectrogramme du signal d'un pixel (c'est-à-dire la cartographie de l'intensité des fréquences présentes dans le temps), la fréquence Doppler moyenne peut être estimée comme dans l'étude de Demené et *al.* [8], et la vitesse moyenne du flux sanguin calculée en utilisant (Eq 9.)

Pour obtenir le **spectrogramme d'un pixel** au cours d'un cycle cardiaque, on calcule une transformée de Fourier des données ultrasonores filtrées sur des fenêtres glissantes de 40 ms (avec 37 ms de chevauchement) dans chaque pixel. Le spectrogramme est donné par le module de cette transformée de Fourier à fenêtre glissante (Figure 36 (c)).

On peut alors **estimer la vitesse moyenne du flux sanguin** au cours du temps sur un ou plusieurs cycles cardiaques (Figure 36 (d)) et en extraire PSV et EDV pour calculer l'IR (Figure 36 (e)) en utilisant (Eq 5.). Le ratio entre les deux vitesses permet de rendre la mesure indépendante de l'angle en éliminant le $\cos(\theta)$ provenant de la conversion de la fréquence en vitesse (Eq 9.) L'UfD permettant de calculer ces valeurs simultanément pour chaque pixel du champ de vue, et à fortiori tous les pixels du squelette, il est possible d'obtenir une cartographie de la résistivité le long d'un arbre vasculaire (Figure 36 (f)).

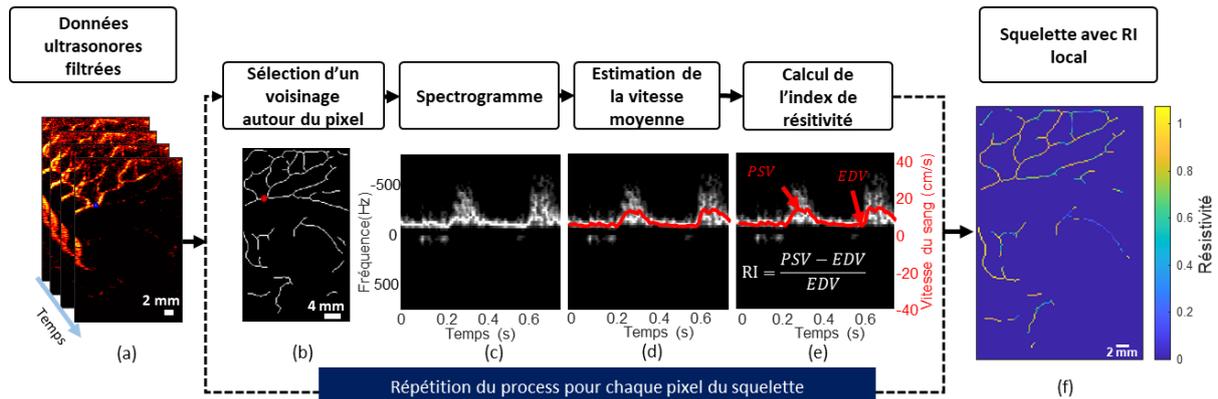


Figure 36. Pipeline de traitement pour calculer la résistivité locale le long de l'arbre vasculaire. (a) Ensemble de données ultrasonores UfD après filtrage SVD. (b) Sélection d'un voisinage carré de dimension 5×5 autour d'un pixel d'intérêt (c) Spectrogramme moyenné sur le voisinage précédemment sélectionné. Un spectrogramme est obtenu pour chaque pixel en combinant le spectre de puissance de la transformée de Fourier sur plusieurs fenêtres temporelles glissantes, puis en faisant la moyenne (en magnitude) des spectrogrammes. (d) Estimation de la fréquence Doppler moyenne (ligne rouge) qui est proportionnelle à la vitesse du sang. (e) Calcul de l'indice de résistivité (IR) basé sur le flux sanguin systolique maximal (PSV) et le flux sanguin minimal en fin de diastole (EDV). (f) Squelette de l'arbre vasculaire montrant une cartographie de la résistivité locale en chaque point.

Afin de réduire la sensibilité au bruit dans la détermination des valeurs de PSV et EDV pour un pixel donné, plusieurs étapes ont été appliquées. Tout d'abord, le spectrogramme, à partir duquel est calculée la fréquence Doppler moyenne, résulte de la moyenne des spectrogrammes sur un voisinage de 5 pixels autour du point d'intérêt (Figure 36(b)). Ensuite, les pixels de ce spectrogramme moyen dont l'intensité était inférieure à 10 % de l'intensité maximale, et donc très probablement due à du bruit, ont été mis à zéro. Enfin, pour chaque acquisition, un spectrogramme moyen a d'abord été calculé sur l'ensemble de l'image pour déterminer les points de temps moyens de la PSV et de l'EDV. La détermination des PSV et EDV pour chaque pixel du squelette a alors été restreinte au sein d'une fenêtre temporelle de 12.5 ms, centrée sur leurs points de temps moyens respectifs.

2.2.6. Différenciation des flux artériels et veineux

À ce stade de l'analyse, l'index de résistivité a été calculé dans tous les vaisseaux du champ de vue sans discrimination entre veines et artères. Or, dans les veines le flux n'est pas pulsatile et l'IR y est donc généralement plus faible que dans les artères et très sensible au bruit. C'est pourquoi nous avons voulu **conserver uniquement l'IR calculé dans les artères**.

Deux régions d'intérêts (ROI « *region of interest* ») ont été étudiées : une incluant les branches de l'artère cérébrale antérieure (ROI des branches de l'ACA) et une incluant les artères thalamiques (ROI thalamique). La ROI des branches de l'ACA est sélectionnée sur des acquisitions UfD avec une séquence ultrasonore pour les hautes vitesses de flux et la ROI thalamique sur des acquisitions UfD avec une séquence ultrasonore pour les basses vitesses de flux (Tableau 1). En regardant l'histogramme des valeurs d'IR de toutes les acquisitions de tous les patients pour chaque ROI, nous pouvons distinguer **deux répartitions gaussiennes avec des moyennes différentes** (Figure 37). Nous avons fixé le **seuil pour séparer les veines des artères** à l'intersection des 2 gaussiennes trouvées en appliquant un modèle de mélange gaussien (GMM) à 2 composantes à l'histogramme. Cela donne un seuil de 0.357 pour les branches de l'ACA et de 0.225 pour les vaisseaux thalamiques.

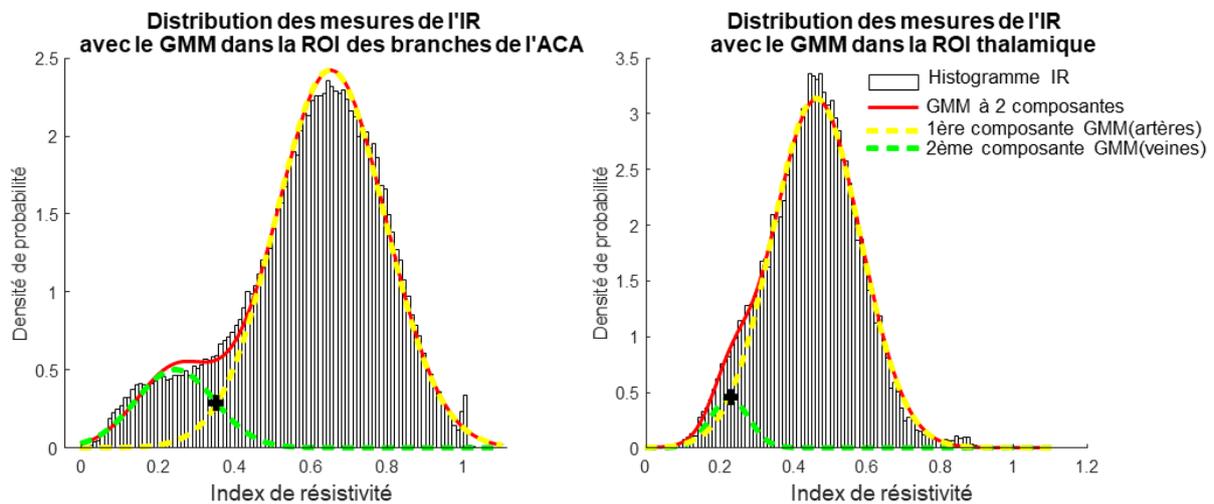


Figure 37. Distribution des valeurs de résistivité pour toutes les acquisitions de tous les patients pour la région des branches de l'ACA (gauche) et la région thalamique (droite). La ligne rouge représente le modèle mixte gaussien à 2 composantes. Les lignes pointillées représentent chacune des composantes du modèle : en jaune, la répartition gaussienne des valeurs de résistivité des artères, en vert celle des veines. Pour chaque ROI, la croix noire correspond à l'intersection entre les deux composantes du modèle mixte gaussien et donc au seuil choisi pour séparer artères et veines.

2.2.7. Analyse de la résistivité en fonction du diamètre des vaisseaux

Pour une acquisition UfD donnée, en combinant les informations du diamètre local et de la résistivité locale pour chaque pixel du squelette, il est possible de réaliser une cartographie de ces deux mesures pour les deux régions étudiées (Figure 38).

En vue de passer à une analyse quantitative, nous pouvons représenter tous les points de mesures de résistivité en fonction du diamètre pour une acquisition, puis modéliser cette

évolution par un modèle linéaire. Le modèle de régression linéaire permet de décrire le comportement global de l'évolution de la résistivité en fonction du diamètre pour un individu. Une régression linéaire entre la résistivité et le diamètre a donc été réalisée, pour les vaisseaux des branches de l'ACA et du thalamus pour chaque patient et pour chaque jour d'acquisition du protocole (J3, J9, J21, 40SA), avec la fonction MATLAB 'polyfit' qui repose sur la méthode des moindres carrés.

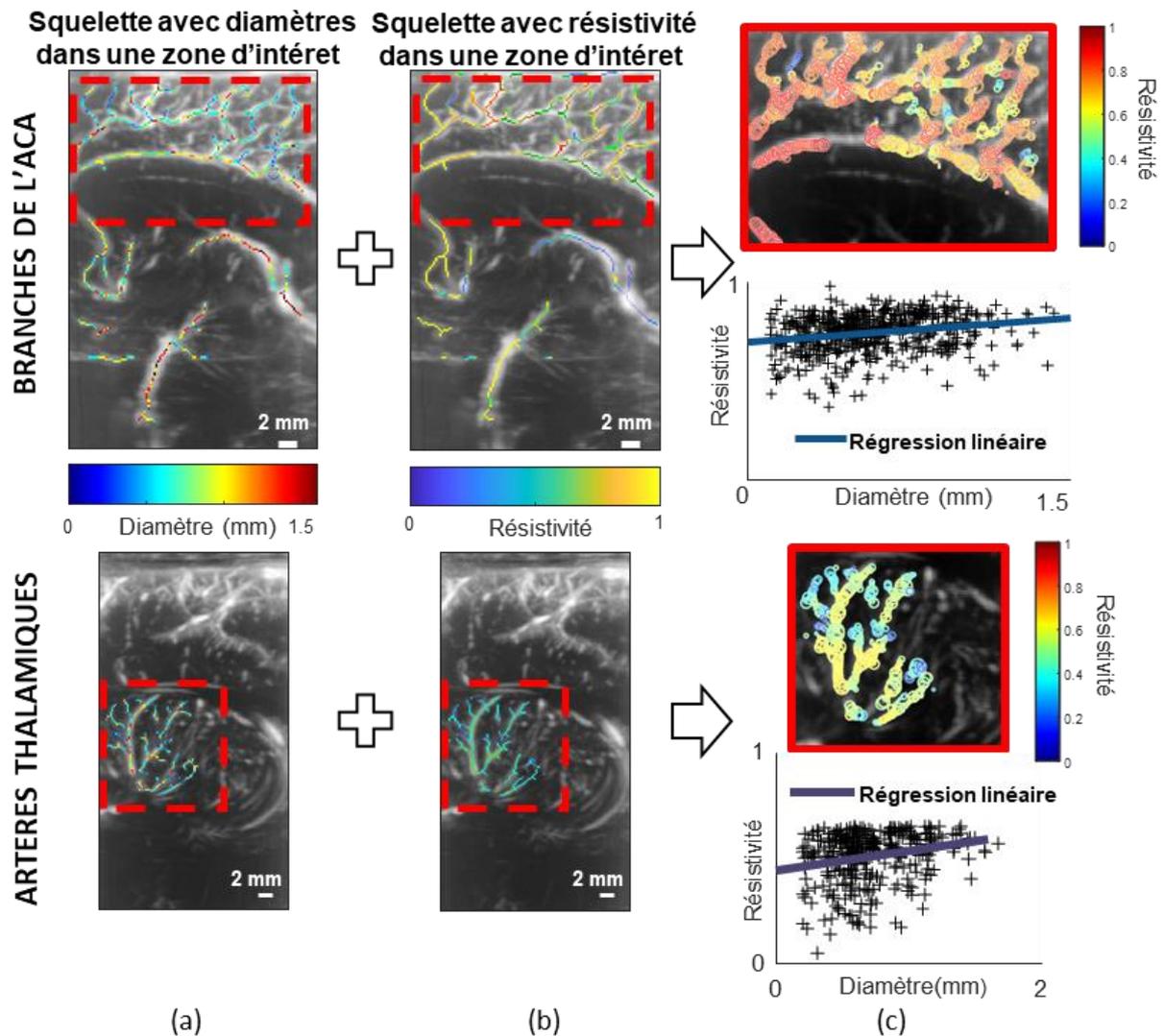


Figure 38. Analyse de la résistivité en fonction du diamètre dans les deux ROIs. (Haut) Exemple pour la zone des branches de l'ACA. (Bas) Exemple pour la zone thalamique. (a) Image Doppler en niveau de gris avec le diamètre local superposé. (b) Image Doppler en niveau de gris avec la résistivité locale superposée. (c) Zoom sur les zones d'intérêts (carré rouge) et cartographie de la résistivité et du diamètre (les cercles sont proportionnels aux diamètres des vaisseaux et les couleurs représentent la résistivité en se basant sur le code couleur donné). On peut tracer l'ensemble des points, avant de faire une régression linéaire.

Sur la base de cette régression linéaire, nous allons nous concentrer sur **deux paramètres d'intérêt** :

- le premier est la **pen**te de la **régression linéaire** qui reflète l'évolution de la résistivité le long de l'arbre vasculaire
- le second est la valeur de ce modèle linéaire pour un diamètre de 0.2 mm

Notre limite de résolution spatiale étant de 0.2 mm, nous considérons la valeur de la régression pour un diamètre de 0.2 mm comme la valeur limite moyenne de l'IR dans les plus petits vaisseaux, et nous l'appelons "IR dans les petits vaisseaux".

Ensuite, nous pouvons effectuer la moyenne des régressions linéaires de chaque groupe formé en fonction de l'âge gestationnel (prématurés/à terme), du jour d'acquisition postnatal (J3/J9/J21/40SA) et des ROIs (branches de l'ACA/thalamus). Pour chaque groupe, la régression linéaire moyenne \bar{y} est définie par :

$$(Eq\ 10.)\ \bar{y} = \bar{m}x + \bar{c}$$

Avec \bar{m} la moyenne des pentes du groupe, \bar{c} la moyenne des ordonnées à l'origine du groupe et x toutes les valeurs de diamètres estimées. L'intervalle de confiance à 95 % peut alors être estimé avec la formule

$$(Eq\ 11.)\ CI = \bar{y} \pm 1.96\sigma_y \times \sqrt{\frac{\frac{1}{n} + (x - \bar{x})^2}{\sum(x_i - \bar{x})^2}}$$

Avec σ_y la déviation standard des valeurs de la régression linéaire à l'abscisse \bar{x} (moyenne de x) et n le nombre de régressions linéaires (c'est-à-dire le nombre de patients dans le groupe).

2.2.8. Acquisitions d'élastographie par onde de cisaillement

Des mesures **d'élastographie par onde de cisaillement** ont également été réalisées aux mêmes jours postnatals (J3, J9, J21 et 40SA) que l'UFD pour tous les patients ($n = 90$). Il s'agit d'une modalité d'imagerie ultrasonore permettant d'évaluer la **rigidité des tissus, via l'estimation du module d'élasticité E (ou module d'Young)** à partir de la mesure de la vitesse de propagation d'ondes de cisaillement (cf section 1.3.2) [15]. Les mesures ont été réalisées avec l'échographe Aixplorer et la sonde SL 10-2 comme pour les acquisitions de Doppler ultrarapide (cf section 2.2.2.1) mais avec la séquence standard d'élastographie pré-réglée sur la machine échographique. Elles ont été réalisées

dans les substances blanches frontale et pariétale et dans le thalamus dans chaque hémisphère ainsi que dans le corps calleux en plan sagittal et en plan coronal.



Figure 39. Mesures d'élastographie réalisées dans la substance blanche frontale (à gauche) et pariétale (à droite) sur un patient à J3. Les valeurs de la Q-box (zone carrée sélectionnée) affichées à droite correspondent à la mesure pariétale.

Pour chaque région d'intérêt, 3 mesures successives ont été réalisées et la moyenne de ces 3 mesures a été utilisée pour les analyses. Nous nous intéresserons particulièrement aux mesures de la substance blanche frontale et du thalamus pour comparaison avec les mesures de résistivité dans nos zones d'intérêt.

2.2.9. Détermination des nouveau-nés pathologiques à partir de l'IRM à l'âge équivalent au terme

Dans le cadre des soins néonataux, tous les prématurés dont l'âge gestationnel est inférieur à 28SA à la naissance ont subi un examen IRM à l'âge équivalent au terme. Les prématurés dont l'âge gestationnel est supérieur à 28SA ont également pu subir un examen IRM en fonction de besoins spécifiques. Au total, **un sous-groupe de n = 25 nouveau-nés de la cohorte a réalisé une IRM**. Tous les examens ont été réalisés sur un système médical 1,5 T avec antenne radiofréquence cérébrale standard, sans sédation, pendant la période post-allaitement. Les séquences suivantes ont été utilisées :

- une séquence d'écho de spin ultra-rapide axiale et sagittale pondérée en T2 (TR/TE 16900/100 ms, NEX 1, matrice 256×196 , champ de vision 230×194 mm, épaisseur de coupe 3 mm),
- une séquence d'écho de spin rapide axiale pondérée en T2 (TR 3000 ms, TE 8.8/110 ms, matrice 256×256 , champ de vision 230×172 mm, épaisseur de coupe 4 mm, espacement 1 mm),

- une séquence d'écho de spin rapide coronal pondérée en T2 (TR 4765 ms, TE 100 ms, matrice 256×152 , champ de vision 200×159 mm, épaisseur de la coupe 2 mm, pas d'espace),
- une séquence d'écho de spin rapide axiale et sagittale pondérée en T1 (TR/TE 560/12 ms, matrice 212×117 , champ de vision 190×132 mm, épaisseur de la coupe 3 mm, espacement 0.3 mm),
- une séquence rapide d'écho de gradient axiale T2 (TR 2190 ms, TE 44 ms, matrice 212×139 , champ de vision 190×170 mm, épaisseur de coupe 4 mm, espacement 1 mm).

Sur la base des anomalies de la morphologie, du volume ou du signal, les images IRM des nouveau-nés prématurés ont été **définies comme pathologiques ou normales**. Ces anomalies étaient situées dans la substance blanche frontale ou pariéto-occipitale dans l'hémisphère gauche ou droit.

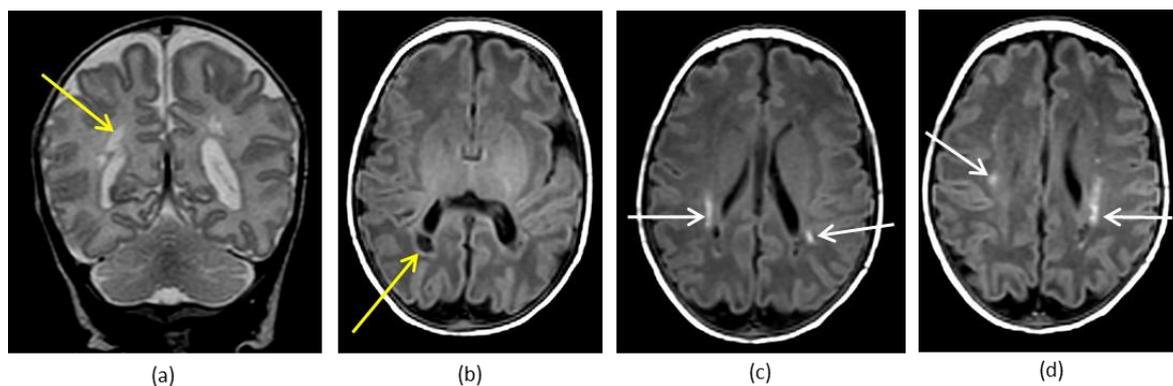


Figure 40. Anomalies du signal de la substance blanche détectées à 40 SA sur les images IRM d'un patient. (a) Séquence coronale T2. (b, c, d) Séquences axiales T1. Les flèches jaunes indiquent des lésions kystiques de la substance blanche péri-ventriculaire. Les flèches blanches indiquent des hypersignaux T1 linéaires et punctiformes de la substance blanche péri-ventriculaire.

2.2.10. Évaluation de la performance d'une classification des nouveau-nés pathologiques

Pour évaluer la performance d'une classification des nouveau-nés pathologiques basée sur la valeur d'un biomarqueur, il faut comparer les patients correctement classés (vrais positifs et vrais négatifs) et ceux incorrectement classés (faux négatifs et faux positifs).

| | Pathologique | Non-pathologique |
|-------------------------|-------------------|-------------------|
| Classification positive | Vrai positif (VP) | Faux positif (FP) |
| Classification négative | Faux négatif (FN) | Vrai négatif (VN) |

On définit alors la **sensibilité** $Se = \frac{VP}{VP+FN}$ la probabilité que la classification soit positive si le patient est pathologique et la **spécificité** $Sp = \frac{VN}{VN+FP}$, la probabilité que la classification soit négative chez les patients non-pathologiques.

La génération d'une **courbe ROC** (« *receiver operating characteristic* ») qui décrit les taux de vrais positifs et de faux positifs pour différentes valeurs seuils du biomarqueur permet d'évaluer la performance d'une classification, notamment par la valeur de l'**aire sous la courbe** (AUC). Plus l'AUC est proche de 1, plus le biomarqueur est informatif. À l'inverse, une AUC proche de 0.5 indique un modèle non-informatif où le biomarqueur classifie de manière aléatoire les individus.

Afin de déterminer le seuil optimal du biomarqueur pour classifier les deux groupes, nous avons choisi l'indice de Youden comme meilleur critère de délimitation. L'indice de Youden se calcule :

$$(Eq\ 12.)\ Y = Se + Sp - 1$$

Plus l'indice est proche de 1, meilleure est la classification.

2.3. Résultats

2.3.1. La résistivité augmente avec le diamètre au sein d'un arbre vasculaire

Les régressions linéaires de la résistivité en fonction du diamètre des vaisseaux pour chaque patient et chaque jour d'acquisition sont représentées dans la Figure 41, à la fois pour la ROI des branches de l'ACA et la ROI thalamique. La première observation que nous pouvons faire sur ces régressions est que pour la plupart des patients, la pente est positive, c'est-à-dire que la résistivité augmente avec le diamètre du vaisseau. En moyenne, la pente de la résistivité en fonction du diamètre est de $0.074 \pm 0.056\ mm^{-1}$ pour la ROI des branches de l'ACA (significativement >0 , $p < 0.001$). C'est également le cas dans les artères thalamiques avec une valeur moyenne des pentes à $0.033 \pm 0.062\ mm^{-1}$ (significativement >0 , $p < 0.001$). Il a été précédemment décrit dans la littérature que la résistivité était plus élevée dans les "gros" vaisseaux que dans les "petits" vaisseaux [7]. Cependant, avec l'échographie conventionnelle, aucune quantification du diamètre n'était possible, et cette hypothèse était faite en se basant sur des a priori anatomiques, en comparant des artères appartenant à des arbres vasculaires différents

(par exemple, les artères thalamiques sont considérées comme plus petites que l'artère cérébrale antérieure et ayant une résistivité plus faible).

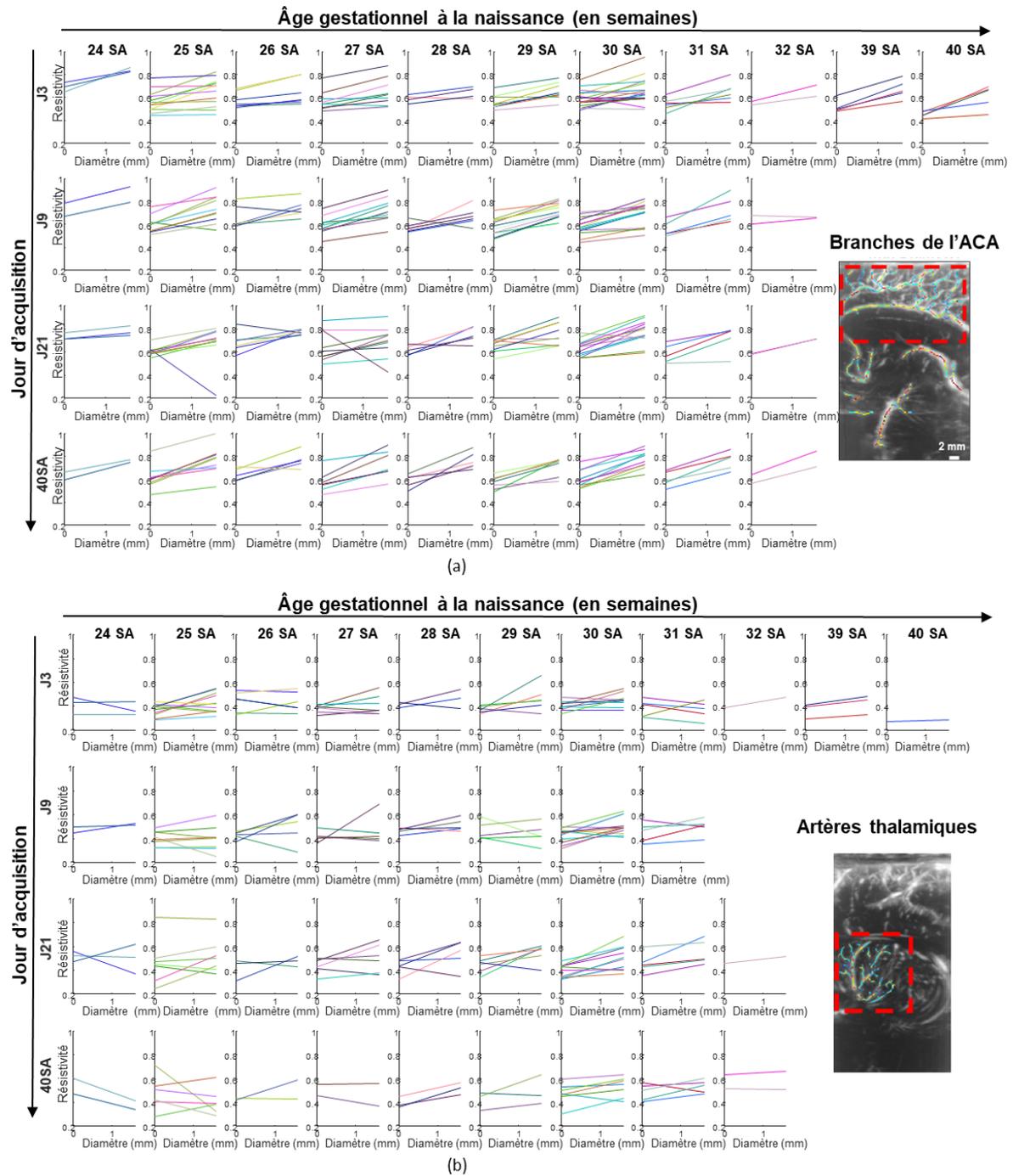


Figure 41. Régressions linéaires de la résistivité en fonction du diamètre pour tous les patients, groupées par âge gestationnel et jour d'acquisition dans (a) les branches de l'artère cérébrale antérieure (ACA) et (b) les branches thalamiques. Chaque patient est représenté par une couleur spécifique.

2.3.2. La résistivité est plus grande chez les bébés prématurés que ceux nés à terme

La comparaison de la résistivité moyenne dans les petits vaisseaux de la ROI des branches de l'ACA, entre les nouveau-nés prématurés et les nouveau-nés à terme, a été effectuée à chaque temps d'acquisition en utilisant une analyse ANOVA.

Nous constatons que dès J3 la résistivité moyenne dans les petits vaisseaux des nouveau-nés prématurés (0.59 ± 0.08) est plus élevée que celle des nouveau-nés à terme (0.50 ± 0.06 , $p < 0.05$) et reste plus élevée à J9, J21, et 40SA ($p < 0.001$) (Figure 42 (a), (significativité représentée par les étoiles vertes)). Cette différence de résistivité entre le nouveau-né prématuré et le nouveau-né à terme est visible tôt dans le développement. À l'inverse, la mesure clinique classique dans l'ACA, à côté du genou du corps calleux, montre une résistivité significativement plus élevée seulement à partir de J21 chez les nouveau-nés prématurés (0.77 ± 0.10) par rapport aux nouveau-nés à terme (0.62 ± 0.10 , $p < 0.01$) (Figure 42 (b)). Cela peut être dû à une variance plus élevée de la mesure dans ce cas, car l'influence du diamètre du vaisseau sur la résistivité n'est pas prise en compte.

2.3.3. La résistivité augmente avec l'âge postnatal

Chez les nouveau-nés prématurés, la résistivité moyenne dans les petits vaisseaux de la ROI des branches de l'ACA montre une tendance à l'augmentation avec l'âge postnatal jusqu'à J21 (Figure 42(a), (significativité montrée par les étoiles grises)). À J21, la résistivité est de 0.65 ± 0.08 et est plus élevée qu'à J9 (0.61 ± 0.08 , $p < 0.05$) et J3 (0.59 ± 0.07 , $p < 0.001$). Après J21, la résistivité semble légèrement diminuer (non-significatif, $p = 0.077$). Il faut souligner qu'au point de mesure 40SA, les nouveau-nés prématurés, nés entre 24 et 32 SA, ont donc un âge postnatal différent, ce qui augmente probablement la variance de cette mesure.

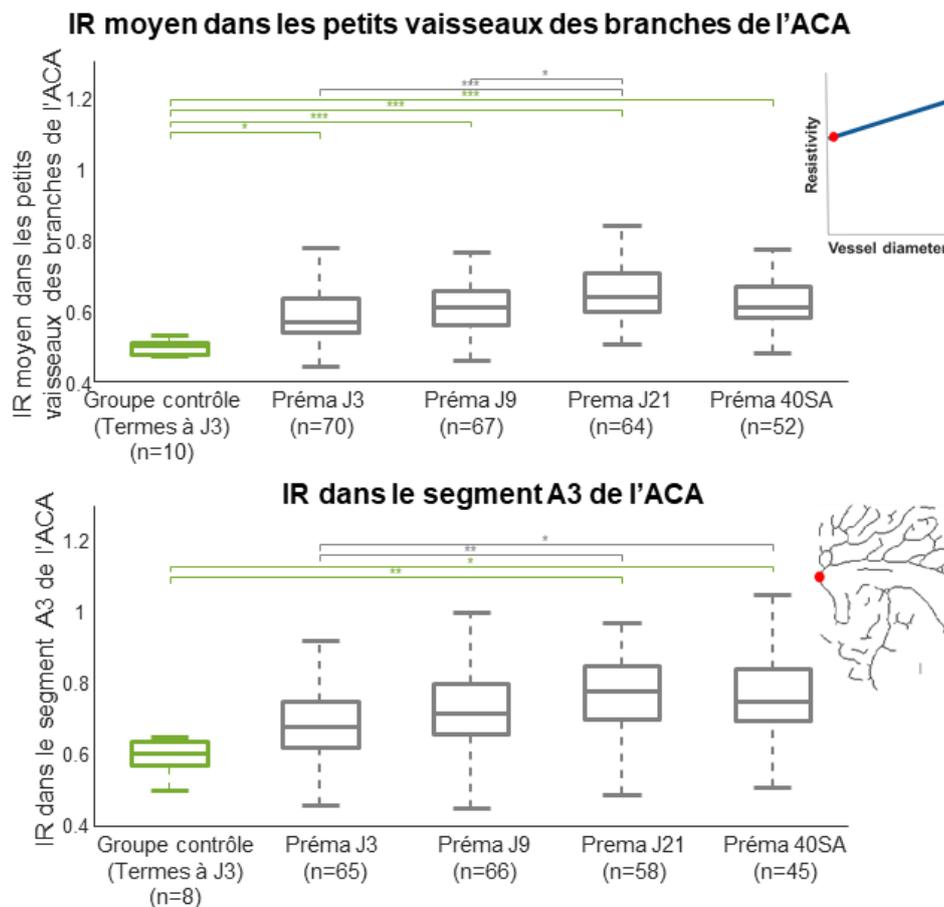


Figure 42. Comparaison de la résistivité chez les nouveau-nés à terme et prématurés en fonction des jours postnatals dans les petits vaisseaux et dans les segments A3 de l'artère cérébrale antérieure (ACA). (a) Résistivité dans les petits vaisseaux dans les branches de l'ACA évaluée par la valeur de régression pour un diamètre de 0.2 mm, (point rouge sur la régression linéaire) groupée par jour d'acquisition et groupe terme/prématuré. (b) Résistivité mesurée dans le segment A3 de l'ACA (à côté du genou du corps calleux) groupée par jour d'acquisition et groupe terme/prématuré. Une analyse ANOVA a été réalisée suivie d'une correction pour comparaison multiple en utilisant le test post-hoc HSD de Tukey (* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$).

2.3.4. La pente de la résistivité en fonction du diamètre diffère chez les nouveau-nés prématurés à la naissance et semble se normaliser avec le temps

Dans la ROI des branches de l'ACA, les pentes de la régression de la résistivité en fonction du diamètre sont plus faibles chez les nouveau-nés prématurés que chez les nouveau-nés à terme à J3 (ANOVA, $p < 0.05$), comme on peut le voir sur la Figure 43. Chez les prématurés, les pentes augmentent avec l'âge postnatal pour atteindre, à l'âge équivalent au terme (40 SA), presque la même valeur de pente que le groupe contrôle des nouveau-nés à terme. Globalement, l'évolution de la résistivité le long de l'arbre

vasculaire semble être différente, juste après la naissance, pour les nouveau-nés prématurés en raison d'une résistivité plus élevée dans les petits vaisseaux, comme nous l'avons vu précédemment. Cet effet est masqué lorsque l'on ne considère que les gros vaisseaux, comme cela est fait dans la pratique clinique, car les valeurs de la résistivité des branches de l'ACA pour les gros vaisseaux sont très similaires chez les nouveau-nés prématurés à J3 (Figure 43(a), extrémité droite de la courbe jaune) et les nouveau-nés à terme (Figure 43(a), extrémité droite de la courbe verte) (pas de différence significative). Avec l'âge postnatal, la résistivité augmente également dans les gros vaisseaux, ce qui se traduit par une pente normalisée à 40SA, mais avec des valeurs de résistivité globalement plus élevées chez les nouveau-nés prématurés.

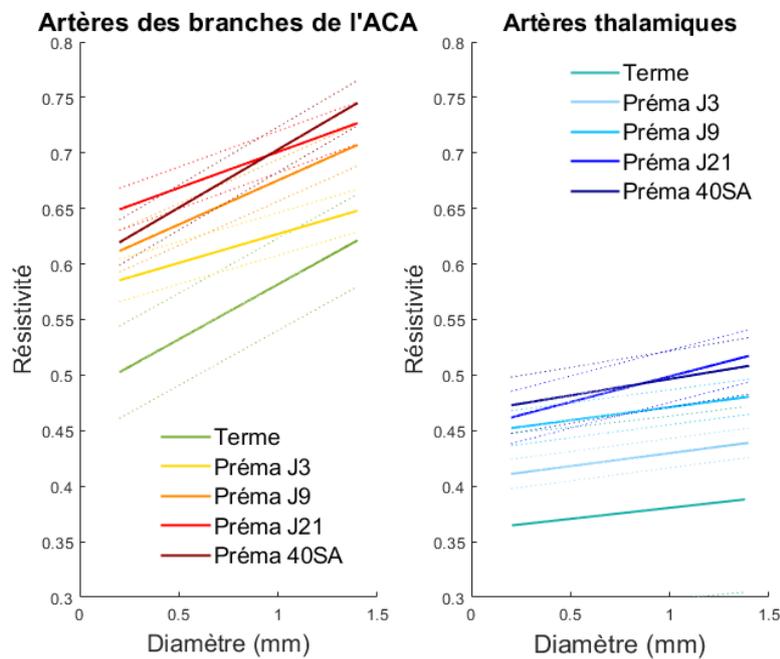
2.3.5. La résistivité d'un vaisseau dépend de l'arbre vasculaire auquel il appartient

Nous avons effectué une comparaison pour déterminer l'effet des régions vasculaires entre les artères des branches de l'ACA et les artères thalamiques. Nous montrons que les pentes de régression de l'IR en fonction du diamètre dans les branches de l'ACA sont significativement plus élevées que les pentes calculées dans la région thalamique (cf valeurs 2.3.1, $p < 0.001$) comme on peut le voir dans la Figure 43. La résistivité n'augmente donc pas de la même manière avec le diamètre en fonction de l'arbre vasculaire considéré.

Il est également intéressant de noter dans la Figure 43 que la résistivité moyenne pour les vaisseaux d'un diamètre donné est plus faible dans les artères thalamiques que dans les branches de l'ACA. Quantitativement, par exemple, pour les petits vaisseaux de même diamètre 0.2 mm, l'IR est plus faible dans les artères thalamiques (0.45 ± 0.07) que dans les branches de l'ACA (0.61 ± 0.08) ($p < 0.001$). Ce type de comparaison de la résistivité dans des vaisseaux de même diamètre, mais dans des domaines vasculaires différents, n'était pas possible auparavant.

Une observation clinique typique telle que la plus faible résistivité dans les artères thalamiques que dans les branches de l'ACA était classiquement expliquée par des a priori sur le diamètre des vaisseaux (les artères thalamiques étant plus petites que les branches de l'ACA). Cependant, cette explication était incomplète, car aucune quantification du diamètre des vaisseaux n'ayant été effectuée, l'effet du diamètre et de la région vasculaire ne pouvait pas être différencié. Nous montrons ici que la résistivité

dans un vaisseau d'un diamètre donné dépend également de l'arbre vasculaire auquel il appartient.



2.3.6. L'évolution de la résistivité en fonction du diamètre est prédictive de lésions de la substance blanche détectées par IRM

Sur le sous-groupe de 25 prématurés ayant passé une IRM, 24 d'entre eux ont eu des mesures analysables de résistivité. Parmi les 24, 6 d'entre eux ont été considérés comme ayant une IRM pathologique sans considération de la localisation de la lésion (substance blanche frontale ou pariétale, hémisphère droit ou gauche). Le regroupement indifférencié de l'ensemble des lésions dans un même groupe a été choisi ici, car nos paramètres de résistivité sont des paramètres globaux de perfusion de l'arbre vasculaire concerné.

Comme expliqué en introduction (section 1.1.3) les lésions de la substance blanche ont des causes multiples, notamment une mauvaise régulation du flux sanguin cérébral. C'est pourquoi les deux paramètres étudiés que sont la pente et la résistivité moyenne dans les petits vaisseaux peuvent être pertinents pour prédire l'apparition de lésions de la substance blanche.

En comparant pour chaque jour d'acquisition les deux paramètres de résistivité, il apparaît que la pente moyenne est significativement plus élevée chez les prématurés pathologiques à J21 (Figure 44, $0.12 \pm 0.06 \text{ mm}^{-1}$ vs $0.02 \pm 0.10 \text{ mm}^{-1}$, $p < 0.05$). Pour évaluer la performance d'une classification des nouveau-nés pathologiques basée sur cette valeur de la pente à J21 nous avons généré une courbe ROC et calculé l'aire sous la courbe qui vaut 0.83 (Figure 44). Le seuil optimal donné par l'indice de Youden est de 0.0610 mm^{-1} avec une sensibilité de 100 % et une spécificité de 61 %. L'aire sous la courbe étant supérieure à 0.7, notre classification est considérée comme performante et avec une très bonne sensibilité mais une spécificité moyenne.

Pour comparaison, la classification des nouveau-nés avec une IRM pathologique basée sur la valeur clinique classique de l'IR dans les segments A3 de l'ACA donne une courbe ROC avec une performance beaucoup plus faible (Figure 44, $\text{AUC} = 0.62$).

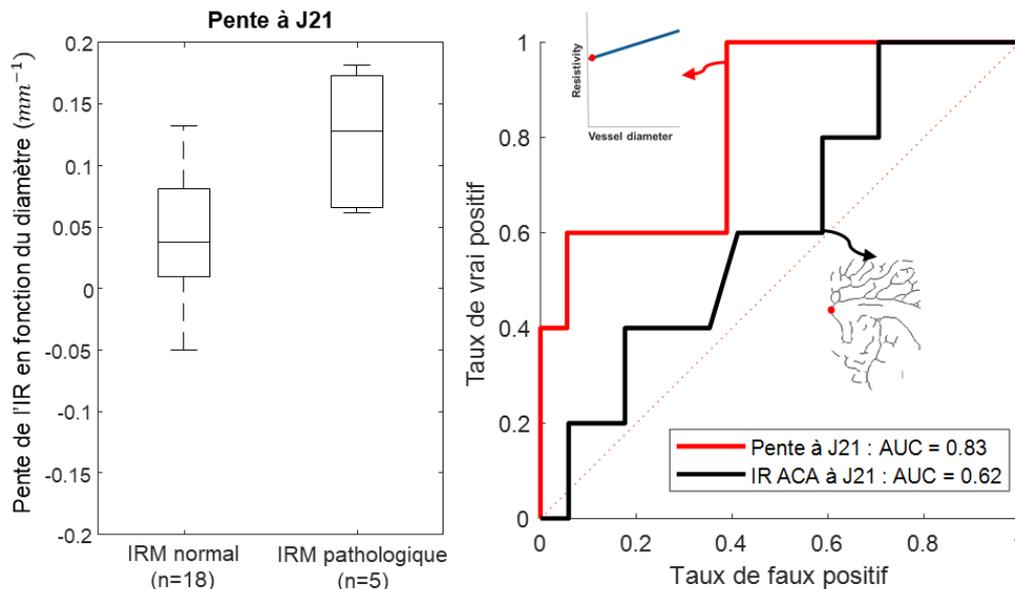


Figure 44. Un potentiel biomarqueur pour la prédiction de lésions de la substance blanche. À gauche, répartition des valeurs de pente à J21 pour les nouveau-nés prématurés qui ont passé une IRM. Ils sont classés comme pathologique ou normal en fonction du résultat de l'IRM. À droite, courbe ROC basée sur les valeurs de pente à J21 (en rouge, $\text{AUC} = 0.83$ et index de Youden max donne une sensibilité de 100 % et une spécificité de 61 %) et courbe ROC basée sur les valeurs de résistivité dans l'ACA à J21 (en noir, $\text{AUC} = 0.62$, index de Youden max donne une sensibilité de 100 % et une spécificité de 29 %)

La meilleure classification est probablement due à la prise en compte de l'information de tout l'arbre vasculaire par la pente contrairement à une information très partielle obtenue à partir d'un unique point de mesure (mesure de la résistivité dans le segment A3 de l'ACA).

2.3.7. L'apport complémentaire de l'élastographie pour la détection de lésions de la substance blanche

2.3.7.1. Description des valeurs d'élastographie en fonction de l'âge gestationnel, de l'âge postnatal et des régions cérébrales étudiées

Nous nous intéressons d'abord simplement à l'évolution de la valeur d'élasticité moyennée sur les deux hémisphères dans la substance blanche frontale (SBF), les valeurs mesurées montrent une rigidité significativement plus faible pour les nouveau-nés prématurés (12.48 ± 2.85 kPa) comparés aux nouveau-nés à terme (19.97 ± 2.50 kPa) dès J3 et restant plus faible à J9 et J21 ($p < 0.001$) (Figure 45, significativité représentée par les étoiles vertes).

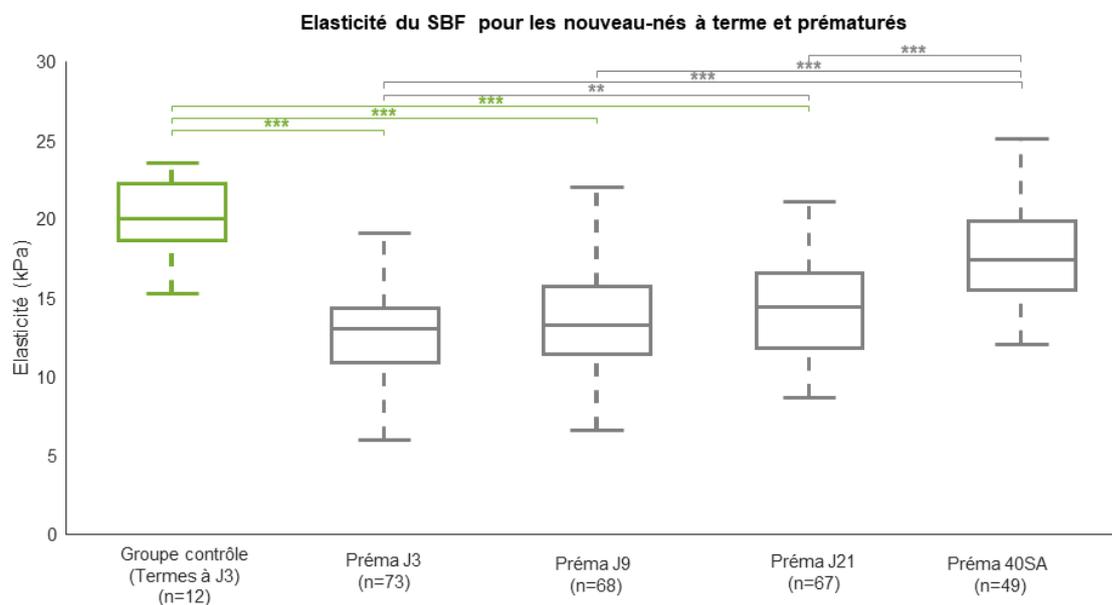


Figure 45. Comparaison de la valeur d'élasticité moyennée sur les deux hémisphères dans la substance blanche frontale entre les nouveau-nés à terme et prématurés en fonction des jours postnatals. Une analyse ANOVA a été réalisée suivie d'une correction pour comparaison multiple en utilisant le test post-hoc HSD de Tukey (* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$).

On remarque également que la rigidité augmente avec l'âge postnatal pour les nouveau-nés prématurés entre J3 et l'âge à terme équivalent (Figure 45, significativité représentée par les étoiles grises).

En comparant les valeurs de rigidité de la SBF à celle du thalamus à chaque jour d'acquisition, on trouve une rigidité significativement plus importante dans le thalamus que dans la SBF ($p < 0.001$).

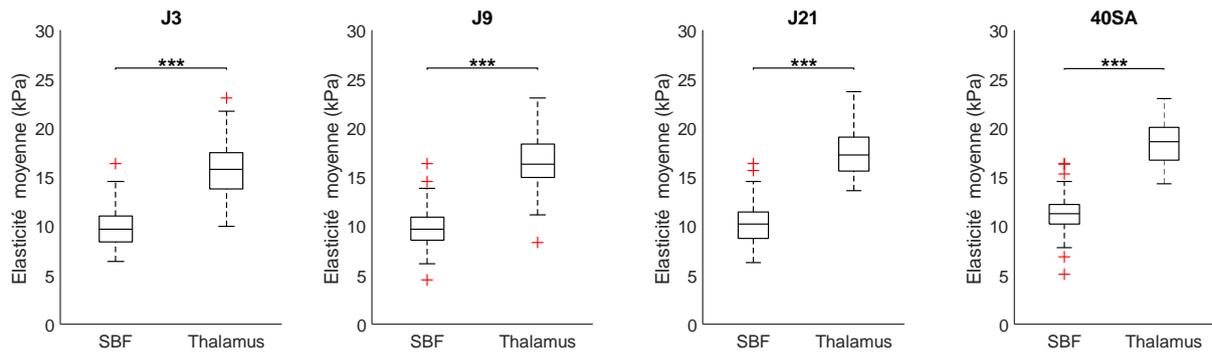


Figure 46. Comparaison des valeurs d'élasticité entre deux zones cérébrales : la substance blanche frontale (SBF) et le thalamus. La rigidité dans le thalamus est significativement plus élevée à chaque jour d'acquisition (Test T de Student : ***, $p < 0.001$)

2.3.7.2. Détection de lésions de la substance blanche frontale à partir des données d'élastographie

Les données d'élastographie de la substance blanche étant différenciées entre hémisphère droit et gauche et pariétale et frontale, on considère cette fois dans la classification IRM uniquement les lésions détectées de la SBF et on considère indépendamment chaque hémisphère. On a alors un total de $n = 45$ hémisphères normaux et $n = 5$ hémisphères pathologiques. Il apparaît que la rigidité dans la SBF est significativement plus faible chez les prématurés appartenant au groupe pathologique à J3 (Figure 44, $p < 0.05$).

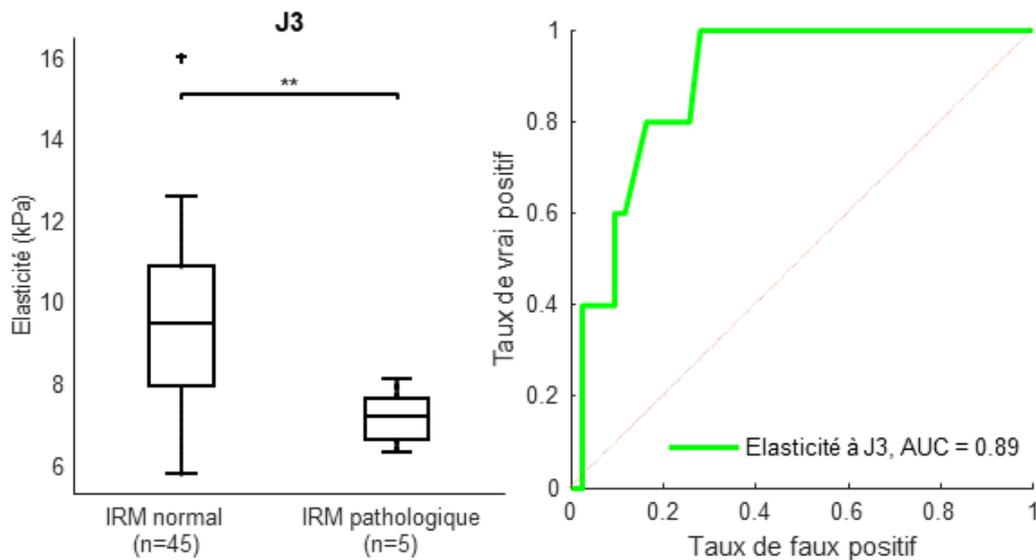


Figure 47. L'élasticité mesurée à J3 semble avoir la capacité de prédire l'apparition de lésions de la substance blanche. À gauche, répartition des valeurs d'élasticité pour les deux hémisphères de la SBF à J3 pour le groupe IRM pathologique et le groupe IRM normal (n représente le nombre d'hémisphères). À droite, tracé de la courbe ROC basée sur la valeur d'élasticité à J3 (AUC = 0.89, Index de Youden : sensibilité de 100 % et spécificité de 72 %)

Pour évaluer la performance d'une classification des nouveau-nés pathologiques basée sur la valeur de rigidité à J3, on peut également générer une courbe ROC. On trouve une AUC de 0.89 et l'indice de Youden donne alors une sensibilité de 100 % et une spécificité de 87 %.

Pour tenter d'encore améliorer la classification des nouveau-nés avec IRM pathologique, il est possible de combiner l'information de la pente de résistivité avec les mesures d'élastographie de la substance blanche frontale. En considérant toujours que les hémisphères sont indépendants, nous sélectionnons $n = 22$ nouveau-nés, soit 44 hémisphères, ayant à la fois une IRM et des données analysables pour la résistivité (sont exclus les nouveau-nés ayant une lésion uniquement dans la substance blanche pariétale). Nous utilisons ensuite un modèle de régression logistique qui va permettre de définir les coefficients a , b et c d'une régression linéaire logistique tels que

$$(Eq\ 13.)\ \text{logit}(Y_{IRM}) = aX_{Elasto} + bX_{Pente} + c$$

Avec X_{Elasto} les valeurs d'élastographie concaténées des deux hémisphères, X_{Pente} les valeurs de pentes de résistivité (doublées pour que chaque valeur d'élastographie corresponde à une valeur de résistivité) et Y_{IRM} , la variable binaire de classification IRM pour chaque hémisphère et $\text{logit}(Y_{IRM}) = \ln\left(\frac{Y_{IRM}}{1-Y_{IRM}}\right)$

La fonction MATLAB 'fitglm' donne l'estimation suivante pour les valeurs des coefficients a, b et c :

| | Estimation | SE | tStat | p-valeur |
|--------------------------|------------|--------|---------|----------|
| Ordonnée à l'origine (c) | 10.005 | 9.4449 | 1.0593 | 0.28947 |
| Elasticité (a) | -2.0907 | 1.5182 | -1.3771 | 0.16848 |
| Pente (b) | 39.823 | 21.038 | 1.8929 | 0.058369 |

Tableau 2. Estimation des coefficients de la régression linéaire logistique de la probabilité d'avoir une classification IRM pathologique en fonction de l'élasticité et de la pente de résistivité.

Même si aucune des deux variables n'est significativement explicative du modèle, celui-ci est globalement significatif ($p = 0.00163$), ce qui signifie que le modèle est significativement différent d'un modèle constant. Autrement dit, il existe bien un lien entre les valeurs explicatives (élasticité, pente) et la variable expliquée (classification IRM).

Il est alors possible de générer une courbe ROC à partir de cette nouvelle variable (Figure 48) qui montre une meilleure performance ($AUC = 0.95$) comparée à l'élastographie seule ($AUC = 0.83$) ou la pente seule ($AUC = 0.84$). L'indice de Youden comme critère de délimitation nous donne une sensibilité de 100 % et une spécificité de 87 %.

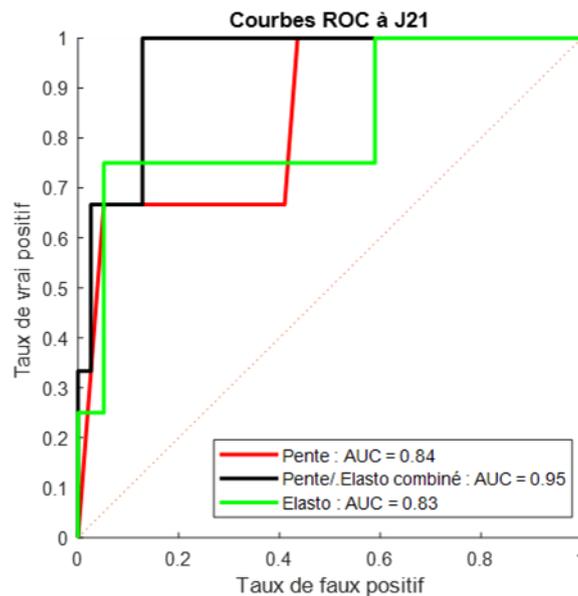


Figure 48. Comparaison de plusieurs modèles de prédiction de détection de lésions de la substance blanche d'après leur courbe ROC. En vert, modèle basé sur les valeurs d'élastographie dans la substance blanche frontale à J21. En rouge, modèle basé sur les valeurs de la pente à J21. En noir, modèle basé sur la combinaison des valeurs d'élastographie et de pente grâce à un modèle de régression logistique ($AUC = 0.95$).

La combinaison des informations de résistivité et de rigidité semble améliorer le modèle de prédiction d'apparition de lésions de la substance blanche à terme équivalent.

2.4. Discussion

Cette étude montre que l'UfD peut changer radicalement la valeur clinique de mesures basées sur les ultrasons, comme l'indice de résistivité. Leur faible valeur prédictive actuelle pourrait être liée au manque de contrôle des conditions dans lesquelles ces mesures sont effectuées dans la pratique clinique. En particulier, malgré la standardisation des lieux de mesure pour les radiologues (par exemple dans le segment A3 de l'ACA), la mesure clinique actuelle de l'IR ne donne qu'une vision partielle de la résistance vasculaire dans les arbres vasculaires, car elle est mesurée principalement dans leurs points d'entrée (gros vaisseaux) et sans tenir compte de la géométrie anatomique locale (diamètre du vaisseau). Dans cette étude, nous avons montré qu'en utilisant l'UfD, nous pouvons à la fois **prendre en compte le diamètre local des vaisseaux** et

obtenir une évaluation globale de la résistance dans les arbres vasculaires en agrégeant les mesures d'IR sur l'ensemble du champ de vue et en les modélisant linéairement en fonction du diamètre local des vaisseaux. Cela permet d'obtenir des **mesures quantitatives confirmant les tendances déjà identifiées** telles que de plus grandes valeurs d'IR chez les nouveau-nés prématurés [16][17] mais de manière plus subtile (dans de plus petits vaisseaux et dès J3). Cela permet aussi de caractériser et **d'expliquer finement les différents comportements résistifs dans les différents arbres vasculaires** (par exemple branches de l'ACA vs artères thalamiques). Enfin, nous montrons dans une petite cohorte qu'un nouveau paramètre (pente de la modélisation linéaire) de cette évaluation globale de la résistivité a une **bonne valeur prédictive pour la détection de lésions de la substance blanche**. Cela ouvre la voie à de nouvelles applications pour les maladies liées au dysfonctionnement cérébrovasculaire.

La surveillance de l'IR tout en contrôlant soigneusement l'emplacement et l'anatomie du vaisseau où la mesure est effectuée a été identifiée comme cruciale par les cliniciens [25]. Grâce à l'UfD, nous nous débarrassons de la difficulté de placer le point de mesure en Doppler pulsé pour obtenir exactement le même emplacement pour la comparaison des valeurs, car nous pouvons accéder à la valeur de l'IR dans tout le champ d'imagerie simultanément. De plus, à partir de ces mesures, nous pouvons extraire deux paramètres globaux qui prennent en compte l'emplacement de l'arbre vasculaire et la taille des vaisseaux.

Un autre besoin crucial identifié depuis longtemps par les spécialistes des pathologies périnatales et des lésions cérébrales du prématuré [18] est le **suivi quantitatif en temps réel de la circulation cérébrale**. Le NeoDoppler [19] décrit une tentative de surveillance continue de la circulation cérébrale à différentes profondeurs. Cependant, la perte d'informations spatiales semble être un inconvénient principal au vu de nos résultats montrant comment le diamètre local des vaisseaux et leur emplacement anatomique modifient les valeurs de l'IR. Dans notre étude, nous n'avons malheureusement que 4 points de mesures instantanées à des jours postnatals définis en amont lors de la conception du protocole. Un suivi continu permettrait d'étudier plus précisément l'évolution de la résistivité avec l'âge postnatal : certaines études ont montré [17][20] par exemple que l'IR est inversement corrélé avec l'âge postnatal, mais sur des périodes de temps beaucoup plus courtes et précoces (quelques heures à quelques jours maximum), que celles que nous avons étudiées. Il est difficile de comparer les études, car

elles ont des chronologies très différentes, mais cela peut être l'indication d'une variation beaucoup plus complexe de l'IR avec l'âge postnatal. Dans notre cas, plus de points de mesures sont nécessaires pour décrire l'évolution de la résistivité après J21, car le point de temps à l'âge équivalent au terme inclut en réalité différents âges postnataux. **Notre méthode possède tous les éléments nécessaires pour passer à un suivi continu pour de futures études**, permettant théoriquement de détecter des anomalies plus tôt.

Avec une résolution spatiale de 0,2 mm, l'UfD est la modalité d'imagerie qui fournit la plus haute résolution de la vascularisation cérébrale du nouveau-né, au chevet du patient, tout en maintenant une bonne sensibilité dans les petits vaisseaux. Cependant, il peut être intéressant **d'avoir des informations sur la circulation sanguine cérébrale dans les plus petits vaisseaux tels que les artérioles ou les capillaires** qui ont un rôle principal dans la régulation de la perfusion cérébrale [21] et qui sont les premiers à être impactés par une naissance prématurée en raison de leur immaturité à ce stade. L'augmentation de la fréquence ultrasonore pourrait améliorer la résolution spatiale, mais au prix d'une profondeur de pénétration et d'une sensibilité plus faibles. En utilisant un agent de contraste à microbulles et une technique appelée microscopie à localisation ultrasonore (ULM), il est désormais possible d'obtenir des images d'une résolution inférieure à la longueur d'onde [22] et la faisabilité de l'imagerie de la résistivité à l'aide de cette technique a été démontrée dans un cadre préclinique [23]. L'ULM a également été réalisée dans le cerveau humain chez l'adulte [24], mais jusqu'à présent, l'utilisation d'un agent de contraste à microbulles pour l'imagerie cérébrale chez les nouveau-nés n'est pas courante. L'utilisation clinique pourrait évoluer, car des études [25][26] ne montrent aucun effet secondaire de l'utilisation d'ultrasons avec agent de contraste chez les nouveau-nés, ouvrant la voie au développement de la mesure de la résistivité cérébrale par ULM chez les nouveau-nés.

Par ailleurs, aucune comparaison entre le sexe et le type d'accouchement n'a été faite, mais Aranha et *al.* [27] montrent que cela n'a pas d'impact sur les paramètres du flux sanguin cérébral tels que l'IR.

Des études antérieures [28][29] montrent que la PSV et l'EDV augmentent avec l'âge gestationnel et l'âge postnatal chez les prématurés, mais que cela ne se reflète pas toujours clairement dans l'IR qui est le rapport entre PSV et EDV. Nous avons essayé de regarder directement la PSV et l'EDV tout en corrigeant l'angulation du vaisseau dans le plan, mais les valeurs mesurées avaient une variance élevée, potentiellement due à l'angle du

vaisseau hors plan non-corrigeable. Nous avons donc préféré garder **la mesure de l'IR qui a l'avantage de neutraliser les effets de l'angulation.**

L'**interprétation des valeurs d'élasticité** et leurs variations en fonction de l'âge et des régions pourraient être directement liées au **degré de myélinisation**, puisque la rigidité semble augmenter avec la concentration en myéline [30]. Dans cette étude, les auteurs montrent une corrélation entre le contenu en myéline d'un cerveau bovin (par une analyse histologique) avec la rigidité (mesurée par une caractérisation force-déplacement sur des échantillons). Ils émettent l'hypothèse que le rôle de la myéline ne se limite pas à faciliter la transmission de l'information entre les neurones, mais qu'elle peut jouer un rôle dans la structure et le neurodéveloppement en modifiant localement les propriétés mécaniques du cerveau. Cette corrélation est confirmée par une étude montrant qu'une démyélinisation contrôlée induite par administration de Cuprizone diminue la rigidité du cerveau chez la souris en utilisant l'élastographie par résonance magnétique [31]. Chez l'humain, l'élastographie par résonance magnétique a aussi montré que la rigidité du cerveau diminue chez des patients atteints de la maladie d'Alzheimer [32], qui est connue pour être une pathologie liée à la démyélinisation. Les valeurs d'élasticité mesurées par Iñigo et *al.* [33] chez des nouveau-nés à terme en utilisant l'élastographie par onde de cisaillement dans le thalamus (substance grise) et la corona radiata (substance blanche) montrent également une plus grande rigidité dans la substance blanche.

Si l'on s'intéresse à l'estimation de l'élasticité dans la substance blanche et dans la substance grise, les études sur les nouveau-nés ont montré des résultats plutôt variables [33][34][35][36]. Cette **difficulté à obtenir une mesure fiable de l'élasticité** peut s'expliquer par de multiples facteurs. Un des facteurs pourrait être les différentes technologies utilisées par les fabricants des échographes pour l'estimation de l'élasticité. En comparant des études utilisant le même échographe (GE Healthcare dans [34]/[35] ou SuperSonic Imagine dans [37]/notre étude), il semble que les valeurs soient plus comparables. Un autre facteur est **l'anisotropie de la matière blanche** (due à la direction des axones et des fibres de myéline) qui fait varier la vitesse de propagation des ondes de cisaillement. L'orientation des fibres change largement en fonction du plan d'acquisition (coronal ou sagittal) et de la zone de mesure (frontale ou pariétale). Ceci peut éventuellement expliquer les différences trouvées entre les études, puisqu'aucune standardisation des lieux de mesure n'a été établie pour l'instant. L'anisotropie peut probablement expliquer les variations plus importantes de la mesure de la substance

blanche pariétale par rapport aux mesures de la substance blanche frontale ou du thalamus dans notre étude. Il convient également de noter que le processus de myélinisation commence au début du troisième trimestre de gestation, d'abord au centre du cerveau, puis se propage à la périphérie. Cela signifie qu'une même région, mesurée à un âge gestationnel différent, peut donc avoir un degré de myélinisation différent et une valeur d'élasticité différente. À l'inverse, pour un même âge gestationnel, deux structures de substance blanche ne sont pas nécessairement au même stade de maturité. Il faut également prendre en compte que l'élasticité est liée aux constitutions moléculaires du milieu, et le **milieu considéré n'est pas composé uniquement de myéline**, même dans la substance blanche. Les densités de vaisseaux sanguins, de cellules neuronales et gliales ont probablement aussi un effet sur l'élasticité mesurée.

Comme l'élastographie par onde de cisaillement utilise l'émission d'un faisceau ultrasonore pour créer une petite déformation dans le cerveau, nous pouvons nous interroger sur les **effets biologiques mécaniques et thermiques** sur le cerveau néonatal en développement. Premièrement, le déplacement induit est faible par rapport à la taille de la tache focale, avec un déplacement maximal typique de 3 μm et une largeur typique de la tache focale de 300 μm pour la fréquence ultrasonore utilisée (6 MHz). Il en résulte une **très faible déformation** de cisaillement relative de $3/300 = 1\%$. Deuxièmement, dans des études précliniques, il a été montré que l'élastographie n'induisait pas de changements histologiques, de changements comportementaux ou d'effets à long terme sur la mémoire [38], même si un effet transitoire (<24h) sur l'expression de l'ARNm impliqué dans les fonctions synaptiques dans l'hippocampe a été signalé [39].

Dans notre étude, la combinaison des valeurs de résistivité et de rigidité semble améliorer la prédiction d'apparition de lésions de la substance blanche. Il est cependant important de noter que l'effectif de nouveau-nés pathologiques est très faible et il serait nécessaire de confirmer ces résultats sur une plus grande cohorte.

2.5. Conclusion du chapitre

Nous avons montré dans cette étude que nous sommes capables d'extraire de l'analyse de l'index de résistivité en fonction du diamètre deux nouveaux marqueurs de résistivité globale (pente de la régression entre IR et diamètre et valeur de cette régression pour $d = 0.2\text{mm}$), donnant une mesure fiable et facilement reproductible, sans mélanger les informations spatiales. Ces paramètres pourraient être des marqueurs prédictifs précoces

de lésions de la substance blanche chez les prématurés, telles qu'évaluées par IRM à l'âge équivalent au terme dans notre cohorte. L'apport d'information par l'élastographie sur la rigidité du cerveau semble améliorer le potentiel de ces biomarqueurs. L'UfD possède toutes les composantes nécessaires pour passer à une surveillance continue pour espérer améliorer la compréhension du mécanisme de déclenchement de lésions de la substance blanche, la détection des dysfonctionnements cérébrovasculaires et le suivi de traitements associés.

Nous venons de voir qu'il est possible grâce au Doppler ultrarapide d'avoir un aperçu de la fonction vasculaire chez le nouveau-né humain, nous verrons dans les chapitres suivants qu'il est également possible d'évaluer la connectivité cérébrale dans des modèles d'altérations cérébrales subtiles chez le nouveau-né en préclinique (chapitre 3) et en clinique (chapitre 4).

2.6. Bibliographie du chapitre

- [1] M. Siddiqui, E. Gastal, M. Gastal, M. Beg, and O. Ginther, “Effect of hCG in the presence of hCG antibodies on the follicle, hormone concentrations, and oocyte in mares,” *Reprod Domest Anim*, vol. 44, no. 3, pp. 474–479, 2009.
- [2] A. M. Kennedy and P. J. Woodward, “A radiologist’s guide to the performance and interpretation of obstetric doppler US,” *Radiographics*, vol. 39, no. 3, pp. 893–910, 2019.
- [3] M. E. Tublin, R. O. Bude, and J. F. Platt, “The resistive index in renal Doppler sonography: Where do we stand?,” *Am J Roentgenol*, vol. 180, no. 4, pp. 885–892, 2003.
- [4] E. L. Riedesel, “Neonatal Cranial Ultrasound: Advanced Techniques and Image Interpretation,” *J Pediatr Neurol*, vol. 16, no. 2, pp. 106–124, 2018.
- [5] G. J. Gerner *et al.*, “Transfontanellar duplex brain ultrasonography resistive indices as a prognostic tool in neonatal hypoxic-ischemic encephalopathy before and after treatment with therapeutic hypothermia,” *J Perinatol*, vol. 36, no. 3, pp. 202–206, 2016.
- [6] A. S. Kumar, A. Chandrasekaran, R. Asokan, and K. Gopinathan, “Prognostic Value of Resistive Index in Neonates with Hypoxic Ischemic Encephalopathy,” *Indian Pediatr*, vol. 53, no. 12, pp. 1079–1082, 2016.
- [7] G. M. Ecury-Goossen *et al.*, “Resistive indices of cerebral arteries in very preterm infants: values throughout stay in the neonatal intensive care unit and impact of patent ductus arteriosus,” *Pediatr Radiol*, vol. 46, no. 9, pp. 1291–1300, 2016.
- [8] C. Demené *et al.*, “Ultrafast Doppler reveals the mapping of cerebral vascular resistivity in neonates,” *J Cereb Blood Flow Metab*, vol. 34, no. 6, pp. 1009–1017, 2014.
- [9] E. S. Peeples, E. Mehic, P. D. Mourad, and S. E. Juul, “Fast Doppler as a novel bedside measure of cerebral perfusion in preterm infants,” *Pediatr Res*, vol. 79, no. 2, pp. 333–338, 2016.
- [10] C. Demené *et al.*, “Multi-parametric functional ultrasound imaging of cerebral hemodynamics in a cardiopulmonary resuscitation model,” *Sci Rep*, vol. 8, no. 1, pp. 1–10, 2018.
- [11] H. G. Kim and J. H. Lee, “Feasibility of Ultrafast Doppler technique for cranial ultrasound in neonates,” *Med Ultrason*, vol. 21, no. 3, pp. 288–293, 2019.
- [12] C. Demené *et al.*, “Spatiotemporal Clutter Filtering of Ultrafast Ultrasound Data Highly Increases Doppler and fUltrasound Sensitivity,” *IEEE Trans Med Imaging*, vol. 34, no. 11, pp. 2271–2285, 2015.
- [13] J. Baranger, B. Arnal, F. Perren, O. Baud, M. Tanter, and C. Demene, “Adaptive Spatiotemporal SVD Clutter Filtering for Ultrafast Doppler Imaging Using Similarity of Spatial Singular Vectors,” *IEEE Trans Med Imaging*, vol. 37, no. 7, pp. 1574–1586, 2018.
- [14] T. Jerman, F. Pernus, B. Likar, and Z. Spiclin, “Enhancement of Vascular Structures in 3D and 2D Angiographic Images,” *IEEE Trans Med Imaging*, vol. 35, no. 9, pp. 2107–2118, 2016.
- [15] J. L. Gennisson, T. Defieux, M. Fink, and M. Tanter, “Ultrasound elastography: Principles and techniques,” *Diagn Interv Imaging*, vol. 94, no. 5, pp. 487–495, 2013.
- [16] C. Zamora, A. Tekes, E. Alqahtani, O. T. Kalayci, F. Northington, and T. A. G. M. Huisman, “Variability of resistive indices in the anterior cerebral artery during fontanel compression in preterm and term neonates measured by transcranial duplex sonography,” *J Perinatol*, vol. 34, no. 4, pp. 306–310, 2014.
- [17] J. J. Seibert *et al.*, “Duplex pulsed Doppler US versus intracranial pressure in the neonate: clinical and experimental studies,” *Radiology*, vol. 171, no. 1, pp. 155–159, 1989.
- [18] J. J. Volpe, “Brain injury in premature infants: a complex amalgam of destructive and developmental disturbances,” *Lancet Neurol*, vol. 8, no. 1, pp. 110–124, 2009.
- [19] S. D. Vik, H. Torp, T. Follestad, R. Støen, and S. A. Nyrnes, “NeoDoppler: New ultrasound technology for continuous cerebral circulation monitoring in neonates,” *Pediatr Res*, vol. 87, no. 1,

- pp. 95–103, 2020.
- [20] D. Forster, E. Koumoundouros, V. Sacton, G. Fedai, and J. Holberton, “Cerebral blood flow velocities and cerebrovascular resistance in normal-term neonates in the first 72 hours,” *J Paediatr Child Health*, 2017.
- [21] S. Grubb *et al.*, “Precapillary sphincters maintain perfusion in the cerebral cortex,” *Nat Commun*, vol. 11, no. 1, 2020.
- [22] C. Errico *et al.*, “Ultrafast ultrasound localization microscopy for deep super-resolution vascular imaging,” *Nature*, vol. 527, no. 7579, pp. 499–502, 2015.
- [23] C. Bourquin, J. Poree, F. Lesage, and J. Provost, “In Vivo Pulsatility Measurement of Cerebral Microcirculation in Rodents Using Dynamic Ultrasound Localization Microscopy,” *IEEE Trans Med Imaging*, vol. 41, no. 4, pp. 782–792, 2022.
- [24] C. Demené *et al.*, “Transcranial ultrafast ultrasound localization microscopy of brain vasculature in patients,” *Nat Biomed Eng*, vol. 5, no. 3, pp. 219–228, 2021.
- [25] M. Gumus, K. C. Oommen, and J. H. Squires, “Contrast-enhanced ultrasound of the neonatal brain,” *Pediatr Radiol*, vol. 52, no. 4, pp. 837–846, 2022.
- [26] F. Knieling *et al.*, “Transfontanellar Contrast-Enhanced Ultrasound for Monitoring Brain Perfusion during Neonatal Heart Surgery,” *Circ Cardiovasc Imaging*, no. March, pp. 1–3, 2020.
- [27] C. A. Aranha, H. M. Lederman, and C. A. M. Segre, “Color Doppler evaluation of the influence of type of delivery, sex, postnatal age and time post feeding on full term healthy newborns cerebral blood flow,” *Arq Neuropsiquiatr*, vol. 67, no. 2 B, pp. 463–473, 2009.
- [28] K. H. Deeg and T. Rupprecht, “Pulsed Doppler sonographic measurement of normal values for the flow velocities in the intracranial arteries of healthy newborns,” *Pediatr Radiol*, vol. 19, no. 2, pp. 71–78, 1989.
- [29] C. Romagnoli, C. Giannantonio, M. P. De Carolis, F. Gallini, E. Zecca, and P. Papacci, “Neonatal color Doppler US study: Normal values of cerebral blood flow velocities in preterm infants in the first month of life,” *Ultrasound Med Biol*, vol. 32, no. 3, pp. 321–331, 2006.
- [30] J. Weickenmeier, R. de Rooij, S. Budday, P. Steinmann, T. C. Ovaert, and E. Kuhl, “Brain stiffness increases with myelin content,” *Acta Biomater*, vol. 42, pp. 265–272, 2016.
- [31] K. Schregel *et al.*, “Demyelination reduces brain parenchymal stiffness quantified in vivo by magnetic resonance elastography,” *Proc Natl Acad Sci U S A*, vol. 109, no. 17, pp. 6650–6655, 2012.
- [32] M. C. Murphy *et al.*, “Decreased brain stiffness in Alzheimer’s disease determined by magnetic resonance elastography,” *J Magn Reson Imaging*, vol. 34, no. 3, pp. 494–498, 2011.
- [33] E. Garcés Iñigo, R. Llorens Salvador, R. Escrig, D. Hervás, M. Vento, and L. Martí-Bonmatí, “Quantitative Evaluation of Neonatal Brain Elasticity Using Shear Wave Elastography,” *J Ultrasound Med*, vol. 40, no. 4, pp. 795–804, 2021.
- [34] A. M. El-Ali, S. Subramanian, L. M. Krofchik, M. C. Kephart, and J. H. Squires, “Feasibility and reproducibility of shear wave elastography in pediatric cranial ultrasound,” *Pediatr Radiol*, vol. 50, no. 7, pp. 990–996, 2020.
- [35] E. Albayrak and T. Kasap, “Evaluation of Neonatal Brain Parenchyma Using 2-Dimensional Shear Wave Elastography,” *J Ultrasound Med*, vol. 37, no. 4, pp. 959–967, 2018.
- [36] Y. Su *et al.*, “Application of acoustic radiation force impulse imaging (ARFI) in quantitative evaluation of neonatal brain development,” *Clin Exp Obstet Gynecol*, vol. 42, no. 6, pp. 797–800, 2015.
- [37] T. Dirrichs *et al.*, “Transcranial Shear Wave Elastography of Neonatal and Infant Brains for Quantitative Evaluation of Increased Intracranial Pressure,” *Invest Radiol*, vol. 54, no. 11, pp. 719–727, 2019.
- [38] C. Li, C. Zhang, J. Li, X. Cao, and D. Song, “An experimental study of the potential biological

- effects associated with 2-D shear wave elastography on the neonatal brain,” *Ultrasound Med Biol*, vol. 42, no. 7, pp. 1551–1559, 2016.
- [39] C. Zhang, N. Li, C. Li, and J. Li, “A Safety Study of the Effects of 2-Dimensional Shear Wave Elastography on Synaptic Morphologic Characteristics and Function in the Hippocampus of Neonatal Mice.” *Journal of Ultrasound Medicine*, 2021.

Chapitre 3.

Études de la connectivité
fonctionnelle dans des modèles
précliniques d'altérations cérébrales
néonatales subtiles

Dans le chapitre 2, nous venons de voir que l'imagerie Doppler ultrarapide permet d'évaluer la fonction vasculaire cérébrale, notamment via l'évaluation d'index de résistivité. Dans ce chapitre, nous allons voir une autre application de l'imagerie Doppler ultrarapide, l'imagerie fonctionnelle ultrasonore (fUS), pour l'évaluation de l'activité cérébrale à l'état de repos.

3.1. Introduction à la connectivité fonctionnelle par ultrasons

3.1.1. Réseaux cérébraux

Nous avons vu en introduction que l'activité cérébrale est de nature électrique et étroitement liée aux flux sanguins via le couplage neurovasculaire (section 1.1.2.2) et que de nombreuses techniques d'imagerie de l'activité cérébrale en tirent parti pour mesurer indirectement l'activité cérébrale (section 1.2.3). C'est le cas de l'IRM fonctionnelle (IRMf) qui est devenue la technique d'imagerie de référence pour l'exploration de l'activité cérébrale chez l'homme grâce à son caractère non-invasif et à sa possibilité d'imager l'entièreté du cerveau, en 3D avec une résolution temporelle de l'ordre de la seconde.

De nombreuses études IRMf se sont d'abord intéressées à la réponse cérébrale suite à une stimulation (sensorielle ou cognitive), notamment pour mieux définir les zones cérébrales impliquées lors de certaines tâches cognitives complexes, et observer de potentielles modifications de l'activité cérébrale pour des sujets pathologiques. À la fin des années 90, Biswal et al. [1] ont observé pour la première fois des fluctuations synchronisées, spontanées et de basse fréquence (<0.1 Hz), des signaux enregistrés dans les cortex moteurs droit et gauche lors d'acquisition IRMf alors que le sujet était en état de repos. Ces observations ont ouvert la voie à un nouveau champ de recherche qui est l'étude de **connectivité en « état de repos »** (« *resting-state* » en anglais) [2]. **La connectivité est une mesure de la coordination et de la synchronisation entre les signaux enregistrés de différentes aires cérébrales.** Ces observations ont également été confirmées par d'autres méthodes comme la NIRS [3] et depuis de nombreuses études ont montré des altérations de cette connectivité chez des patients avec des troubles cérébraux tels que la schizophrénie [4], la maladie de Parkinson [5] ou encore l'autisme [6].

L'étude de la connectivité a également permis de mettre en lumière des **réseaux cérébraux** (Figure 49) ayant chacun des spécificités fonctionnelles. Un réseau regroupe

des régions cérébrales avec une forte connectivité, c'est-à-dire dont les signaux mesurés par imagerie fonctionnelle fluctuent de manière très synchronisée dans le temps, bien que ces régions soient anatomiquement séparées. Ces réseaux sont identifiables par plusieurs méthodes, leur principe étant de chercher les voxels des images IRMf dont le décours temporel corrèle fortement avec celui d'une région cérébrale prédéfinie.

Les principaux réseaux cérébraux sont :

Le **réseau sensorimoteur**, (« *Sensorimotor Network* » SMN) comprenant notamment les cortex moteurs (gyrus précentral) et somatosensoriels (gyrus postcentral). Il est impliqué dans la coordination motrice et l'intégration d'informations somatosensorielles.

Le **réseau auditif** (« *Auditory network* », AN), se situe sur la partie supérieure des lobes temporaux supérieurs. Il comprend les cortex auditifs primaires (gyrus temporal transverse) et les cortex auditifs secondaires et tertiaires qui encerclent les cortex primaires. Il est impliqué dans l'intégration de l'information auditive, aussi bien en termes de temps que de fréquence.

Le **réseau visuel** (« *Visual network* », VN), se situe dans le lobe occipital et comprend le cortex strié (au niveau de la scissure calcarine), parastrié et extrastrié. Il est parfois divisé en plusieurs sous-réseaux et est impliqué dans l'intégration de l'information visuelle.

Le **réseau central exécutif** (« *Central Executive Network* » CEN) (Figure 49(a)) comprend notamment le cortex préfrontal (dorso-latéral et rostral latéral) et celui du lobule pariétal inférieur antérieur. Il est impliqué dans les fonctions cognitives telles que la planification et la prise de décisions.

Le **réseau de saillance** (« *Saliency network* » SN) (Figure 49(b)) comprend le cortex cingulaire antérieur dorsal et l'insula antérieure. Il est impliqué dans la détection et dans la sélection des stimuli extérieurs contrastés et dans le recrutement de zones fonctionnelles associées.

Le **réseau en mode par défaut** (« *Default Mode Network* » DMN) (Figure 49(c)) comprend notamment le cortex préfrontal médial et le cortex cingulaire postérieur. Il est activé au repos lorsque le sujet n'est pas impliqué dans une tâche et ne reçoit aucun stimulus : lorsqu'on ne pense à « rien en particulier ». Il serait impliqué dans l'introspection et est caractérisé par sa désactivation lors d'une tâche ayant un objectif et nécessitant de l'attention.

Ces trois derniers réseaux (CEN, SN et DMN) font partie du modèle triple-réseaux (« triple-network model »), qui suppose que le SN est un état de conscience de transition entre le DMN et le CEN [7], et joueraient un rôle dans de nombreuses pathologies psychiatriques et neurologiques [8].

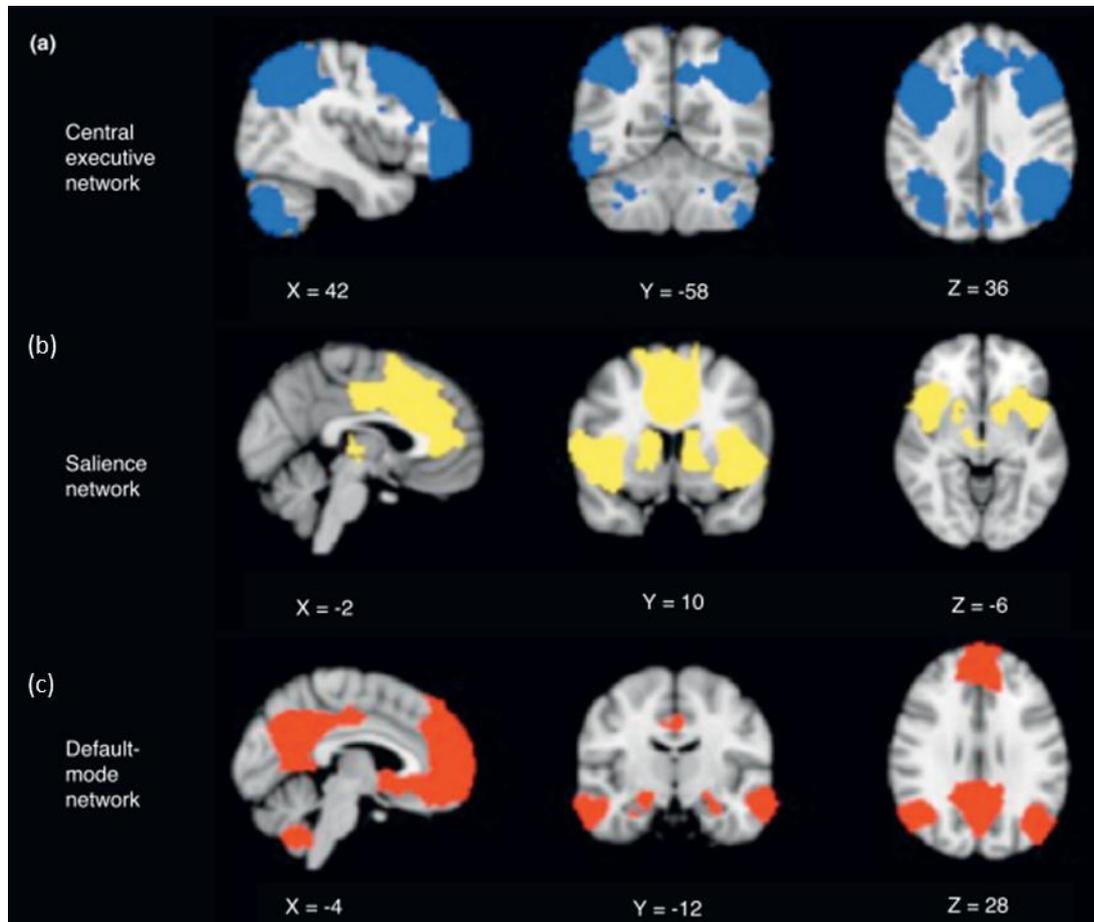


Figure 49. Les 3 principaux réseaux cérébraux identifiés chez l'humain par IRMf. (a) Le réseau exécutif central en bleu, (b) le réseau de saillance en jaune et (c) le réseau du mode par défaut en orange (Tiré de Menon et *al.*[8])

L'ensemble de ces réseaux sont trouvés de manière constante par des études utilisant des techniques d'acquisitions et des techniques d'analyses des données différentes. De plus, des réseaux similaires ont aussi été caractérisés chez le primate non-humain et le rongeur [9][10].

Même si l'utilisation de l'IRMf est utilisable chez le nouveau-né pour l'évaluation de la connectivité fonctionnelle, il s'agit d'un champ de recherche plus restreint [11]. Sa transposition en routine clinique est difficile à cause de son coût et de sa non-portabilité, d'où l'intérêt de développer de nouvelles techniques d'imagerie fonctionnelle telles que l'imagerie fonctionnelle par ultrasons (fUS).

3.1.2. Preuve de concept de l'imagerie fonctionnelle à l'état de repos par imagerie fonctionnelle ultrasonore (fUS)

L'imagerie fonctionnelle ultrasonore (fUS) repose sur l'acquisition d'images Doppler de puissance dont l'intensité est proportionnelle au volume sanguin cérébral (« *Cerebral Blood Volume* » CBV) [12]. En imageant les fluctuations du volume sanguin cérébral à une cadence d'imagerie suffisante pour échantillonner les fluctuations basses fréquences, on peut ainsi accéder à l'activité cérébrale indirectement via le couplage neurovasculaire.

La première preuve de concept d'imagerie fonctionnelle à l'état de repos en fUS a été établie dans notre laboratoire en 2014 sur le rat [13]. Le principe est le même qu'en IRMf : après un prétraitement des données, le signal moyen d'une zone cérébrale est extrait et corrélé à celui d'une autre zone (Figure 50).

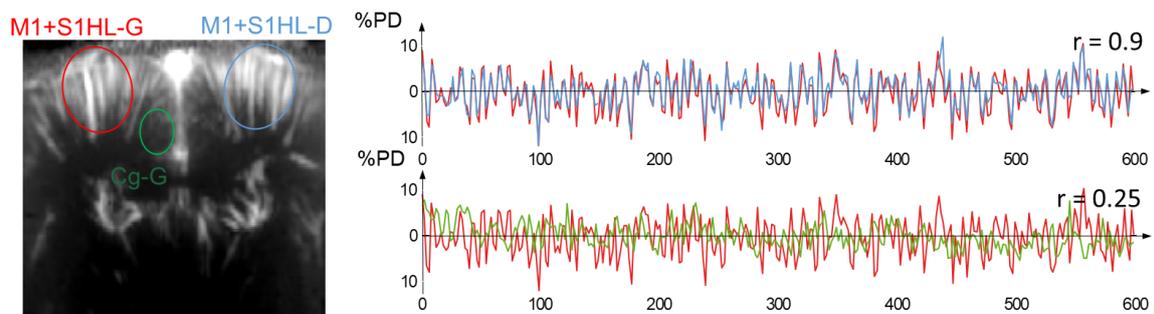


Figure 50. Corrélation entre différentes zones cérébrales chez un rat anesthésié à partir de l'imagerie fonctionnelle par ultrasons. On remarque que les zones contralatérales des cortex sensoriels et moteurs (rouge et bleu) sont plus fortement corrélées ($r = 0.9$) que les deux zones du même hémisphère (rouge et vert, $r = 0.25$). (D'après Osmanski et *al.* [13])

L'acquisition ayant été effectuée dans un plan 2D, l'évaluation des réseaux cérébraux présentés précédemment n'était pas possible. Cependant, une forte connectivité entre les cortex sensoriels et moteurs droit et gauche, semblable au réseau sensorimoteur, a été trouvée.

Il est tout de même possible d'identifier des états cérébraux représentés par des matrices de corrélation : en se basant sur un atlas fonctionnel du cerveau (Paxinos et *al* [14] pour le rat), il est possible de réaliser les corrélations pour chaque paire de zones de l'atlas et « ranger » les coefficients de corrélation obtenus dans une matrice, appelée matrice de corrélation (Figure 51). Cette matrice est également qualifiée de **matrice de connectivité**, en se basant sur l'hypothèse que la valeur de la corrélation entre deux zones rend compte de la connectivité entre ces deux zones. Un coefficient de corrélation

proche de 1 signifie que la connectivité entre ces deux zones est forte, un coefficient de corrélation proche de zéro indique une connectivité faible et enfin un coefficient négatif (anti-corrélation) proche de -1 illustre deux zones qui fonctionnent en opposition.

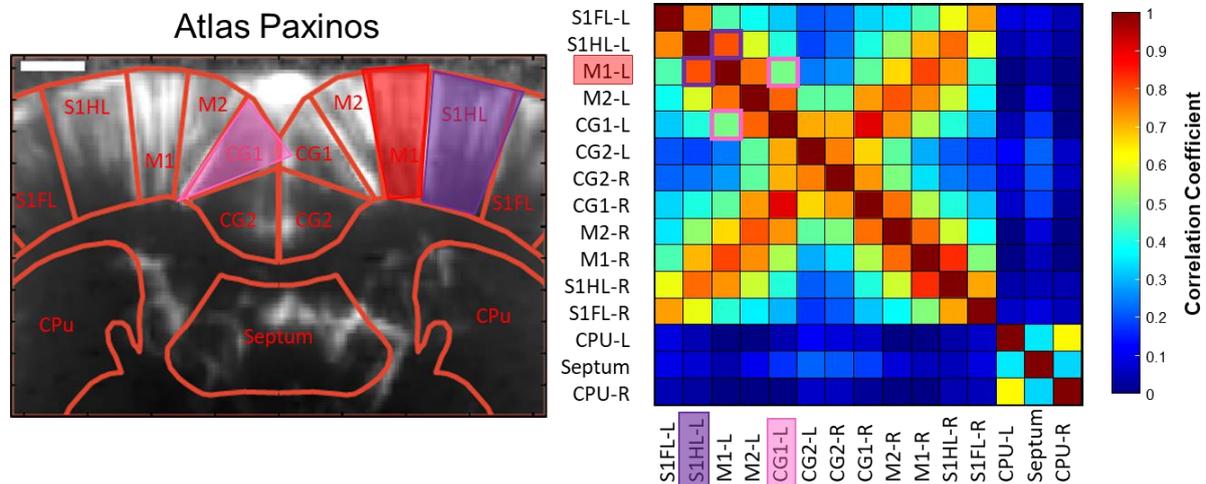


Figure 51. Construction des matrices de connectivité. À gauche l'atlas de Paxinos et al. [14] utilisé pour le découpage des aires cérébrales fonctionnelles. Chaque zone correspond ensuite à une ligne de la matrice et on range les coefficients de corrélation en fonction des zones concernées. À droite, matrice de connectivité moyenne construite à partir de 6 matrices individuelles à l'état de repos obtenues par imagerie fonctionnelle par ultrasons (fUS). Chaque matrice individuelle est construite à partir de l'atlas. On peut noter les forts coefficients de corrélation sur l'anti-diagonale du sous-carré supérieur qui représentent la forte connectivité inter-hémisphérique (D'après Osmanski et al. [13]).

Cette première preuve de concept a montré des mesures reproductibles entre animaux avec une forte connectivité inter-hémisphérique dans les cortex sensoriels et moteurs.

Plusieurs études ont ensuite montré la possibilité de mettre en avant des **différences de connectivité** entre un groupe pathologique et un groupe contrôle. Par exemple, une étude fUS sur l'arthrite a montré une diminution de la connectivité notamment dans le cortex somatomoteur pour les rats arthritiques [15], permettant de les discriminer du groupe contrôle.

En plus de sa capacité de diagnostic, le fUS peut aussi servir à **l'évaluation de traitement**. Le fUS a permis notamment d'étudier les augmentations de la connectivité intracorticale et de la connectivité cortico-hippocampique induites par l'injection de scopolamine, qui est une molécule connue pour modifier les transmissions cholinergiques [16]. Le fUS a également montré une diminution de connectivité dans un modèle d'altérations cérébrales sévères induites par un régime hypoprotéique pendant la gestation (produisant un équivalent d'un retard de croissance intra-utérin) associé à des

injections postnatales d'interleukine-bêta-1 (IL1- β) (équivalent au déclenchement d'une inflammation en période postnatale) chez le rongeur [17]. Dans cette étude, l'utilisation de carbétocine (un agoniste des récepteurs de l'ocytocine) dans la période postnatale précoce a montré un rôle neuroprotecteur puisqu'elle a permis d'atténuer l'activation microgliale et d'empêcher la diminution de connectivité.

Ces études précliniques montrent que, par l'évaluation de la connectivité cérébrale, l'imagerie fUS a le potentiel à la fois d'être un outil de diagnostic précoce d'anomalies cérébrales et également d'être un outil de suivi de traitements associés. L'application de l'imagerie fUS pour l'évaluation de la connectivité cérébrale chez le nouveau-né pourrait permettre le suivi du neurodéveloppement et fournir ainsi de nouvelles informations sur le développement cérébral et de nouvelles possibilités de détection de trajectoires neurodéveloppementales anormales.

3.1.3. Signal fUS et activité cérébrale

Les analyses de connectivité à partir de l'imagerie fUS partent de **l'hypothèse que la corrélation entre les fluctuations du CBV liées à l'activité cérébrale entre deux zones cérébrales rend compte de la connectivité fonctionnelle entre ces zones.**

Encore faut-il être capable de mesurer les fluctuations du CBV liées à l'activité cérébrale, car le signal fUS mesuré résulte en réalité de plusieurs sources :

- les fluctuations liées à l'activité cérébrale
- les signaux physiologiques globaux (pulsatilité cardiaque, respiration,...)
- les artéfacts de causes extérieures (mouvement, vibration).

L'étape appelée de « **prétraitement** » cherche à supprimer les contributions des artéfacts et des signaux physiologiques globaux afin de **conserver uniquement les contributions de l'activité cérébrale**. Cette étape est nécessaire pour toutes les méthodes d'imagerie fonctionnelle qui ont chacune leurs propres biais liés à la technologie utilisée. L'objectif de l'étape de prétraitement du signal fUS est d'obtenir des corrélations entre les signaux CBV qui correspondent bien à une mesure de l'activité cérébrale.

On pourrait souhaiter un prétraitement universel qui serait utilisable pour toutes les données. Cependant, en fonction de la qualité de l'enregistrement, du protocole (animal anesthésié, éveillé, freely-moving,...) et de la question scientifique posée, les « couches »

d'artéfacts à retirer n'ont pas forcément les mêmes délimitations. Un **prétraitement adapté n'est donc pas nécessairement universel** et on peut trouver notamment des étapes différentes de prétraitement pour l'analyse de données fUS.

Il est possible de distinguer **deux catégories principales d'étapes de prétraitement** généralement réalisées :

1/ Suppression des images avec artéfacts de mouvements

2/ Filtrage pour ne garder que la bande spécifique aux fluctuations spontanées de l'activité cérébrale à l'état de repos.

D'autres étapes comme le **retrait d'une composante globale** peuvent être implémentées pour essayer de supprimer les composantes du signal liées à des variations globales du bruit et/ou de signaux physiologiques non-neuronaux. Ceci peut être réalisé par la méthode de régression du signal global. Le signal global est la moyenne spatiale du signal sur tous les pixels au cours du temps. La régression du signal global consiste alors en la suppression de ce signal moyen sur la série temporelle de chaque pixel au moyen d'une régression linéaire. Cependant, son utilisation en IRMf est débattue car elle peut entraîner l'apparition d'anti-corrélations dans les signaux sans réel fondement physiologique [18].

3.1.4. Objectifs du chapitre

La connectivité à l'état de repos est particulièrement intéressante pour l'évaluation et le suivi de pathologies cérébrales néonatales puisqu'elle ne nécessite pas d'interaction avec le nouveau-né (pas de stimulation sensorielle, pas de tâche appelant une commande motrice, etc) et peut donc être mesurée dès la naissance. Avant de s'intéresser aux données cliniques, nous nous sommes d'abord intéressés à l'évaluation de la connectivité cérébrale à l'état de repos pour **deux modèles précliniques d'altérations cérébrales néonatales subtiles**, développés par l'équipe de Pierre Gressens (NeuroDiderot) à l'Hôpital Robert Debré chez des souriceaux.

La première étude (section 3.4) cherche à évaluer **l'impact d'une inflammation systémique postnatale** sur la connectivité. Les acquisitions fUS ont été réalisées, dans un plan sagittal, chez des souriceaux nés par voie basse, à P30, sur deux groupes : un groupe contrôle (PBS, n=25) et un groupe ayant reçu des injections d'interleukin-bêta-1 afin d'imiter une inflammation systémique postnatale (IL1, n=24).

La seconde étude (section 3.5) cherche à évaluer **l'effet d'une naissance par césarienne, combinée ou non à une inflammation postnatale** (même modèle que la première étude), sur la connectivité. Cette fois quatre groupes ont été imagés en imagerie fUS dans un plan coronal : un premier groupe contrôle de souris nées par voie basse et sans injection d'IL1 (VB-PBS, $n = 12$), un deuxième groupe de souris nées par césarienne et sans injection d'IL1 (C-PBS, $n = 13$), un troisième groupe voie basse et avec injections d'IL1 (VB-IL1, $n = 10$) et un quatrième groupe césarienne et avec injections d'IL1 (C-IL1, $n = 13$).

Pour ces deux études nous nous attendons à des altérations subtiles de la connectivité cérébrale, puisque les modèles sont des évènements relativement répandus d'un point de vue clinique. Nous avons donc dû proposer à la fois de nouvelles **techniques de prétraitement** des données, afin de supprimer de manière plus adéquate les artéfacts contenus dans les données fUS, et également, des **techniques d'analyse de la connectivité** plus fines, pour décrire ces différences subtiles. Nous allons utiliser les données des deux études pour illustrer ces techniques pour l'analyse de **connectivité statique** en section 3.2 et pour l'analyse de **connectivité dynamique** en section 3.3.

3.2. Développement de méthodes d'évaluation de la connectivité fonctionnelle statique

3.2.1. Prétraitement du signal fUS pour la connectivité statique

Il est important de noter que les étapes de prétraitement désignées dans ce chapitre s'effectuent sur le signal CBV, nous nous plaçons donc **après filtrage spatio-temporel par SVD du signal IQ** (cf section 1.3.3) et calcul du Doppler de puissance. L'étape de filtrage par SVD, avec la sélection d'un seuil de filtrage, est primordiale pour bien séparer le signal du sang de celui des tissus et de celui du bruit, et obtenir un signal le moins artéfactuel possible. Chez le rongeur anesthésié, un seuil fixe de 60 permet d'obtenir des images satisfaisantes.

3.2.1.1. *Suppression des images avec artéfacts de mouvements*

Lors d'un mouvement de l'animal ou de la sonde, le seuil SVD choisi n'est pas toujours suffisamment efficace pour séparer correctement le signal du tissu de celui du sang. Des composantes du signal du tissu sont alors encore comprises dans l'image filtrée, ce qui génère une image Doppler de puissance de plus forte intensité. En calculant le CBV moyen des images Doppler de puissance (=moyenne sur tous les pixels) au cours du

temps, un artefact de mouvement se manifeste généralement par un pic de forte intensité (Figure 52).

Il est alors possible de repérer automatiquement **les images avec artefacts de mouvements** en détectant les pics supérieurs à trois fois l'écart-type du CBV moyen afin de les supprimer, comme décrit par Urban et *al.* [19] chez le rat en déplacement libre. D'autres techniques de détection existent, par exemple Rabut et *al.* [16] combinent le seuillage sur les signaux Doppler (fixé à $\pm 10\%$ de la médiane) à l'utilisation d'un estimateur de vitesses dans les tissus pour lequel un seuil est choisi à $\pm 10\%$ de la valeur de référence.

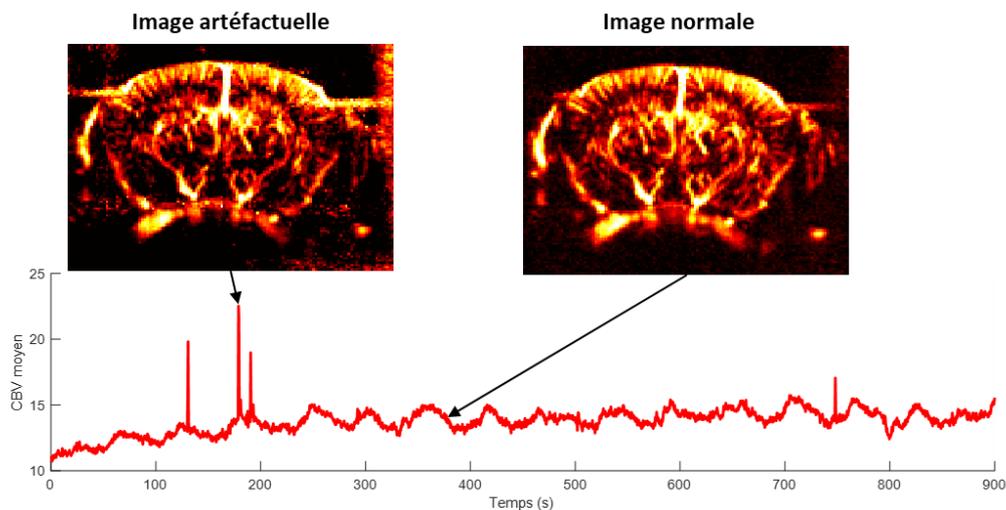


Figure 52. Illustration d'artefacts de mouvements présents dans un enregistrement d'imagerie fUS d'une souris. En rouge, le signal moyen CBV de toute l'image est tracé. On remarque qu'au niveau des pics, des artefacts sont présents sur les bords de l'image (forte intensité en dehors du cerveau).

Dans le cadre de nos études précliniques chez la souris anesthésiée, la **méthode de détection avec l'écart-type a été choisie**, car elle permet de supprimer de manière satisfaisante les artefacts de mouvements très ponctuels généralement dus à des mouvements, non pas de l'animal, mais de la sonde (perturbations mécaniques de la table d'expérimentation ou vibrations mécaniques, ...)

Une fois les artefacts supprimés, il faut filtrer temporellement le signal de chaque pixel pour s'assurer que les fluctuations mesurées correspondent bien à la connectivité spontanée à l'état de repos.

3.2.1.2. Filtrage temporel des fluctuations du CBV

Dans leur preuve de concept Osmanski et *al.* [13] ont montré, chez le rat anesthésié, la présence d'un pic de la densité spectrale de puissance du signal fUS pour une composante

basse fréquence centrée autour de 0.1 Hz correspondant à la bande de fréquence de la connectivité fonctionnelle [1]. À la suite de leurs observations, ils ont utilisé un filtre passe-bande entre 0.05 et 0.2 Hz pour supprimer les potentielles dérives de la ligne de base et le bruit. Les études suivantes d'imagerie fUS chez le rongeur ont également choisi de garder cette bande de fréquence au moyen soit d'un filtre passe-haut à 0.05 Hz [19] soit d'un filtre passe-bande [15], ou encore d'un filtre passe-bas à 0.2 Hz combiné à une suppression des tendances linéaires [16]. Chez le nouveau-né humain Demené et *al.* [20] ont utilisé un filtre Butterworth passe-haut d'ordre 5 avec une fréquence de coupure à 0.02 Hz, leur observation montrant une densité spectrale discriminante des phases de sommeil entre 0.05 et 0.1 Hz.

En IRMf, la bande de fréquence [0.01 et 0.1] Hz est généralement utilisée pour les études de connectivité à l'état de repos. Cependant, les oscillations du signal BOLD autour de 0.1 Hz posent la question de leur origine vasculaire (vasomotricité) ou neuronale [21]. De nombreuses études utilisent alors une bande de fréquence entre 0.01 et 0.08 Hz afin de s'assurer de retirer toute composante vasculaire [22].

En fUS, la **corrélacion entre le signal CBV et le taux d'excitation des neurones** a été confirmée chez la souris éveillée pour des fréquences inférieures à 0.3 Hz par Nunez-Elizalde et *al.* [23] en mesurant simultanément le signal fUS et l'activité neuronale avec des sondes Neuropixels (Figure 53). La cohérence spectrale, c'est-à-dire la corrélation en fonction de la fréquence, s'est révélée **plus importante entre 0.01 et 0.1 Hz**.

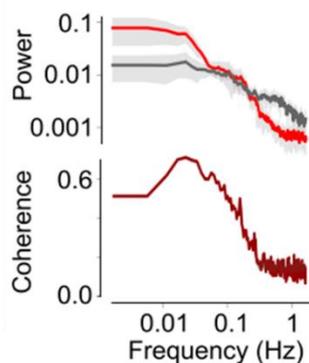


Figure 53. **Corrélation entre le signal fUS et l'activité neuronale.** En haut, les puissances spectrales du fUS (rouge) et des tirs neuronaux (gris) moyennés sur différentes acquisitions. La bande grise représente l'écart absolu médian. En bas, la cohérence spectrale (corrélations des signaux en fonction de la fréquence) des signaux est affichée. (D'après Nunez-Elizalde et al.[23])

Pour nos études, nous avons décidé d'appliquer un filtre Butterworth passe-haut d'ordre 4 de fréquence de coupure 0.01 Hz et un filtre Butterworth passe-bas d'ordre 4 et de fréquence de coupure 0.1 Hz au signal de chaque pixel de l'image.

3.2.1.3. Normalisation et moyennage

Une fois filtré, le signal de chaque pixel est **normalisé temporellement**, ce qui permet de donner le même poids à chaque pixel. Ainsi, la contribution d'un pixel avec une forte intensité et celle d'un pixel avec une faible intensité seront équivalentes.

Enfin, après sélection des zones d'intérêt sur un atlas adapté (Allen pour la souris), on **moyenne les signaux des pixels sur chaque zone** pour obtenir un signal temporel moyen par zone d'intérêt qui sert de base pour l'analyse de connectivité.

3.2.2. Analyse de la connectivité statique

L'analyse de connectivité dite « statique » cherche à donner une évaluation globale sur un temps long (entre 10 et 20 minutes) de l'état cérébral dans lequel se trouve le sujet de l'étude lors d'une acquisition à l'état de repos.

Afin d'évaluer la connectivité statique, le signal moyen CBV de chaque zone d'intérêt est corrélé avec les signaux CBV moyens des autres signaux. Les coefficients des corrélations de Pearson obtenus sont rangés dans une matrice de corrélation comme montré Figure 51.

Dans un premier temps, nous souhaitons étudier la différence de **connectivité globale** entre deux groupes. Pour cela, nous calculons d'abord la matrice de connectivité moyenne, c'est-à-dire les valeurs moyennes de chaque coefficient, pour chacun des deux groupes. Nous appliquons ensuite une transformation de Fisher (ou transformée en Z) aux coefficients des matrices de connectivité moyenne. La **transformation de Fisher** permet de s'assurer que la population des coefficients de corrélation suit en première approximation une distribution normale. Pour un coefficient de corrélation r donné, sa transformée de Fisher $z(r)$ vaut :

$$(Eq 14.) z(r) = \frac{1}{2} \ln \frac{1+r}{1-r}$$

La différence entre les deux (e.g. groupe A et groupe B) matrices Z-transformées est alors calculée, et l'on teste si l'ensemble des coefficients de cette matrice différence a une moyenne positive (connectivité plus forte chez A que B) ou négative (connectivité plus faible chez A que B) (t-test).

Dans un second temps, nous voulons nous intéresser à la **connectivité de zones spécifiques**. On peut comparer une matrice de connectivité à un graphe pondéré dont chaque sommet serait une zone cérébrale et chaque arête aurait un poids correspondant à la valeur du coefficient de corrélation entre les deux zones. À partir de cette hypothèse on peut alors utiliser les différentes mesures utilisées en théorie des graphes pour comparer des réseaux [24][25]. Par exemple, la force d'un sommet se définit alors comme la somme des poids des arêtes liées à ce sommet. On peut définir de manière similaire la **force de connectivité de la $i^{\text{ème}}$ zone cérébrale (FCZ_i)** de notre matrice, comme la moyenne des coefficients de corrélations avec les autres zones de la matrice (zone i exclue). Pour chaque matrice de connectivité individuelle M , en notant $m_{i,j}$ le coefficient de la matrice correspondant à la corrélation entre la $i^{\text{ème}}$ et $j^{\text{ème}}$ zone, on alors :

$$(Eq\ 15.)\ FCZ_i = \frac{1}{n-1} \sum_{j \neq i} m_{i,j}$$

Une mesure équivalente a été définie et utilisée par Chiarelli et *al.* [26] pour une étude de connectivité chez le nouveau-né. Après application d'une transformée de Fisher aux valeurs de force de connectivité, un t-test est appliqué pour tester statistiquement la différence des moyennes entre les groupes.

3.3. Développement de méthodes d'évaluation de la connectivité fonctionnelle dynamique

La majorité des études de connectivité fonctionnelle sont des études de connectivité « statique », c'est-à-dire calculant les corrélations entre zones cérébrales sur les quelques minutes que dure l'acquisition, sans considérer des échelles de temps plus courtes. Cependant, si on regarde, par exemple, plus précisément les fluctuations du CBV entre deux zones au cours du temps, on remarque que les signaux sont plus corrélés sur certaines périodes et moins corrélés sur d'autres.

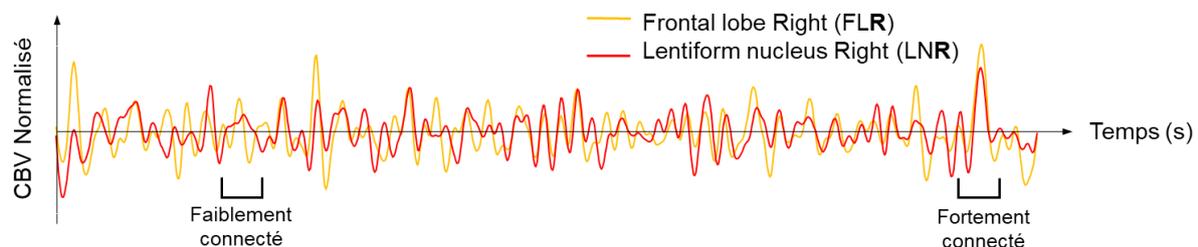


Figure 54. **Vers l'analyse de connectivité dynamique.** Sur le tracé du CBV normalisé après prétraitement pour deux zones cérébrales distinctes (en jaune le lobe frontal droit et en rouge le noyau lentiforme droit), on remarque que certaines plages de temps semblent plus corrélées que d'autres.

Nous pouvons alors émettre **l'hypothèse que l'activité cérébrale est décrite par une succession d'états de connectivité cérébrale**. Afin de décrire ce caractère dynamique il est essentiel d'avoir 1/ un prétraitement permettant de conserver la continuité du décours temporel du CBV et 2/ une méthode d'analyse permettant de décrire des états de connectivité sur des temps courts.

3.3.1. Prétraitement par analyse canonique des corrélations

Puisque nous souhaitons désormais étudier l'enchaînement d'états cérébraux, il est préférable d'avoir un prétraitement permettant de garder un décours temporel continu. Dans cette section, nous présentons une technique de débruitage par **analyse canonique des corrélations** (« *Canonical Component Analysis* » CCA), permettant de conserver un décours temporel continu tout en supprimant les artefacts de mouvements et les artefacts physiologiques globaux qui ne sont pas liés à l'activité neuronale.

3.3.1.1. Théorie de l'analyse canonique des corrélations

Soient deux jeux de données représentés par des matrices X et Y de dimensions respectives $t \times n_x$ et $t \times n_y$. Elles ont donc un nombre différent de variables (n_x, n_y) mais un même nombre d'observations(t).

L'analyse canonique des corrélations (CCA) cherche à déterminer les coefficients de la combinaison linéaire de chaque jeu de données qui maximisent la corrélation entre les deux combinaisons linéaires. Concrètement, ces coefficients vont être rangés dans deux matrices de transformation U et V. La première colonne de ces matrices correspond aux coefficients de la combinaison linéaire qui maximise la corrélation. La colonne suivante donne les coefficients d'une combinaison linéaire qui maximise la corrélation tout en étant orthogonale à la première colonne et ainsi de suite. Mathématiquement, on cherche les premières colonnes u_1, v_1 telles que

$$\max_{u_1, v_1}(\text{corr}(Xu_1, Yv_1))$$

Autrement dit, la CCA permet de trouver une nouvelle base commune pour décrire deux jeux de données qui peuvent être de natures différentes (e.g. différentes modalités d'imagerie).

La CCA et ses différentes variantes sont largement utilisées dans le domaine des neurosciences, car elles permettent de faire **ressortir l'information commune** entre deux modalités d'imagerie, entre une modalité d'imagerie et un phénotype

(comportement, symptômes, génétique, ...) ou encore entre une modalité d'imagerie et un stimulus [27][28][29].

L'application qui nous intéresse est le **débruitage par CCA**, c'est-à-dire la suppression du bruit et des artefacts du signal brut enregistré. Elle a été utilisée par exemple pour la suppression d'artefacts musculaires en EEG [30] ou la suppression de bruit physiologique en IRMf [31]. Récemment, elle a été utilisée en imagerie fUS pour la suppression des artefacts de mouvements lors d'une étude sur la représentation des sons naturels chez le furet éveillé [32]. Dans nos travaux, le code implémenté par l'équipe de recherche à l'origine de cette dernière étude a été utilisé, et est disponible à l'adresse suivante : https://github.com/agneslandemard/naturalsounds_analysis.

L'implémentation du débruitage par CCA se décompose en 4 étapes :

1^{ère} étape : Sélection des jeux de données

On sélectionne un premier ensemble de n_x pixels correspondant à notre zone d'intérêt que l'on souhaite débruiter (par exemple les pixels des aires cérébrales étudiées) et que l'on range dans une matrice X de dimension $(n_t \times n_x)$ avec n_t le nombre d'observations temporelles.

De la même manière, on va sélectionner un second ensemble de n_y pixels correspondant à une zone connue pour comporter principalement les artefacts (par exemple des pixels hors cerveau) et que l'on range dans une matrice Y de dimension $(n_t \times n_y)$.

La sélection des zones est importante puisque c'est cette étape qui va forcer la nouvelle base à décrire les artefacts.

2^{ème} étape : blanchiment des données

On réalise d'abord la décomposition en valeur singulière de chaque jeu de données

$$X = U_X S_X V_X^T \text{ et } Y = U_Y S_Y V_Y^T$$

Les données blanchies correspondent alors à

$$\tilde{X} = U_X V_X^T \text{ et } \tilde{Y} = U_Y V_Y^T$$

Cette étape permet de supprimer l'information d'amplitude, autrement dit le « poids » de chaque pixel, permettant ainsi de mettre les deux jeux de données au même niveau (permettant par exemple d'utiliser des signaux de natures différentes lors de certaines applications).

3^{ème} étape : Décomposition en valeur singulière des données blanches concaténées

Les données blanches sont concaténées afin d'appliquer une décomposition en valeur singulière :

$$[\tilde{X}\tilde{Y}] = USV^T$$

4^{ème} étape : Sélection d'un seuil de coupure pour le débruitage

Il reste alors à retirer les premières composantes canoniques contenant l'information commune (théoriquement uniquement les artefacts) de notre signal d'intérêt X. On définit alors un seuil limite *th* pour lequel les composantes canoniques inférieures sont considérées comme des artefacts.

$$X_{débruité} = X - U_Y(:,1:th) \times U(:,1:th)^T \times X$$

3.3.1.2. Exemples d'application du débruitage par CCA sur des données fUS

Pour illustrer l'effet du débruitage par CCA, prenons l'exemple d'une acquisition sur une souris appartenant à l'étude sur l'inflammation et la naissance par césarienne.

La zone d'intérêt dans notre cas est constituée des pixels du cerveau et plus précisément des aires cérébrales sélectionnées (cortex somatosensoriels primaires, hippocampes, thalamus, hypothalamus, droit et gauche).

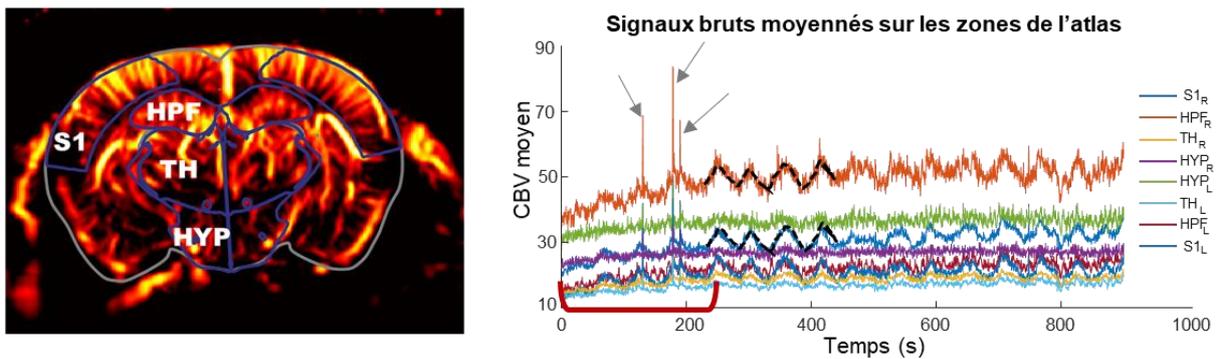


Figure 55. Image Doppler du cerveau de souris avec une superposition des aires cérébrales d'intérêt (S1 = cortex somatosensoriel primaire, HPF = hippocampe, TH = thalamus, HYP = hypothalamus). Les signaux bruts du CBV moyen de chaque zone définie sont tracés à côté. On remarque 3 types d'artefacts : pics (flèches grises), fluctuations très lentes de l'augmentation de la tendance globale (sur la période délimitée par l'accolade rouge), fluctuations plus rapides contenues dans toutes les zones (tracés en pointillés noirs).

On remarque dans les tracés des CBV moyens sur la Figure 55 **plusieurs artéfacts** :

- Les pics correspondants probablement à un mouvement (flèches grises)
- Une augmentation de la tendance globale (entre 0 et 200 s, accolade rouge), potentiellement liée à la profondeur de l'anesthésie
- Des fluctuations plus rapides qui semblent se retrouver parmi la majorité des aires cérébrales (tracés en pointillés noirs), d'une fréquence d'environ 0.018 Hz

La **zone artéfactuelle** peut être définie de plusieurs manières. En prenant **uniquement les pixels hors du cerveau** comme sur la Figure 56, l'algorithme va retirer les **artéfacts extérieurs** liés par exemple aux mouvements de la sonde ou à des vibrations.

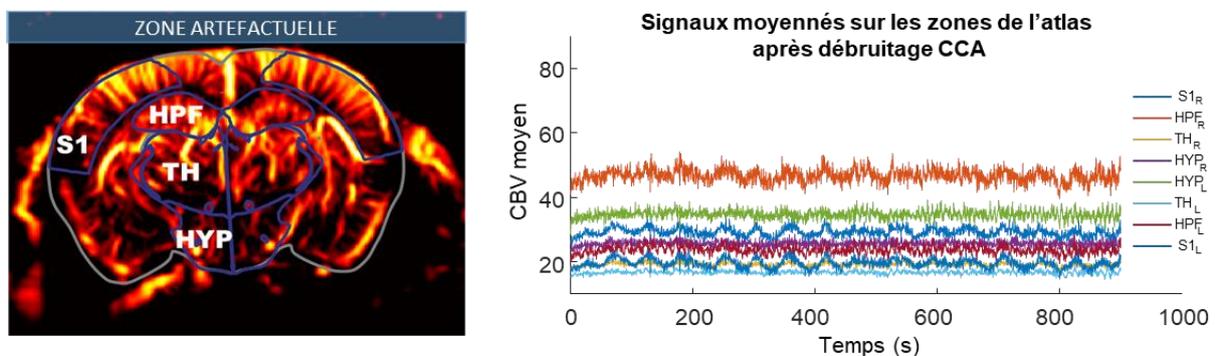


Figure 56. Définition d'une première zone artéfactuelle comprise entre la sonde et le cerveau (en bleu). Les signaux du CBV moyen de chaque zone de l'atlas après débruitage par CCA sont tracés à côté. Seuls les pics d'artéfacts de mouvements ont bien été débruités. (S1 = cortex somatosensoriel primaire, HPF = hippocampe, TH = thalamus, HYP = hypothalamus)

Cette première sélection de zone artéfactuelle permet uniquement de débruiter les artéfacts de « pics ». Un avantage notable est que le débruitage de ces pics se fait sans suppression des images correspondantes, le décours temporel originel est conservé, contrairement aux méthodes classiques de détection et suppression des pics.

Il est également possible de choisir d'inclure dans la **zone artéfactuelle les pixels appartenant aux gros vaisseaux en périphérie du cerveau** comme dans la Figure 57. Nous pouvons supposer qu'ils sont suffisamment gros pour ne pas contenir d'information de connectivité liée au couplage neurovasculaire et qu'ils contiennent uniquement l'information de processus physiologiques vasculaires d'auto-régulation, de pulsatilité cardiaque ou liés à la profondeur de l'anesthésie.

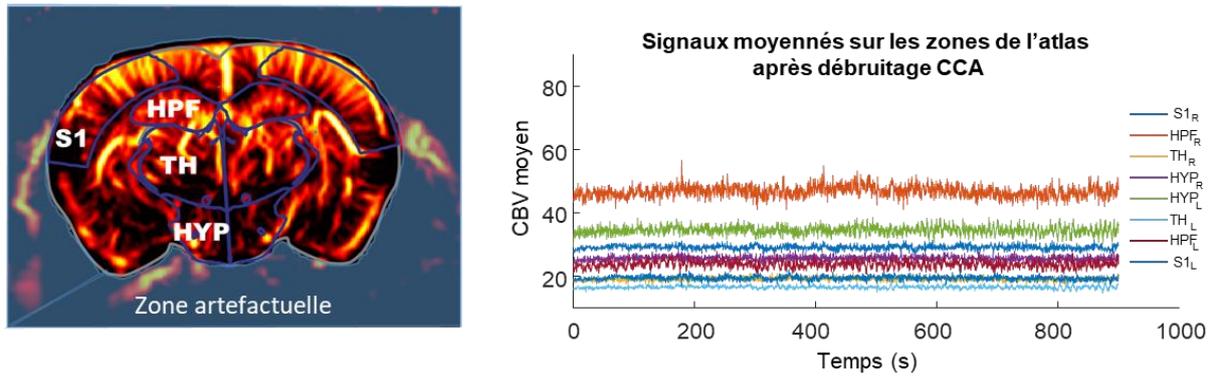


Figure 57. Définition d'une deuxième zone artéfactuelle comprenant des gros vaisseaux périphériques (en bleu) avec les signaux du CBV moyen de chaque zone de l'atlas après débruitage par CCA tracés à côté. Cette fois, l'ensemble des 3 types d'artéfacts a pu être supprimé. (S1 = cortex somatosensoriel primaire, HPF = hippocampe, TH = thalamus, HYP = hypothalamus)

Cette fois, on remarque que l'algorithme a réussi à supprimer les 3 types d'artéfacts identifiés Figure 55 sans modifier la phase des signaux dans la bande de fréquence d'intérêt [0.01 0.1] Hz (Figure 58, en haut). Pour confirmer ces observations, on réalise également une analyse spectrale, avant et après CCA, en estimant la densité spectrale de puissance par la méthode de Welch (fonction MATLAB 'pwelch'), pour les 8 zones d'intérêt. En comparant les moyennes des densités spectrales de puissance, avant et après CCA, on montre que la CCA supprime bien les fluctuations très basses fréquences (<0.01Hz) et diminue la densité spectrale pour la fréquence de 0.018 Hz qui correspond à l'artéfact identifié en tracé pointillé Figure 55, tout en préservant des composantes semblables dans la bande de fréquence d'intérêt [0.01 0.1] Hz (Figure 58, en bas).

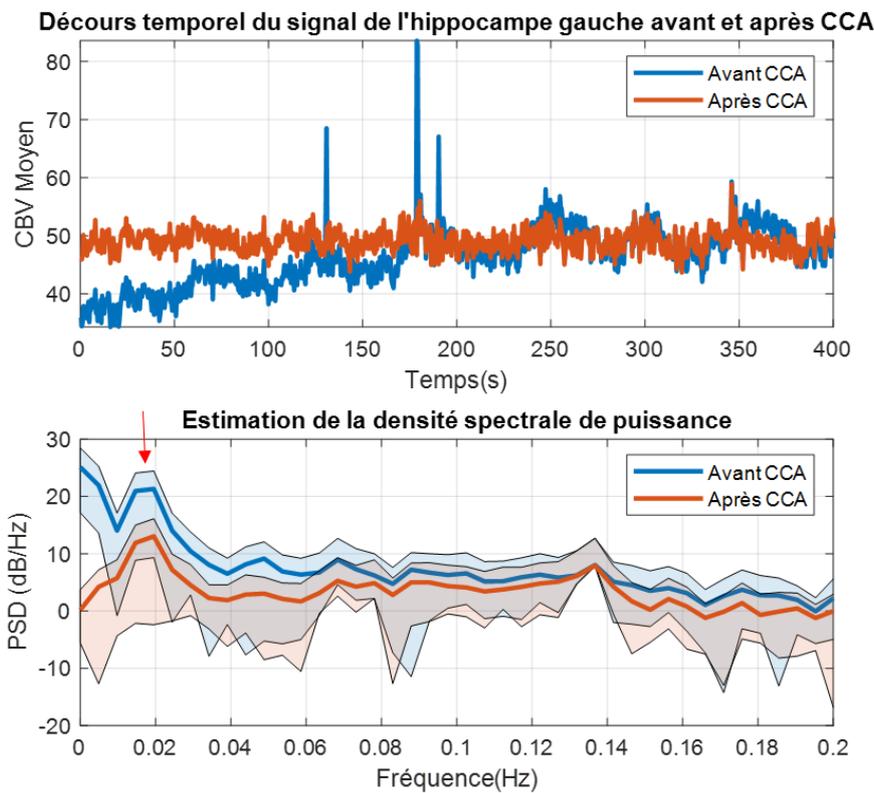


Figure 58. Comparaison du signal de la zone de l'hippocampe gauche avant (en bleu) et après (en orange) débruitage par CCA. En haut, les signaux moyens CBV avant et après CCA sont zoomés sur la plage temporelle entre 0 et 400 secondes. En bas, l'estimation de la densité spectrale de puissance moyenne sur les 8 zones, avant et après CCA, montre qu'on obtient des spectres similaires dans la bande de fréquence d'intérêt [0.01 0.1] Hz, tout en supprimant les très basses fréquences (<0.01 Hz). On remarque également que la densité spectrale de puissance est plus faible pour le pic à 0.018 Hz (flèche rouge), correspondant à l'artéfact identifié Figure 7. Les moyennes sont représentées en trait plein bleu et orange et les bords des zones colorés représentent moyenne \pm un écart-type.

3.3.1.3. Filtrage, normalisation et moyennage par zone

Une fois le débruitage par CCA réalisé, il faut filtrer temporellement le signal de chaque pixel entre [0.01 0.1] Hz pour s'assurer que les fluctuations mesurées correspondent bien à la connectivité spontanée à l'état de repos, le normaliser et le moyenner par zone comme pour la connectivité statique.

3.3.2. Présentation des méthodes d'analyse de la connectivité fonctionnelle dynamique

Plusieurs méthodes d'analyse ont été utilisées pour décrire le caractère dynamique de la connectivité fonctionnelle notamment en IRMf [33] dont 3 sont présentées et comparées lors de l'application pour le fUS dans cette section.

3.3.2.1. Méthode de la « fenêtre glissante »

Une première méthode intuitive, dite de « **fenêtre glissante** », est de sélectionner une petite fenêtre de temps et de calculer les corrélations temporelles entre chaque zone sur cette fenêtre pour obtenir une première matrice de corrélation. On décale ensuite cette fenêtre d'un pas fixé et on calcule les nouveaux coefficients de corrélation, et ainsi de suite (Figure 59). On obtient alors des matrices de corrélation dans le temps, mais avec une **résolution temporelle inférieure à la résolution du signal mesuré**. La méthode de la fenêtre glissante est très utilisée dans les études de connectivité en IRMf [34][35][36].

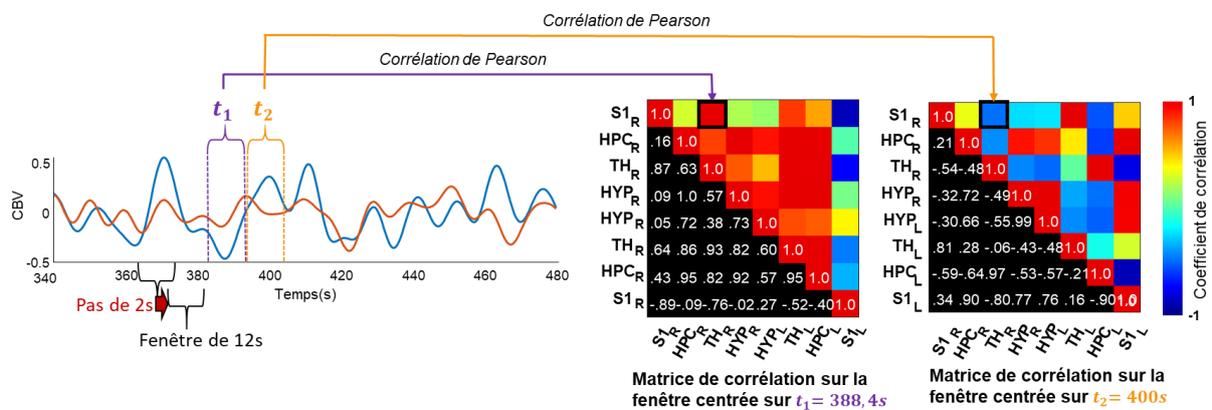


Figure 59. Construction des matrices de corrélation par la méthode de la fenêtre glissante. À partir des signaux CBV de chaque zone (ici le cortex somatosensoriel droit en bleu et le thalamus droit en orange), on va sélectionner une fenêtre temporelle (ici 12 s) et calculer les coefficients de corrélation associés pour construire une matrice de corrélation. On se décale ensuite d'un pas (ici 2 s) et on calcule les nouveaux coefficients de corrélation pour la nouvelle plage temporelle. On répète le processus pour obtenir des matrices de corrélation sur toute l'acquisition.

Cette méthode nécessite de définir **deux paramètres** : 1/ la taille de la fenêtre glissante et 2/ le pas de déplacement de cette fenêtre. Plus la fenêtre est petite et mieux on décrira dynamiquement la connectivité. Il faut toutefois qu'elle soit suffisamment grande pour pouvoir calculer une corrélation significative. Le pas est en général défini plus petit que la taille de la fenêtre pour qu'il y ait un recouvrement afin d'améliorer l'échantillonnage temporel. À l'inverse, un pas très petit (donc un recouvrement important) n'est pas nécessairement utile car il apportera de la redondance dans l'information.

Une fois les matrices calculées pour l'ensemble de l'acquisition de chaque patient, on va chercher des **états globaux** à partir de toutes les matrices. Pour cela, on peut utiliser un **algorithme de partitionnement** (ou *clustering*) tel que celui des K-moyennes.

L'algorithme des K-moyennes est un algorithme itératif qui va permettre de séparer les matrices en K clusters (K fixé par l'utilisateur) et d'obtenir pour chaque cluster une matrice moyenne de connectivité. L'algorithme 'kmeans' implémenté dans MATLAB est utilisé pour cette étape et son implémentation est la suivante :

Initialisation

Définition du nombre de groupe K

Choix aléatoire des K centroïdes

Choix d'une métrique de distance entre les points

Boucle

Tant que : les clusters ne sont pas stables (c'est-à-dire que l'algorithme effectue de nouvelles attributions)

1. Calculer la distance entre l'ensemble des points et chaque centroïde
2. Assigner chaque point au cluster dont le centroïde est le plus proche
3. Calculer la moyenne des observations de chaque cluster pour définir les K nouveaux centroïdes

En sortie de l'algorithme, pour chacune des matrices calculées, une centroïde lui a été attribuée et un enchaînement des K états moyens au cours du temps peut ainsi être défini.

3.3.2.2. Méthode des matrices de phase

Une autre méthode utilisée en IRMf et appliquée à l'imagerie fUS dans deux études [15][37] est celle **d'analyse de phase**. Comme son nom l'indique, au lieu de prendre en compte l'amplitude et la phase du signal, cette méthode va uniquement comparer la phase des signaux mesurés. Concrètement, on extrait d'abord la **phase φ du signal de chaque zone à chaque temps t** en prenant l'argument de la transformée de Hilbert du signal. On calcule ensuite le **cosinus de la différence de phase** entre deux signaux. Cela permet de construire pour chaque temps t une matrice de phase, où chaque coefficient de la matrice vaut alors

$$(Eq\ 16.)\ C_t(i, j) = \cos(\varphi_i(t) - \varphi_j(t))$$

Une matrice de phase rend compte de la **synchronicité des signaux**. En effet, si les signaux des zones i et j sont synchrones alors leurs phases sont égales ($\varphi_i(t) = \varphi_j(t)$) et donc le cosinus de la différence vaudra 1. À l'inverse, si les signaux sont en opposition de phase ($\varphi_i(t) = \varphi_j(t) + \pi$) le cosinus de la différence de phase vaudra -1.

Par rapport à la méthode de la fenêtre glissante, on décrit cette fois tous les états même ceux avec des transitions rapides, voire instantanées. Cependant, l'information liée à l'amplitude est perdue, on mesure ainsi uniquement la synchronicité des signaux dans les aires cérébrales considérées et non leur corrélation.

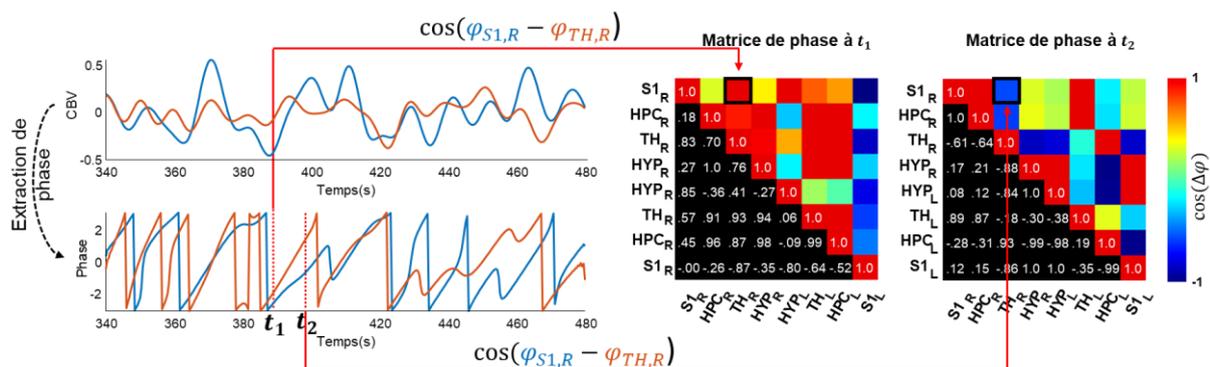


Figure 60. **Construction de matrices de phase.** La première étape est d'extraire la phase de chaque signal CBV moyen des zones de l'atlas. Un exemple est donné pour deux zones cérébrales : le cortex somatosensoriel droit en bleu et le thalamus droit en orange (flèches noires pointillées). Ensuite on calcule, pour un temps t , le cosinus de la différence de phase entre deux zones pour remplir un coefficient de la matrice (flèches rouges). En calculant cette différence pour toutes les paires possibles de zones, on obtient une première matrice de phase et l'on peut recommencer pour chaque temps t .

De la même manière que pour la méthode de la fenêtre glissante, on applique l'algorithme des K-moyennes pour attribuer à chacune des matrices un centroïde qui représente un état moyen de synchronicité.

3.3.2.3. Chaîne de Markov cachée (« Hidden Markov Model » HMM)

Une **chaîne de Markov** se définit comme un processus aléatoire à temps discret que l'on peut représenter par un graphe et qui suit la propriété suivante : **l'état futur dépend uniquement de l'état présent**. Le graphe de la Figure 61 décrit une chaîne de Markov à 3 états (A, B, C) où la probabilité de passage d'un état à l'autre (flèche) est définie uniquement par l'état dans lequel on est.

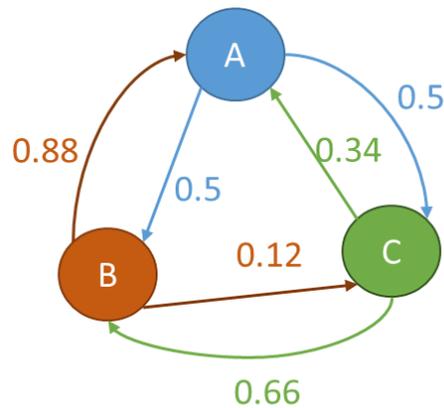


Figure 61. **Grphe représentatif d'une chaîne de Markov**, définie uniquement par son nombre d'états (3 états : A, B et C) et les probabilités de transitions entre chaque état (flèches). Dans cet exemple, les probabilités de rester dans le même état sont nulles.

Les **chaînes de Markov cachées** utilisent ce formalisme des chaînes de Markov, à la différence près que l'on n'a pas directement accès à la succession des états, mais uniquement à une série d'observations liées aux états qu'on souhaite étudier. Par exemple, pour connaître la météo de chaque jour du mois dernier (2 états : Soleil ou Pluie), on peut étudier l'agenda d'un individu qui a noté 3 activités possibles (3 observations : Marche, Shopping ou Ménage)(Figure 62).

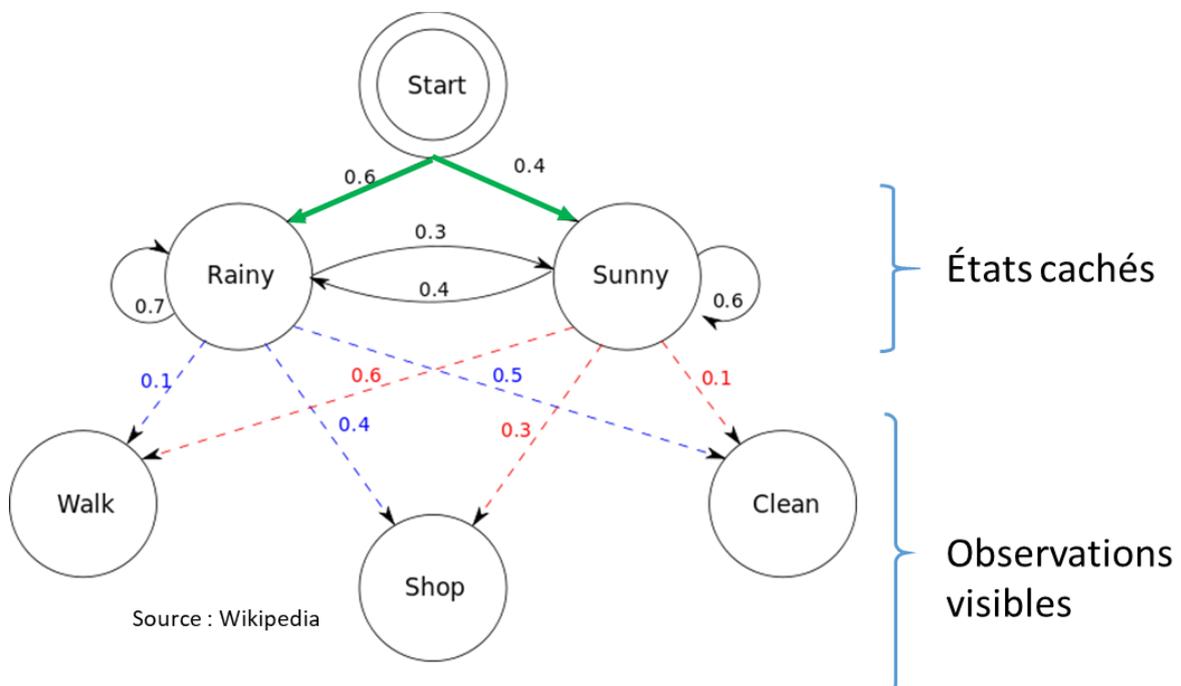


Figure 62. **Une chaîne de Markov cachée** se définit par : un ensemble d'états (Rainy, Sunny), une matrice de probabilité de transitions entre états (flèches pleines noires), une séquence d'observations (Walk, Shop, Clean), les probabilités d'émissions (flèches pointillées), une distribution des probabilités initiales (flèches pleines vertes)(D'après Wikipédia)

Dans notre cas, **les états cachés sont les états de connectivité** (c'est-à-dire les matrices de corrélations recherchées) et **les observations sont les signaux fUS de nos zones d'intérêts**. Chaque état caché est représenté par une distribution gaussienne multivariée décrite par sa moyenne et sa covariance. La dimension de la gaussienne multivariée correspond au nombre de signaux fUS des zones d'intérêts et la covariance représente la matrice de corrélation de l'état de connectivité. On peut alors, à partir de la séquence d'observation et un nombre N d'états possibles, déterminer les paramètres du modèle, c'est-à-dire trouver la matrice de probabilité de transitions entre états et les probabilités d'émissions des états aux observations.

L'algorithme implémenté par Diego Vidaurre et utilisé dans [38] (Toolbox MATLAB HMM-MAR téléchargeable ici : <https://github.com/OHBA-analysis/HMM-MAR>) a été utilisé pour nos analyses.

En sortie de l'algorithme, on obtient N matrices de corrélation correspondant aux états cachés et pour chaque temps t , une probabilité d'être dans ces N états. En ne retenant que l'état avec la probabilité maximale à chaque temps t , on retrouve pour chaque un état unique attribué au cours du temps.

Cette méthode permet à la fois de prendre en compte toute l'information disponible du signal (phase + amplitude) et donc d'obtenir des matrices de corrélation, plus comparables à la littérature, et également d'observer les états avec des transitions rapides puisqu'il s'agit d'une méthode instantanée.

3.3.2.4. Définition des mesures de connectivité dynamique : occurrence, durée des états et transitions entre états

Nous avons vu que les 3 méthodes présentées permettent d'obtenir la succession d'un nombre prédéfini d'états sur une plage de temps donnée, que l'on peut représenter comme sur la Figure 63 (pour 4 états sur une plage de 2000 échantillons temporels).

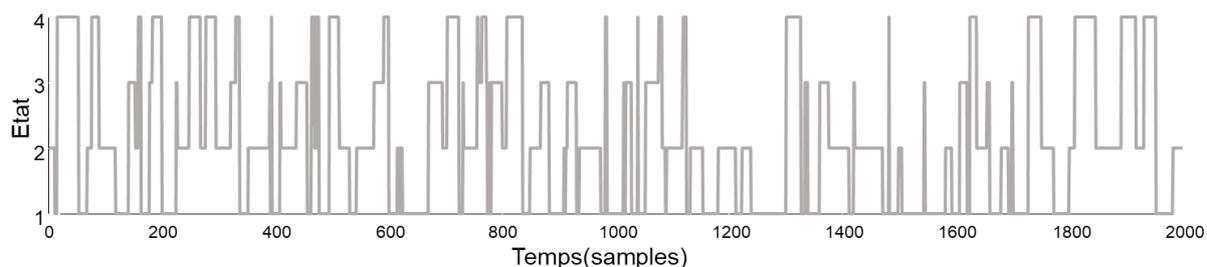


Figure 63. Exemple d'une succession de 4 états au cours du temps. Pour chaque temps t , un seul des quatre états est attribué.

À partir de cette succession, on peut définir plusieurs mesures pour une plage de temps donnée :

- Le **taux d'occurrence** d'un état défini par le rapport du nombre de fois où l'état apparaît (en termes d'échantillon temporel) sur le nombre total d'états sur la plage de temps. Ce taux est donc compris entre 0 et 1.
- Les **probabilités de transitions** entre états. La probabilité de transition d'un état i vers un état j est calculée comme le rapport entre le nombre de transitions de l'état i vers l'état j et le nombre de transitions de l'état i vers l'ensemble des autres états (sans compter les transitions de i vers i , c'est-à-dire les transitions d'un état vers lui-même). On peut alors représenter l'ensemble des probabilités sous la forme d'un graphe orienté. La pointe des flèches indique l'état vers lequel le cerveau transite et la largeur des flèches est proportionnelle à la probabilité de transition.
- La **durée moyenne** d'un état est définie comme la moyenne des durées de l'état sur la plage de temps.

Pour une même occurrence d'états, il peut y avoir plusieurs comportements de transitions entre les états (cf Figure 64), d'où la nécessité de comparer également la durée des états et le changement de transitions entre les états.

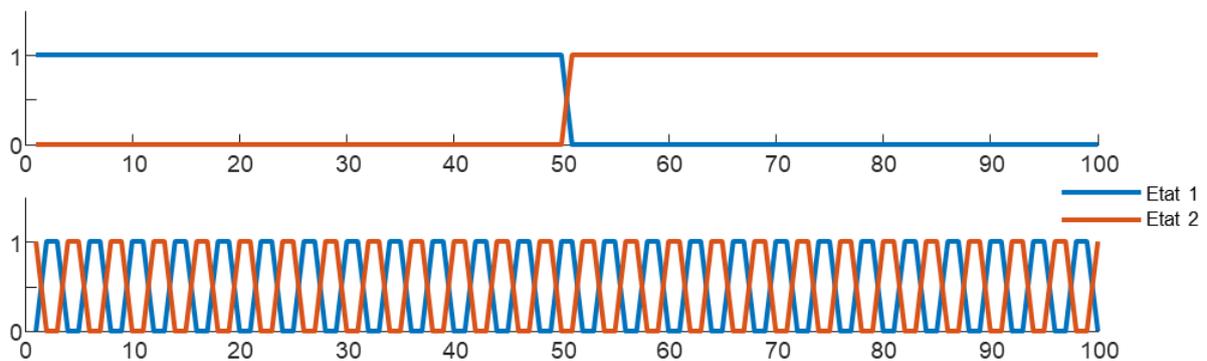


Figure 64. Le **taux d'occurrence** ne suffit pas à décrire la **dynamique des états**. Deux successions hypothétiques de deux états ayant les mêmes occurrences, mais avec des dynamiques différentes. On remarque que la mesure uniquement du taux d'occurrence ne permettrait pas de décrire en détail la dynamique des états.

3.3.3. Comparaison des méthodes d'analyse de connectivité fonctionnelle dynamique

Ces différentes méthodes ont été comparées sur les données de l'étude en section 3.4 évaluant l'effet d'une inflammation systémique postnatale à P30 sur la connectivité fonctionnelle. Les matrices de connectivité sont de dimension 7×7 , car on considère 7 aires cérébrales distinctes et les différents algorithmes sont testés en demandant 4 états moyens cérébraux. Dans cette partie, on cherche à évaluer, pour chaque méthode d'analyse dynamique présentée précédemment, si les états trouvés sont distincts entre eux et si on les trouve de manière robuste lorsque le jeu de données est modifié.

Pour évaluer si les états trouvés par une méthode représentent des **états distincts entre eux** ou non, on peut calculer les **distances interclusters**. On calcule une distance intercluster, comme la **distance de norme 1 entre les centroïdes de deux clusters**. La distance de norme 1 d_1 pour deux matrices $X = (x_{i,j})$ et $Y = (y_{i,j})$ est définie par (Eq 17.):

$$(Eq\ 17.)\ d_1(X, Y) = \sum_i \sum_j |x_{i,j} - y_{i,j}|$$

C'est la distance norme 1 qu'on désigne dans la suite de cette section uniquement par le terme *distance*. Pour cet exemple, comme on a demandé 4 états, on calcule donc 6 distances interclusters pour chaque méthode, représentées par un trait noir entre les états sur la Figure 65 et la Figure 67.

La comparaison des moyennes des distances interclusters pour chaque méthode par ANOVA, montre une moyenne des distances interclusters significativement plus faible pour la méthode HMM que pour les deux autres méthodes ($p < 0.001$ pour les deux). La moyenne de la méthode des matrices de phase est plus grande que celle de la méthode de la fenêtre glissante, en revanche, la différence n'est pas significative ($p = 0.29$). Cette comparaison met en évidence que les états trouvés par HMM sont très peu distincts entre eux comparés aux méthodes des matrices de phase et de la fenêtre glissante.

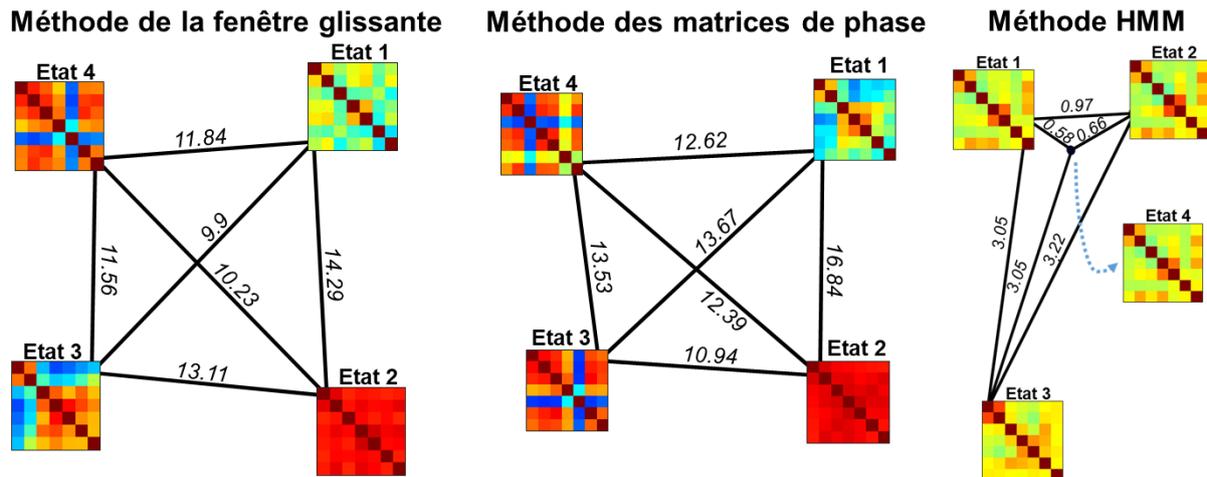


Figure 65. Comparaison des distances interclusters (traits noirs pleins) pour les trois méthodes d'analyse de connectivité dynamique étudiées. Les états sont classés par ordre d'occurrence pour chaque méthode.

Il est intéressant de noter que la méthode de la fenêtre glissante et celle des matrices de phase donnent des états proches visuellement. Il est possible d'associer les états 2 des deux méthodes ensemble et l'état 4 de la fenêtre glissante à l'état 3 de la méthode des matrices de phase. L'état 1 de la méthode des matrices de phase se rapprocherait de l'état 3 de la méthode la fenêtre glissante. Bien que les coefficients des matrices soient de natures différentes (corrélation pour la méthode de fenêtre glissante et cosinus de la différence de phase pour la méthode des matrices de phase), leurs distributions sont toutes les deux comprises entre -1 et 1. On peut donc quand même calculer les distances entre les matrices des deux méthodes pour les comparer aux valeurs des distances interclusters de chaque méthode.

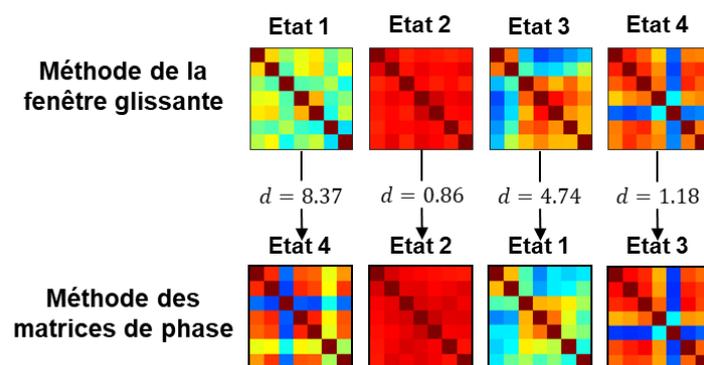


Figure 66. Mesure de la ressemblance des matrices obtenues par la méthode de la fenêtre glissante et par la méthode des matrices de phase. La distance en norme 1 est calculée entre les états des deux méthodes, et les états sont associés pour la distance minimum.

On remarque les distances entre les matrices des deux méthodes sont plus faibles que les distances interclusters. On peut conclure que la méthode de la fenêtre glissante et celle

des matrices de phase semblent donner des résultats semblables, ce qui va dans le sens de l'étude de Pedersen et *al.* [39] en IRMf, qui avait montré que ces deux méthodes étaient comparables à condition de choisir une taille de fenêtre adaptée pour la fenêtre glissante.

Pour évaluer la **robustesse des états** trouvés, une validation croisée « un contre tous » (« *leave-one-out cross-validation* » (LOOCV)) est effectuée. De manière itérative, chaque algorithme est testé sur les données de $n-1$ patients, et les distances entre les nouvelles matrices trouvées par l'algorithme et celles trouvées précédemment sur l'ensemble des n patients sont calculées. Nous comparons alors les distances interclusters à la distance d_{LOOCV} qui correspond à la distance moyenne sur les différentes itérations (Figure 67). Si les distances interclusters sont supérieures à $d_{LOOCV} \pm 3\sigma_{d_{LOOCV}}$ alors nous considérons que les états de base sont définis de manière robuste puisqu'on retrouve à chaque itération des états variant peu par rapport à la distance intercluster.

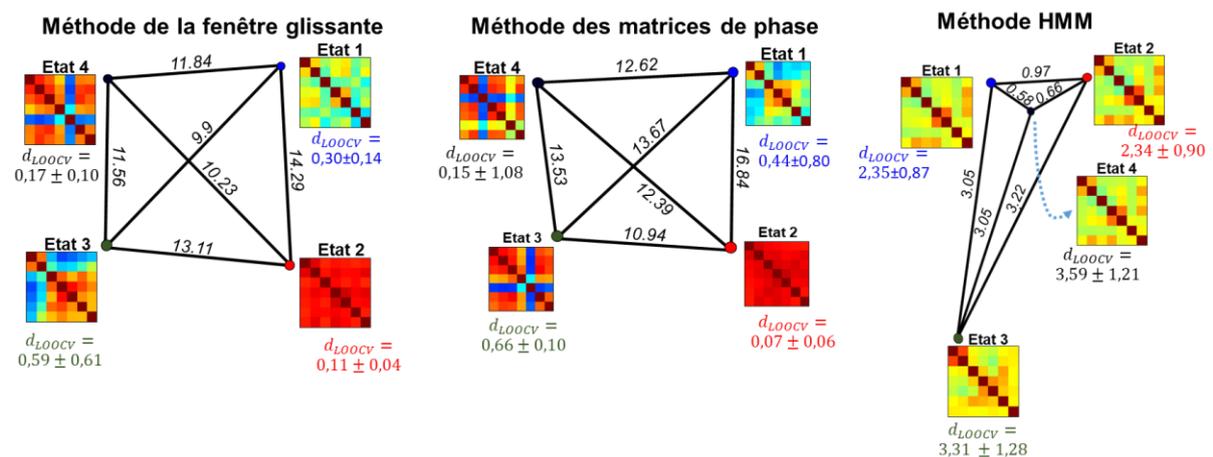


Figure 67. Validation croisée pour les 3 méthodes d'analyse dynamique. Pour chaque état, d_{LOOCV} est la moyenne des distances entre les états trouvés à chaque itération de la validation croisée avec $n-1$ patients et l'état le plus proche calculé avec tous les patients. Une distance d_{LOOCV} importante indiquerait qu'un état n'est pas obtenu pour toutes les itérations et pourrait potentiellement être patient-dépendant par exemple.

Seules les méthodes de matrices de phase et de la fenêtre glissante remplissent toutes les deux ce critère de robustesse au vu des distances rapportées en Figure 67.

En théorie, la méthode HMM aurait pu être préférable, puisqu'elle permet d'obtenir des matrices de corrélations de manière instantanée, mais nous l'avons écarté à cause de son manque de robustesse. Cette variabilité s'explique en partie par la grande variabilité de la méthode d'initialisation de l'algorithme. De plus, le temps de calcul de l'algorithme

est beaucoup plus élevé que celui des méthodes des matrices de phase et de la fenêtre glissante.

Au vu de ces résultats, nous avons choisi pour les analyses suivantes la méthode des matrices de phase qui a l'avantage, par rapport à la méthode de la fenêtre glissante, de ne pas avoir besoin d'optimiser de paramètres pour le calcul des matrices individuelles et d'être instantanée, donc de prendre en compte les transitions rapides de manière plus robuste. De plus, la méthode des matrices de phase permet d'obtenir par la suite une plus faible variabilité pour l'évaluation des occurrences des états.

3.4. Étude d'une inflammation systémique postnatale sur la connectivité fonctionnelle à P30 chez la souris

3.4.1. Protocole

3.4.1.1. Modèle de l'inflammation systémique postnatale

Le modèle d'inflammation systémique postnatale étudié a été développé par l'équipe de Pierre Gressens et consiste en injection répétée pendant la période postnatale (P1 à P5) d'interleukine-bêta-1 (IL-1 β). L'IL-1 β est une molécule sécrétée par diverses cellules responsables de la défense immunitaire telles que les macrophages. Elle est dite « pro-inflammatoire » car elle possède un rôle médiateur important dans les réponses immunitaire et inflammatoire. Elle est notamment impliquée dans le déclenchement de la fièvre en ciblant l'hypothalamus afin d'augmenter la température et donc la division des lymphocytes. Cependant, une mauvaise régulation ou une concentration trop élevée d'IL-1 β peuvent avoir un effet délétère.

L'injection de faibles doses d'IL-1 β de manière régulière pendant la période postnatale provoque une inflammation systémique généralisée, touchant également le cerveau. L'équipe de Pierre Gressens a montré que ce modèle provoque des différences structurelles et métaboliques du cerveau telles qu'une diminution de la myélinisation, une activation microgliale importante ainsi que des différences cognitives impactant notamment la mémorisation [40].

3.4.1.2. Animaux et administration d'IL-1 β

Tous les protocoles ont été approuvés par le comité d'éthique de Paris Nord et le ministère de la recherche (APAFIS#18417-2018121914052786). Sur un total de 3 sessions, n = 49 souriceaux mâles de souche OF1 (Charles River, L'Abresle, France) ont

reçu par voie intrapéritonéale (i.p.), deux fois par jour, du jour postnatal P1 à P5, de l'IL-1 β recombinant de souris (Miltenyi Biotec®) dilué dans du PBS 1X 0,12M (10 ug.kg-1) (groupe IL-1 β n = 24), ou le même volume de PBS 1X seul (groupe contrôle n = 25).

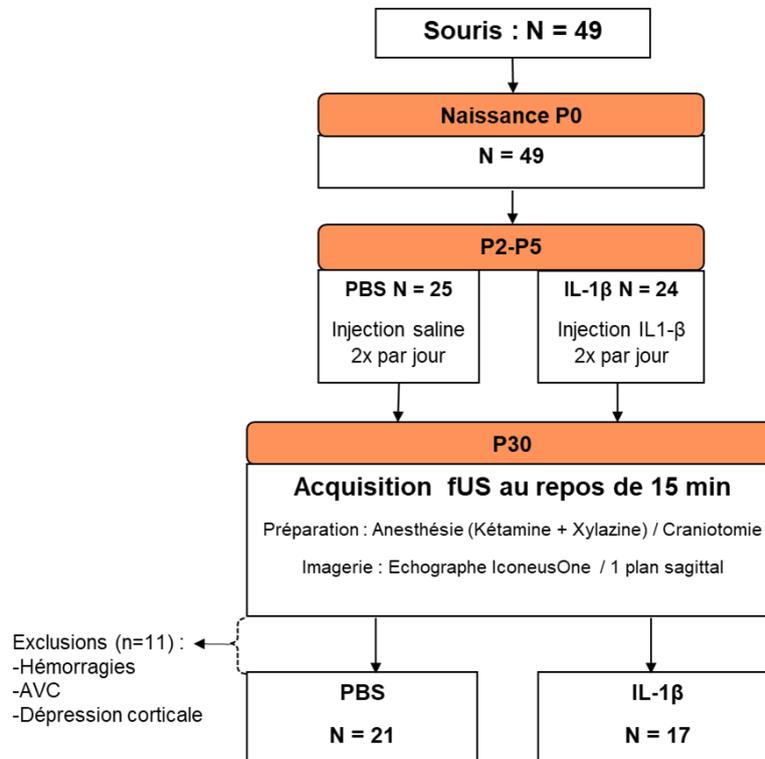


Figure 68. Diagramme de flux du protocole de l'étude de l'effet de l'inflammation par injection d'IL-1 β et de la naissance par césarienne

3.4.1.3. Acquisitions fUS avec l'échographe IconeusOne

Les acquisitions fUS ont été réalisées au jour postnatal P30 à l'Hôpital Robert Debré, par l'équipe de Pierre Gressens, avec l'échographe IconeusOne (Iconeus, Paris, France) et la sonde échographique linéaire IcoPrime (15 MHz, 128 éléments, Iconeus, Paris, France) montée sur un système de moteur 4 axes. Pour les sessions d'imagerie, les souris ont été préalablement anesthésiées par injection intrapéritonéale d'un mélange de Xylazine (15 mg/kg par animal) et Kétamine (75 mg/kg par animal). Les souris étaient ensuite placées sur un cadre stéréotaxique, afin de maintenir leur tête, pour réaliser une craniotomie avant de les imager. Un des intérêts majeurs de l'échographe Iconeus One est la possibilité de recalculer automatiquement les acquisitions sur une référence vasculaire. Cette référence vasculaire est elle-même liée à un atlas IRM fonctionnelle (Allen) permettant ainsi une navigation facile dans le cerveau. Un premier scan 3D antéropostérieur, réalisé grâce au déplacement de la sonde par les moteurs, est nécessaire afin de pouvoir recalculer l'acquisition sur la référence vasculaire, grâce au logiciel Iconeus

inclus dans l'échographe. Une explication détaillée des étapes de recalage et d'utilisation de l'échographe est présente dans [41][42]. La sonde est ensuite placée dans un plan d'intérêt pour 15 minutes d'imagerie fUS 2D. Ici, un plan parasagittal a été choisi pour pouvoir acquérir les données simultanément dans le cortex frontal, l'hippocampe et le cervelet d'un même hémisphère, qui sont des zones d'intérêt identifiées par l'équipe de Pierre Gressens.

3.4.1.4. Prétraitement des données

Le prétraitement consiste en un débruitage par CCA, suivi d'un filtrage passe-bande [0.01 0.1] Hz et d'une normalisation avant moyennage par zone d'intérêt. Les 7 zones sélectionnées sont l'hippocampe (HPC), le thalamus (TH), l'insula agranulaire (Agr. Ins.), le cortex moteur primaire (M1), le cortex sensoriel primaire (S1), le striatum (Str) et le cortex du cervelet (CC) (cf Figure 69) pour l'analyse statique de connectivité et l'analyse dynamique de connectivité par matrices de phase. L'étape de débruitage par CCA a été nécessaire pour l'analyse statique également puisque plusieurs souris présentaient des variations globales du CBV importantes mises en évidence par l'analyse de corrélation du signal moyen de plusieurs zones du cerveau avec l'ensemble des autres pixels.

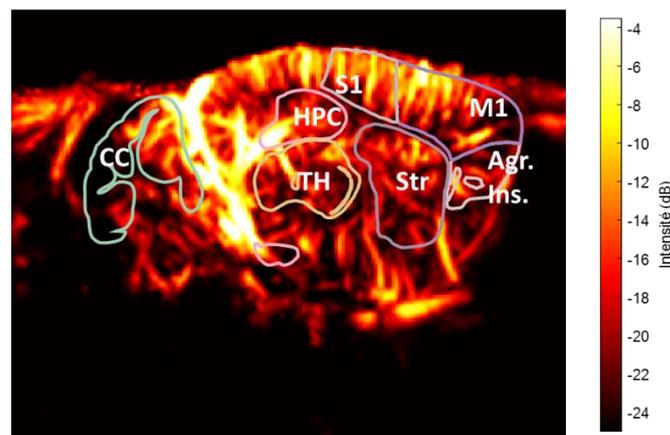


Figure 69. Doppler de puissance en plan sagittal du cerveau d'une souris à P30 avec les zones de l'atlas sélectionnées pour les analyses de connectivité. (S1= cortex somatosensoriel, M1= cortex somatomoteur, TH= thalamus, Str= striatum, CC= cortex du cervelet, HPC = hippocampe, Agr. Ins.= insula agranulaire).

Parmi les 49 souris imagées, 11 ont été exclues car présentant des phénomènes considérés comme altérant de manière trop importante la fonction cérébrale tels qu'une hémorragie, une zone non-vascularisée ou une dépression corticale dus à la chirurgie de la craniotomie. Les dépressions corticales consistent en une vague d'altérations de l'activité cérébrale (à

la fois au niveau neuronal, glial et vasculaire) se propageant lentement (quelques mm/min) de l'arrière vers l'avant du cortex [43].

3.4.1.5. Analyse de connectivité statique

Pour l'**analyse de connectivité statique**, nous calculons d'abord les matrices de connectivité pour chaque individu. Ces matrices sont obtenues en calculant les coefficients de corrélation de Pearson entre les signaux CBV prétraités de chaque zone d'intérêt sur les 14 minutes centrales de l'acquisition.

Dans un premier temps, nous voulons évaluer la **différence globale de connectivité** statique entre les groupes. Pour cela, nous calculons, comme expliqué en section 3.2.2, une matrice de différence globale obtenue en soustrayant les coefficients de la matrice moyenne de connectivité statique Z-transformée du groupe PBS aux coefficients de la matrice moyenne de connectivité statique Z-transformée du groupe IL1. Puis nous vérifions si la moyenne des coefficients de cette matrice de différence (IL1-PBS) est significativement positive ou négative grâce à un t-test unilatéral.

Dans un second temps, nous cherchons à évaluer des **connectivités spécifiques de certaines zones d'intérêts** identifiées par l'équipe de Pierre Gressens. Ces zones sont l'insula agrulaire (appartenant au cortex frontal), l'hippocampe et le cervelet. Nous calculons donc, pour chaque individu, la **force de connectivité** de ces 3 zones comme la moyenne des coefficients de corrélation de la ligne de la matrice associée à chaque zone (d'après l'(Eq 15.)). Nous évaluons alors la différence entre les moyennes de chaque groupe grâce à un t-test.

3.4.1.6. Analyse de connectivité dynamique

Comme nous l'avons vu en section 3.3.3, nous choisissons la méthode des matrices de phases pour l'**évaluation de la connectivité dynamique**. Pour chaque animal, les matrices de phase sont calculées sur les 14 minutes centrales de l'acquisition (soit 2100 matrices) et l'algorithme des K-moyennes est alors appliqué, pour $K = 4$, à l'ensemble des matrices des animaux analysables ($n = 38$), soit un total de 79 800 matrices.

Le choix de 4 états a été fixé comme un compromis entre un nombre suffisamment grand pour décrire plusieurs réseaux cérébraux et un nombre suffisamment petit pour que ces réseaux soient suffisamment globaux. L'algorithme a également été testé avec des K plus grands, ce qui donnaient des conclusions similaires. De plus, pour vérifier que les états trouvés par l'algorithme des K-moyennes donnent une **bonne représentation des**

données, on évalue les **distances moyennes intraclusters**, c'est-à-dire la moyenne des distances entre les matrices d'un cluster et leur centroïde. Si les distances moyennes intraclusters sont plus petites que les distances interclusters, on peut estimer que les états moyens trouvés permettent de bien décrire l'ensemble des états calculés.

La différence des moyennes entre les **taux d'occurrence**, calculés pour chaque groupe, est testée grâce à un t-test, car une répartition gaussienne entre 0 et 1 est attendue. On utilise un test de Mann-Whitney pour évaluer la différence des moyennes des **durées des états**, puisque l'on s'attend à une répartition entre 0 et l'infini.

Les résultats sont présentés sous la forme moyenne \pm écart-type, et une p-valeur inférieure à 0.05 est considérée comme indiquant un effet significatif.

3.4.2. Résultats de connectivité statique

Il est important de noter que pour toute cette étude, l'utilisation d'un plan d'acquisition sagittal, nous permet d'évaluer uniquement la connectivité intrahémisphérique. Par exemple, sur la matrice de connectivité statique moyenne du groupe PBS (Figure 70), on observe de plus forts coefficients de connectivité intrahémisphérique entre l'hippocampe (HPC) et le thalamus (TH) ainsi qu'entre le cortex somatosensoriel primaire (S1) et le cortex somatomoteur primaire (M1). À l'inverse, on note une relative déconnexion du S1 avec le reste de l'hémisphère.

La comparaison entre les deux matrices moyennes semble montrer une plus forte connectivité chez le groupe PBS que le groupe IL-1 β . La moyenne (μ) des coefficients de la matrice de différence (différence des matrices moyennes (IL1 β - PBS)) est significativement négative (t-test, $H_1 = \mu < 0$, $p < 0.001$). La connectivité globale est donc plus faible pour le groupe IL-1 β que le groupe contrôle PBS.

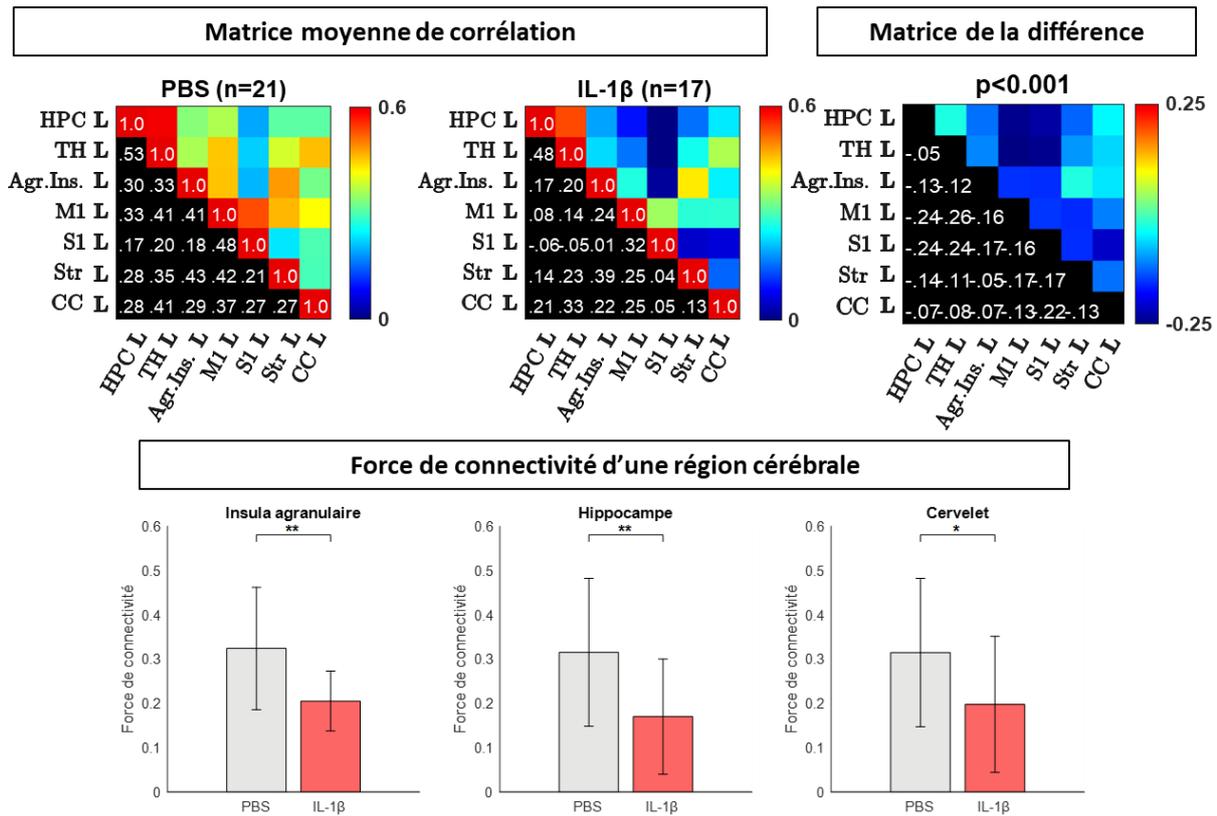


Figure 70. Analyse statique de connectivité entre le groupe contrôle (PBS) et celui traité par **IL-1β**. Les matrices moyennes de corrélation correspondent à la moyenne des matrices individuelles de chaque groupe. La matrice de différence est calculée comme la matrice moyenne Z-transformée IL-1β moins la matrice moyenne Z-transformée PBS. La moyenne des coefficients de la matrice de différence est significativement négative (t-test unilatéral, $p < 0.001$). La force de connectivité de l'insula agrulaire, de l'hippocampe et du cervelet, est significativement plus faible pour le groupe IL-1β comparé au groupe contrôle (t-test à deux échantillons, **: $p < 0.01$, * : $p < 0.05$) (HPC = hippocampe, TH= thalamus, Agr. Ins.= insula agrulaire, M1= cortex somatomoteur, S1= cortex somatosensoriel, Str= striatum, CC= cortex du cervelet).

La force de connectivité est significativement plus faible pour le groupe IL-1β que le groupe contrôle PBS dans la région de l'insula agrulaire (0.21 ± 0.07 vs 0.32 ± 0.14 , $p = 0.0026$), de l'hippocampe (0.17 ± 0.13 vs 0.32 ± 0.17 , $p = 0.0058$) et du cervelet (0.20 ± 0.15 vs 0.31 ± 0.17 , $p = 0.0327$).

L'ensemble de ces résultats semble indiquer une connectivité intrahémisphérique plus faible pour le groupe avec inflammation.

3.4.3. Résultats de connectivité dynamique

3.4.3.1. Résultats : Etats cérébraux

Les 4 centroïdes résultantes de l'algorithme des K-moyennes sont présentées Figure 71, et rangées de gauche à droite par taux d'occurrence décroissant.

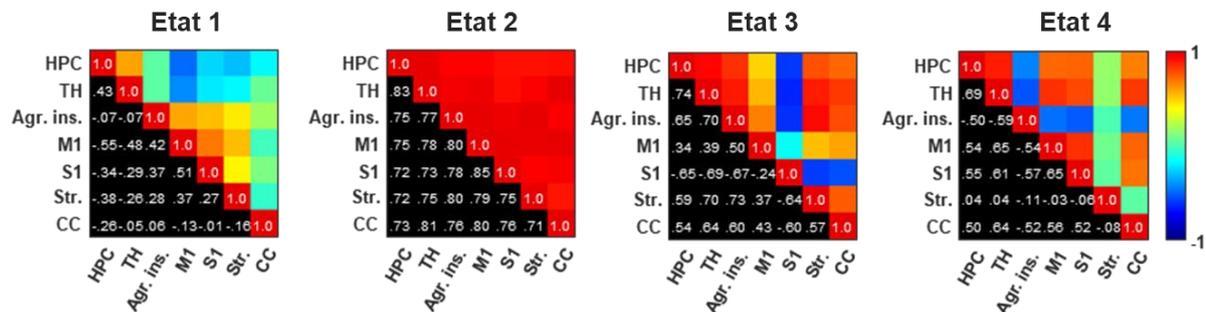


Figure 71. Centroïdes résultantes de l'algorithme des K-moyennes (pour K=4) appliquées aux matrices de phases. Les états sont rangés par ordre d'occurrence décroissant dans l'ensemble du jeu de données. (HPC = hippocampe, TH= thalamus, Agr. Ins.= insula agranulaire, M1= cortex somatomoteur, S1= cortex somatosensoriel, Str= striatum, CC= cortex du cervelet).

L'état 1 représente un état avec une connexion intracorticale modérée, une connexion entre le thalamus et l'hippocampe modérée et une déconnexion entre le cortex et le reste de l'hémisphère. Cet état, qui est le plus souvent présent, semble influencer principalement la connectivité statique. En effet, on remarque que cet état est très proche de la matrice de connectivité statique calculée précédemment. On remarque également l'influence de l'état 3, qui est un état de déconnexion des aires corticales sensorielles et motrices primaires avec le reste de l'hémisphère. L'état 2, état de forte connectivité intrahémisphérique, et l'état 4, état de déconnexion du striatum et de l'insula granulaire avec le reste de l'hémisphère, semblent n'influencer que dans une moindre mesure la connectivité statique.

Ces 4 états donnent une bonne représentation des données puisque dans l'ensemble, pour chaque état, la distance moyenne intraclusteur d_{intra} est plus petite que les distances interclusters associées à l'état (sauf pour l'état 1 et la distance intercluster avec l'état 4)(Figure 72).

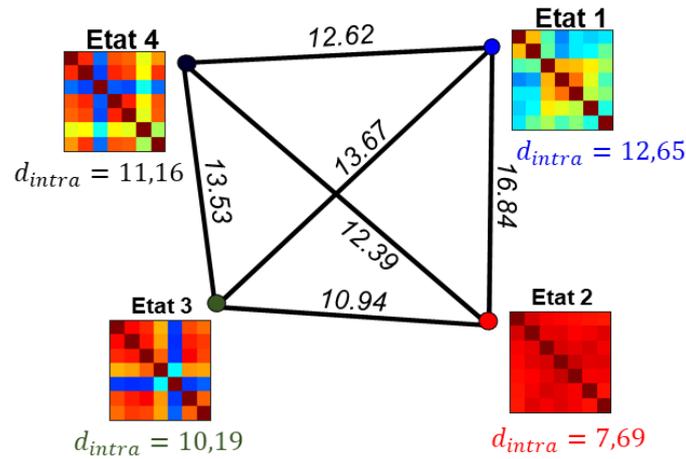


Figure 72. Comparaison des distances interclusters (traits noirs) et intraclusters (d_{intra}). Pour chaque état, d_{intra} est la distance moyenne à l'intérieur du cluster.

3.4.3.2. Résultats : Effet de l'inflammation sur la dynamique des états

L'observation globale des taux d'occurrence entre les deux groupes montre qu'aucun état n'est associé uniquement au groupe IL-1 β , ce qui indique qu'il n'y a pas d'état pathologique spécifique à l'inflammation. Cependant, l'occurrence de chaque état semble être modifiée pour le groupe avec l'inflammation.

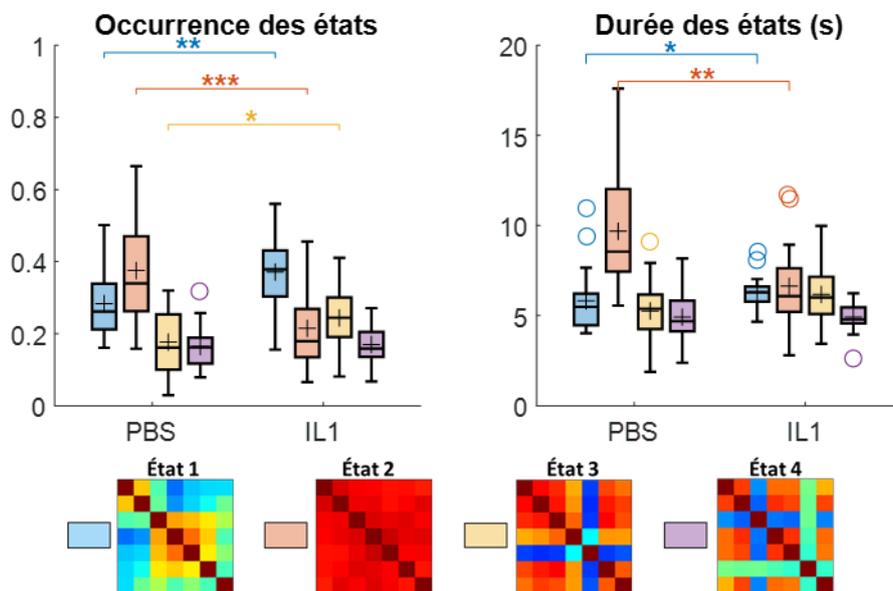


Figure 73. Comparaison des indices de connectivité dynamique entre le groupe contrôle PBS et le groupe IL-1 β . Pour l'occurrence des états, un t-test à deux échantillons a été appliqué (* : $p < 0.05$, ** : $p < 0.01$, *** : $p < 0.001$). Pour la durée de l'état, un t-test de Welch a été appliqué (* : $p < 0.05$, ** : $p < 0.01$, *** : $p < 0.001$).

On remarque sur la Figure 73 que le taux d'occurrence du groupe IL-1 β est significativement plus élevé pour l'état 1 ($p < 0.01$) et l'état 3 ($p < 0.05$) et significativement plus faible pour l'état 2 ($p < 0.001$) comparé au groupe contrôle. Ces différences semblent s'expliquer par une augmentation de la durée moyenne de l'état 1 et une diminution de la durée moyenne de l'état 2. Il semble donc que les animaux du groupe IL-1 β passent plus de temps dans des états avec des déconnexions entre zones cérébrales que les animaux du groupe contrôle.

L'analyse des transitions entre les états montre des différences significatives de probabilité de transition après correction pour comparaisons multiples (False Discovery Rate correction) pour les transitions (Figure 74) :

- état 1 \rightarrow état 2 (diminution des transitions),
- état 3 \rightarrow état 2 (diminution des transitions),
- état 3 \rightarrow état 1 (augmentation des transitions).

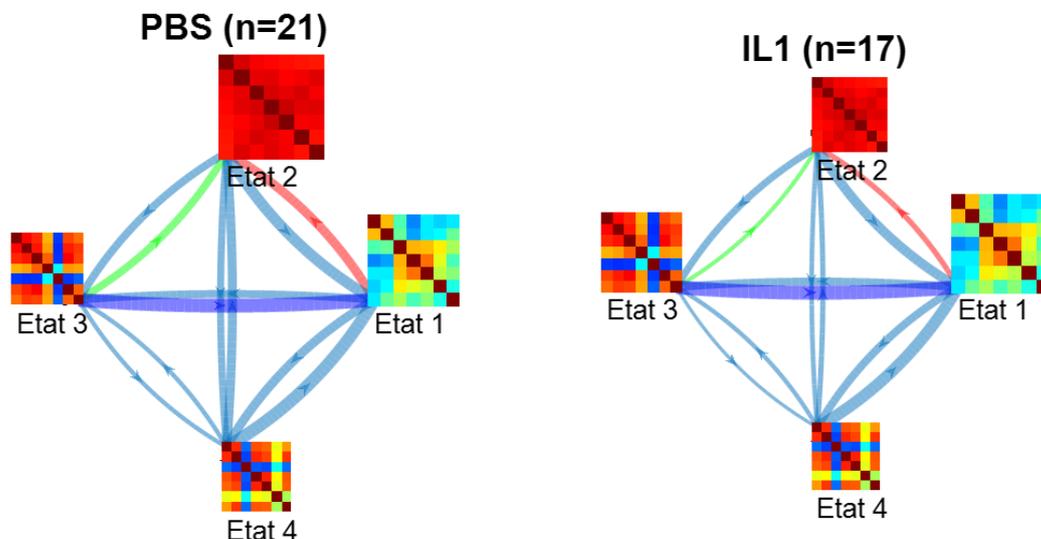


Figure 74. Représentation graphique des probabilités de transitions entre les états pour les deux groupes. Ces probabilités sont calculées sans prendre en compte la probabilité de rester dans le même état. La largeur des flèches est proportionnelle à la probabilité de transition entre les états. Les flèches de couleurs représentent les probabilités de transitions significativement différentes comparées par t-test et corrigées pour comparaisons multiples (FDR) ($p < 0.05$). Seules les probabilités supérieures à 0.2 sont représentées.

L'analyse de transitions entre états vient compléter l'explication de différences d'occurrences des états. En effet, les transitions vers l'état 2 sont moins nombreuses pour le groupe IL-1 β au profit de transitions plus nombreuses vers l'état 1.

Pour résumer, l'augmentation de l'occurrence de l'état 1 pour le groupe IL-1 β s'explique à la fois par une augmentation de la durée moyenne de l'état et par une probabilité plus grande d'aller dans cet état à partir de l'état 3. À l'inverse, la diminution de l'occurrence de l'état 2, s'explique par la diminution de la durée de l'état 2 ainsi qu'une diminution des probabilités à aller dans cet état 2 à partir des états 1 et 3.

L'analyse de connectivité dynamique nous permet d'affiner les premières informations de connectivité observées dans la matrice de connectivité statique. Notamment, les états dynamiques trouvés semblent être une décomposition des états statiques calculés pour chaque groupe. De plus, cette analyse montre que c'est l'enchaînement temporel d'activation de ces états qui semble important plutôt que la présence d'un état pathologique.

3.4.4. Discussion

Ces résultats semblent indiquer que le modèle d'inflammation systémique par injection d'IL-1 β diminue la connectivité fonctionnelle mesurée à P30, un âge correspondant, chez la souris, à la fin de l'enfance, avant la puberté. Ces résultats sont en accord avec une étude où l'inflammation systémique par injection d'IL-1 β était combinée à un retard de croissance utérin et pour laquelle le fUS avait permis de montrer une réduction de la connectivité inter- et intra-hémisphérique et une altération du comportement (Open-field) et des capacités cognitives (Y-labyrinthe) à P28 [17]. Les défauts de myélinisation observés dans ce modèle d'inflammation pourraient expliquer cette différence de connectivité.

De nombreuses études cliniques et précliniques montrent un lien entre une inflammation systémique postnatale, un développement cérébral anormal postnatal et des altérations comportementales et cognitives dans l'enfance [44][45]. Cependant, les mécanismes mis en jeu ne sont pas encore connus en détail. L'utilisation de l'imagerie fUS pourrait venir compléter la compréhension de ces mécanismes par l'évaluation régulière de la connectivité cérébrale dès le plus jeune âge.

À ce jour, peu d'études se sont intéressées à la mesure de la connectivité fonctionnelle résultante d'une inflammation systémique postnatale, mais des altérations de la connectivité ont été détectées dans des modèles de **neuroinflammation postnatale aigüe** (due à une infection bactérienne ou virale) ou **d'inflammation maternelle**. Par exemple, l'injection de lipopolysaccharide (LPS) dans le corps calleux de rats au jour postnatal P3, qui imite une neuroinflammation aigüe due à infection bactérienne, a

notamment montré une réduction de la connectivité dans le cortex à P25, mesurée par imagerie optique [46]. Une altération de la connectivité, chez des macaques infectés par le virus Zika en période postnatale (P28), a également été montrée par IRMf [47], en particulier une diminution de la connexion amygdale-hippocampe dans l'hémisphère gauche. Rudolph et *al.* [48] ont montré une association entre la connectivité des nouveau-nés évalués par fMRI, la concentration maternelle en IL-6 (qui est un marqueur de l'inflammation) et la performance à des tests de mémoire à l'âge de 2 ans.

À l'inverse d'une augmentation de l'activité microgliale du modèle IL-1b, une étude a montré qu'un déficit en microglie, induit par une suppression des récepteurs Cx3cr1 chez des souris transgéniques, provoque une diminution de la connectivité fonctionnelle mesurée par potentiel de champ local (LFP) et une modification des interactions sociales [49]. La **régulation de l'activité microgliale** semble être un élément clé du déclenchement des troubles neurodéveloppementaux et par conséquent une cible thérapeutique possible [50].

3.5. Étude d'une naissance par césarienne et d'une inflammation postnatale sur la connectivité à P30 chez la souris

3.5.1. Protocole

3.5.1.1. Animaux : naissances et administration d'IL-1 β

Tous les protocoles ont été approuvés par le comité d'éthique de Paris Nord et le ministère de la recherche (APAFIS#18417-2018121914052786). Sur un total de 3 sessions, n = 48 souriceaux mâles de souche OF1 (Charles River, L'Abresle, France) sont nés soit de manière naturelle par voie basse (VB) (n = 22) soit par césarienne (C) (n = 26). Dans chaque groupe, certaines souris ont reçu par voie intrapéritonéale (i.p.) deux fois par jour, du jour postnatal P1 à P5, de l'IL-1 β recombinant de souris (Miltenyi Biotec®) diluée dans du PBS 1X 0,12M (10 ug.kg-1) (groupe C-IL1 n = 13, VB-IL1 n = 10), ou le même volume de PBS 1X seul (groupe C-PBS n = 13, VB-PBS n = 12).

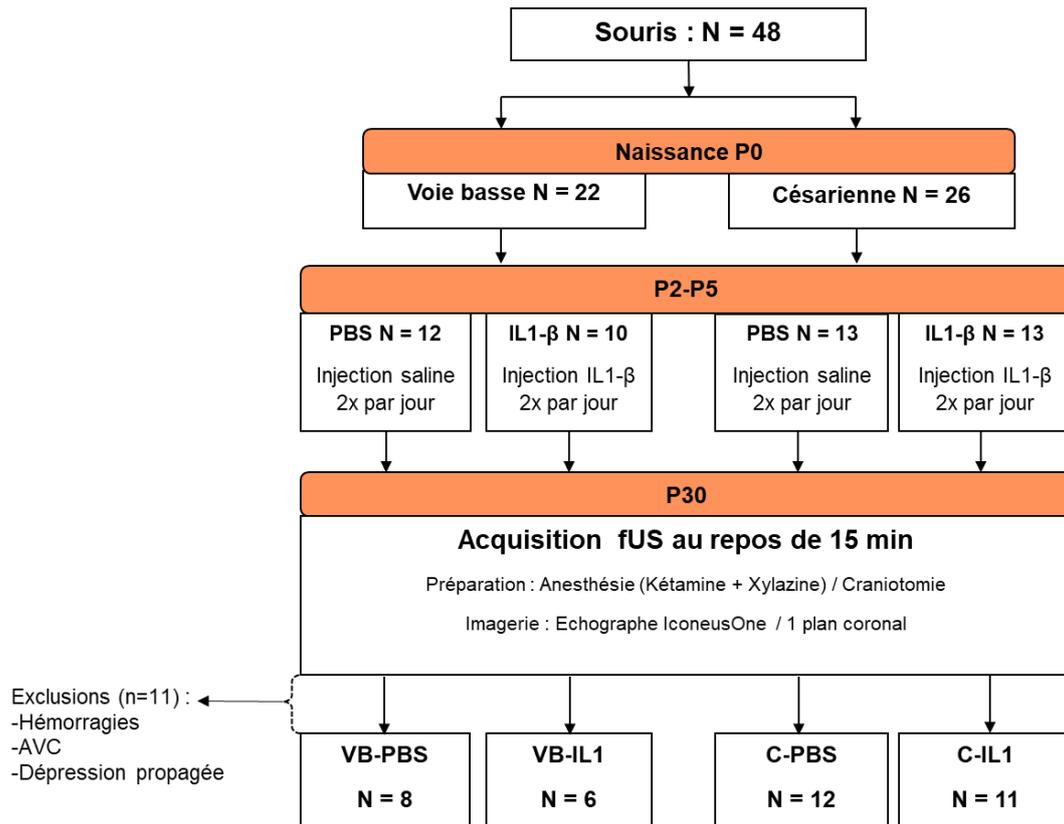


Figure 75. Diagramme de flux du protocole de l'étude de l'effet de l'inflammation par injection d'IL-1 β et de la naissance par césarienne

3.5.1.2. Acquisitions fUS

Les acquisitions fUS ont été réalisées dans les mêmes conditions que l'étude sur l'effet de l'inflammation uniquement (cf section 3.4.1.3), la seule différence à noter concerne le plan d'imagerie coronal comprenant notamment les cortex somatosensoriels à tonneaux associés aux vibrisses.

3.5.1.3. Prétraitement des données

Les 8 zones sélectionnées sont le cortex somato-sensoriel (S1), l'hippocampe (HPC), le thalamus (TH) et l'hypothalamus (HYP) de chaque hémisphère (Figure 76) pour les analyses de connectivité.

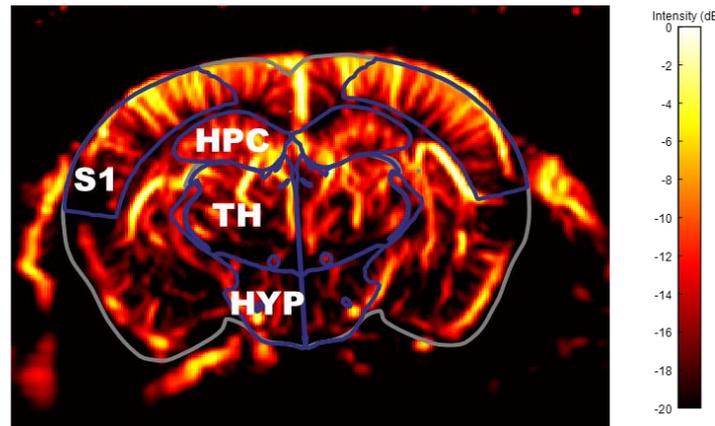


Figure 76. Doppler de puissance en plan coronal du cerveau d'une souris avec une superposition des zones de l'atlas sélectionnées pour les analyses de connectivité. (S1= cortex somatosensoriel, TH= thalamus, HPC = hippocampe, HYP= hypothalamus).

Pour l'analyse statique, le prétraitement est celui décrit en section 3.2.1.

Pour l'analyse dynamique, le prétraitement consiste en un débruitage par CCA, suivi d'un filtrage passe-bande [0.01 0.1] Hz et d'une normalisation avant moyennage par zone d'intérêt.

3.5.1.4. Analyse de connectivité statique

Pour chaque souris, les matrices de connectivité statique sont calculées sur les 14 minutes centrales de l'acquisition, puis la matrice moyenne de connectivité de chaque groupe est calculée.

La modification de la connectivité globale est évaluée en testant si la moyenne des coefficients de la matrice, obtenue en calculant la différence entre la matrice moyenne de chacun des groupes VB+IL-1, C+PBS, C+IL-1 et la matrice moyenne du groupe contrôle VB+PBS, est positive (connectivité plus importante) ou négative (connectivité plus faible)(t-test unilatéral).

3.5.1.5. Analyse de connectivité dynamique

Nous utilisons toujours la méthode des matrices de phases pour **l'évaluation de la connectivité dynamique**. Comme précédemment, pour chaque animal, les matrices de phase sont calculées sur les 14 minutes centrales de l'acquisition (soit 2100 matrices). L'algorithme des K-moyennes est ensuite appliqué, pour K=4, à l'ensemble des matrices des animaux analysables (n=37), soit un total de 77 700 matrices.

Pour chacun des 4 états résultants, on compare le taux d'occurrence (t-test) et la durée moyenne de l'état (test de Mann-Whitney) entre les groupes :

- VB-PBS et VB-IL1 pour mesurer l'effet de l'inflammation,
- VB-PBS et C-PBS pour mesurer l'effet de la naissance par césarienne
- VB-PBS et C-IL1 pour mesurer l'effet combiné de l'inflammation et de la césarienne

Les résultats sont présentés sous la forme moyenne \pm écart-type, et une p-valeur inférieure à 0.05 est considérée comme indiquant un effet significatif.

Pour mesurer la taille d'effet entre deux groupes (A et B) dont les moyennes sont significativement différentes, on utilise la mesure du d de Cohen. Le d de Cohen est calculé avec la formule :

$$(Eq\ 18.)\ d = \frac{m_A - m_B}{\sqrt{\frac{\sum(x-m_A)^2 + \sum(x-m_B)^2}{n_A + n_B - 2}}}$$

Avec m_A, m_B la valeur moyenne des groupes A et B, et n_A, n_B la taille des groupes A et B. Il donne la mesure du nombre d'écart-type contenu dans la différence entre les moyennes et permet d'évaluer si une différence, bien que significative, a un effet négligeable ou non. Généralement, un d de Cohen inférieur à 0.2 est considéré comme un effet faible et négligeable tandis qu'un d de Cohen supérieur à 0.8 est considéré comme un effet « fort ».

3.5.2. Résultat de la connectivité statique

Dans un premier temps, en observant qualitativement les matrices moyennes des 4 groupes (VB-PBS, VB-IL1, C-PBS, C-IL1), on remarque une plus forte connectivité chez le groupe contrôle VB-PBS (Figure 77). On émet alors, pour le t-test, l'hypothèse H1 d'une moyenne négative pour la moyenne des coefficients des matrices de différence (H1 : $\mu < 0$).

Dans un second temps, on teste statistiquement la moyenne des coefficients des matrices de différence avec le groupe contrôle (VB-PBS) pour évaluer l'effet du mode d'accouchement, de l'inflammation et des deux combinés. On montre d'abord que la moyenne des coefficients de la matrice de différence [C-PBS - VB-PBS], est significativement négative ($p < 0.001$). La césarienne a donc pour effet de diminuer la connectivité globale par rapport à une naissance par voie basse, cependant l'effet est relativement faible ($d = 0.21$). La présence d'inflammation a également pour effet une diminution de la connectivité globale puisque la moyenne des coefficients de la matrice de différence [VB-IL1 - VB-PBS] est significativement négative ($p < 0.001$). Cet effet est

plus important que celui de la césarienne, tout en restant moyen ($d = 0.56$). Enfin, l'effet combiné de la césarienne et de l'inflammation a un effet aggravant de la diminution de la connectivité globale puisque la moyenne des coefficients de la matrice de différence [C-IL1 - VB-PBS] est significativement négative ($p < 0.001$) avec une taille d'effet $d = 0.65$ supérieure aux tailles d'effets précédentes.

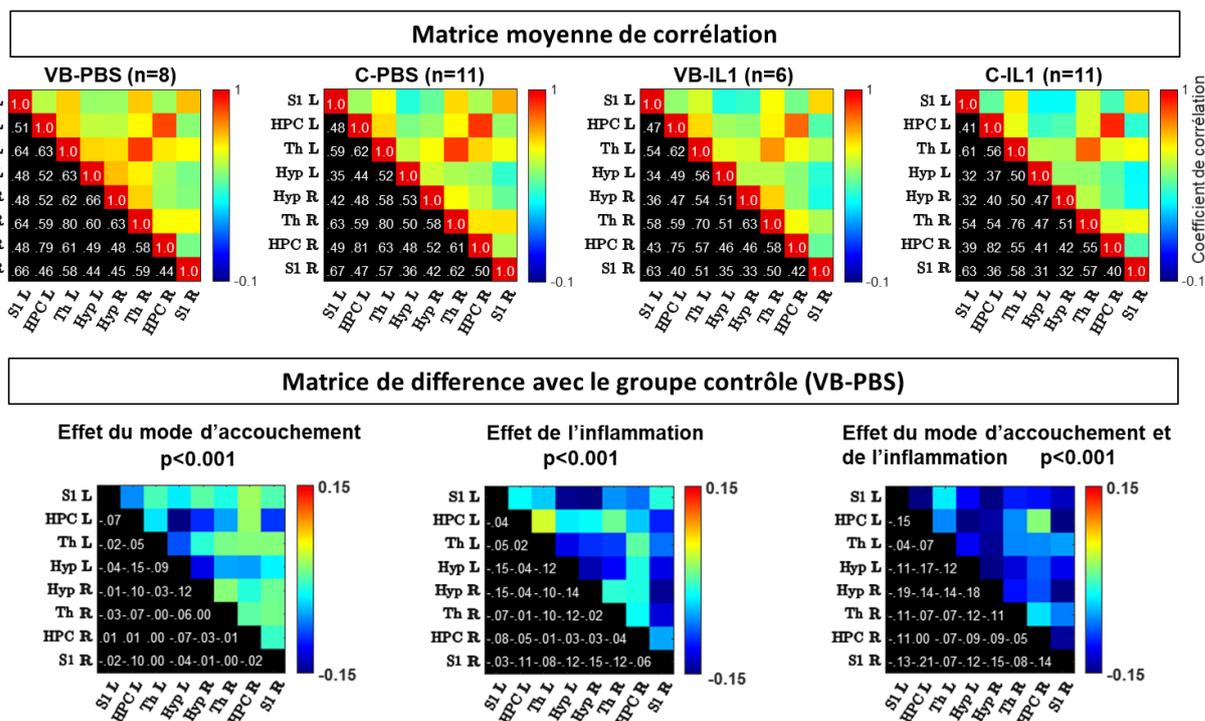


Figure 77. Analyse statique de connectivité entre les différents groupes. Les matrices moyennes de corrélation correspondent à la moyenne des matrices individuelles de chaque groupe. La répartition de la différence des coefficients Z-transformés, nous permet d'émettre l'hypothèse H1 que la moyenne des coefficients est négative. On applique alors un t-test unilatéral sur la répartition des coefficients de chaque matrice de différence calculée comme la matrice moyenne d'un groupe (C-PBS, VB-IL1 ou C-IL1) moins la matrice moyenne contrôle (VB-PBS). La moyenne des coefficients de chaque matrice de différence est significativement négative (t-test unilatéral, $p < 0.001$). (SI= cortex somatosensoriel, TH= thalamus, HPC = hippocampe, HYP= hypothalamus, R ("Right") = hémisphère droit, L ("Left") = hémisphère gauche).

L'inflammation et la naissance par césarienne ont donc pour effet de diminuer la connectivité globale, même si la naissance par césarienne seule a un effet faible.

3.5.3. Résultats de la connectivité dynamique

3.5.3.1. Résultats : Etats cérébraux

Les 4 centroïdes résultantes de l'algorithme des K-moyennes sont présentées Figure 78, et rangées de gauche à droite par taux d'occurrence décroissant.

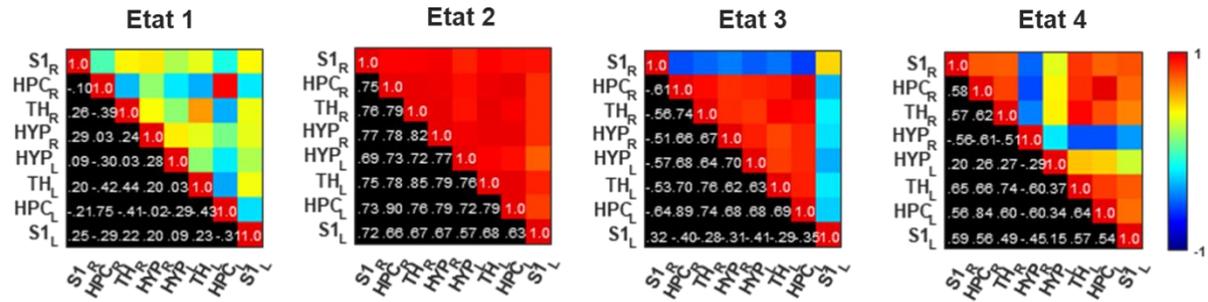


Figure 78. États résultant du partitionnement des matrices de phase par la méthode des K-moyennes (pour K=4). Les états sont rangés par ordre d'occurrence décroissant dans l'ensemble du jeu de données. (S1= cortex somatosensoriel, TH= thalamus, HPC = hippocampe, HYP= hypothalamus, R ("Right") = hémisphère droit, L ("Left") = hémisphère gauche).

Pour évaluer la robustesse de l'analyse par la méthode des matrices de phase et le choix de $K = 4$ clusters sur ce nouveau jeu de données, nous avons calculé comme en section 3.3.3, les distances interclusters, les distances moyennes intracluster et les distances moyennes des itérations de la validation croisée « un contre tous ».

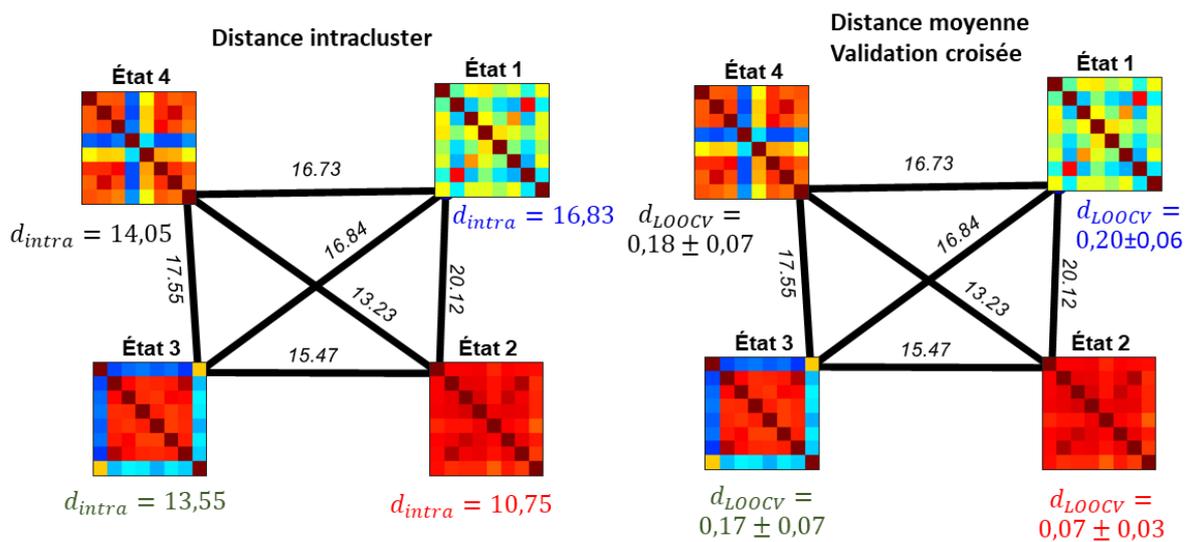


Figure 79. Évaluation de la robustesse de l'analyse dynamique par la méthode des matrices de phase pour K=4. Pour chaque état, d_{intra} est la distance moyenne à l'intérieur du cluster et d_{LOOCV} est la moyenne des distances entre les états trouvés à chaque itération de la validation croisée avec n-1 patients et l'état le plus proche calculé avec tous les patients.

On remarque que pour les états 2 et 3 la distance intracluster est plus petite que les 3 distances interclusters associées. Pour les états 1 et 4, la distance intracluster est plus petite pour seulement 2 des 3 distances interclusters associées. Dans l'ensemble, les distances intraclusters sont plus petites que les distances interclusters, ce qui montre que ces 4 états permettent de bien représenter les données.

Les distances moyennes obtenues à partir des validations croisées d_{LOOCV} sont très faibles devant les distances interclusters ce qui montre qu'on obtient ces 4 états de manière consistante malgré de légères variations du jeu de données.

On peut interpréter l'état 1 comme un état cérébral de déconnexion des hippocampes avec le reste du cerveau tout en gardant une forte connectivité interhémisphérique entre eux. L'état 2 correspond à un état de forte connectivité globale. Les états 3 et 4 correspondent à des états de forte connectivité avec une déconnexion de zones spécifiques avec le reste du cerveau, respectivement les cortex somatosensoriels et l'hypothalamus.

3.5.3.2. Résultats : Effet de l'inflammation

Pour mesurer l'effet de l'inflammation, on compare le groupe de souris avec l'inflammation systémique (VB-IL1) et le groupe contrôle (VB-PBS).

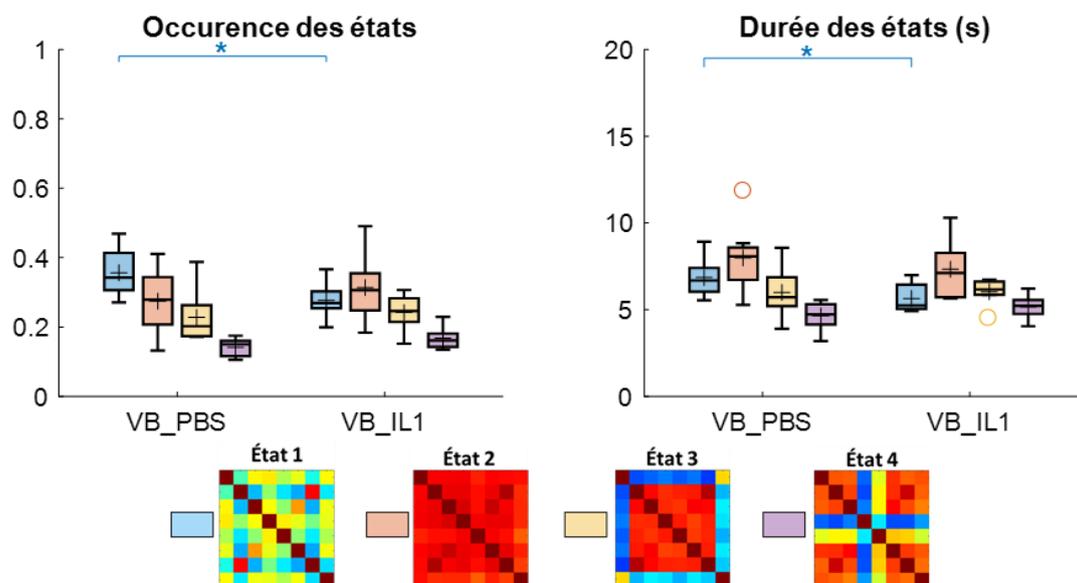


Figure 80. Effet de l'inflammation systémique : comparaison des indices de connectivité dynamique entre le groupe contrôle VB-PBS et le groupe inflammation VB-IL1. Pour l'occurrence des états, un t-test à deux échantillons a été appliqué (* : $p < 0.05$). Pour la durée de l'état, un t-test de Welch a été appliqué (* : $p < 0.05$).

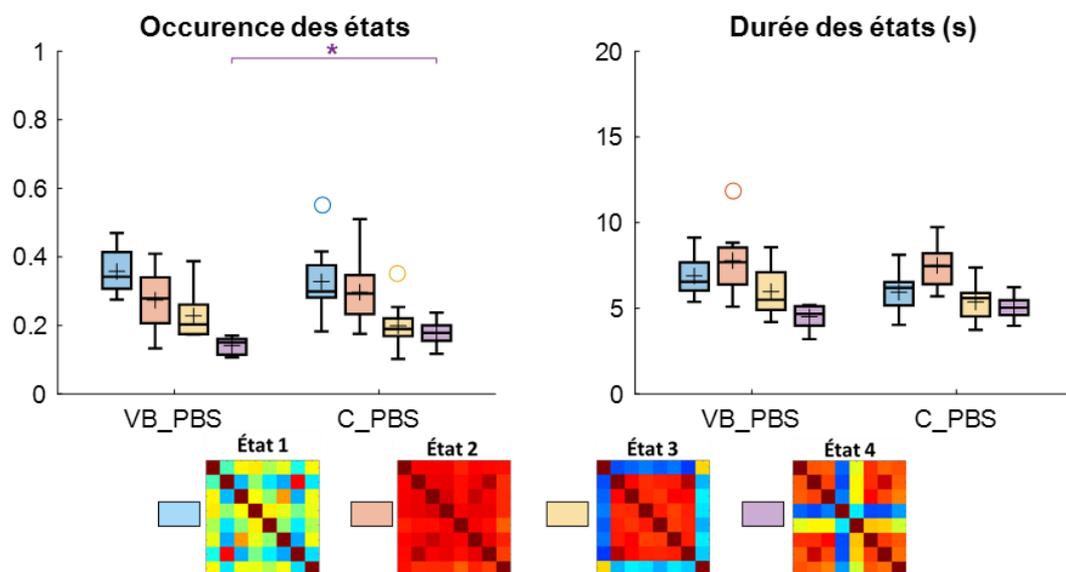
On remarque que le groupe VB-IL1 a un taux d'occurrence de l'état 1 significativement plus faible ($p < 0.05$) que le groupe VB-PBS. Il semblerait que cette différence résulte d'une durée plus courte de cet état 1 chez les animaux avec inflammation comparativement au groupe contrôle ($p < 0.05$) (Figure 80). Cet état 1 correspond à une relative **déconnexion des hippocampes avec le reste du cerveau**.

Le **modèle par injection d'IL-1 β** a pour effet connu une altération de l'anisotropie de la matière blanche, une **diminution de la myélinisation** due à une altération du développement des oligodendrocytes, ainsi que des troubles du comportement notamment un **déficit de la mémoire à long terme** évaluée par des tests de mémoire (reconnaissance d'un nouvel objet ou localisation d'un objet) [40].

Ces tests de mémoire sont souvent utilisés pour évaluer la fonction de l'**hippocampe qui joue un rôle primordial pour la mémorisation** de nouveaux souvenirs [51]. L'hippocampe n'est cependant pas la seule structure impliquée dans la formation et le stockage de nouveaux souvenirs : la modification de dynamique de l'état de déconnexion entre les hippocampes et le reste du cerveau, comme dans l'état 1, pourrait être liée au déficit de mémoire observé chez les souris traitées par IL-1 β .

3.5.3.3. Résultat : Effet de la naissance par césarienne

Pour évaluer l'effet de la naissance par césarienne, on compare maintenant le groupe de souris nées par césarienne (C-PBS) au groupe contrôle (VB-PBS).



On remarque que le groupe C-PBS a un taux d'occurrence de l'état 4 (état correspondant à une **déconnexion hypothalamique**) significativement plus élevé ($p < 0.05$) (Figure 81).

Une des différences notables entre les modes d'accouchement est que lors d'une naissance par voie basse, le microbiote des nouveau-nés est colonisé, entre autres, par des bactéries présentes dans le vagin de la mère, ce qui n'est pas le cas lors d'une naissance par césarienne.

L'équipe de Pierre Gressens a montré que ce modèle de naissance par césarienne induit effectivement une diminution de la diversité du microbiote intestinal des souriceaux à P5, ainsi qu'une modification de la quantification des récepteurs de peptidoglycanes dans le cortex à P22 [52]. Les peptidoglycanes sont des molécules issues des bactéries de la flore intestinale qui peuvent être transportées jusqu'au cerveau et interagir avec certains récepteurs.

Depuis quelques années, l'hypothèse d'un lien bidirectionnel cerveau-intestin est de plus en plus reconnu et de nombreuses études s'intéressent à ce sujet. **L'axe hypothalamo-hypophysio-surrénalien (HHS)**, notamment impliqué dans la gestion du stress, pourrait jouer un rôle dans le **lien entre l'intestin et le cerveau**. Une étude a notamment montré que des souris Germ-free avaient une réponse plus importante de l'axe HHS au stress, et que cette réponse peut être inversée si l'exposition à une flore intestinale complète était réalisée à un stade précoce du développement [53]. Une étude a également montré une densité de mort cellulaire trois fois plus importante, 3 heures après une naissance par césarienne, dans les noyaux paraventriculaires de l'hypothalamus, et également dans d'autres zones cérébrales [54]. L'hypothalamus a un rôle connu dans la réponse au stress et dans la réponse immunitaire.

De vastes domaines restent encore à explorer pour la compréhension des interactions entre le cerveau et l'intestin, cependant nos résultats de connectivité dynamique, impliquant un état avec une déconnexion hypothalamique, semblent compatibles avec l'existence d'une altération de l'hypothalamus (via l'axe HHS) lors d'une naissance par césarienne.

3.5.3.4. Résultat : Effet combiné de l'inflammation et de la naissance par césarienne

Enfin, nous comparons le groupe C-IL1 au groupe contrôle VB-PBS (Figure 82) pour mesurer l'effet combiné de l'inflammation et de la naissance par césarienne. On remarque une diminution de l'occurrence de l'état 1 et une diminution de la durée moyenne de l'état 1 du groupe C-IL1 (effet de l'inflammation) significatives ($p < 0.05$). L'occurrence

de l'état 4 a tendance à augmenter pour le groupe C-IL1 (effet de la césarienne) sans être significatif.

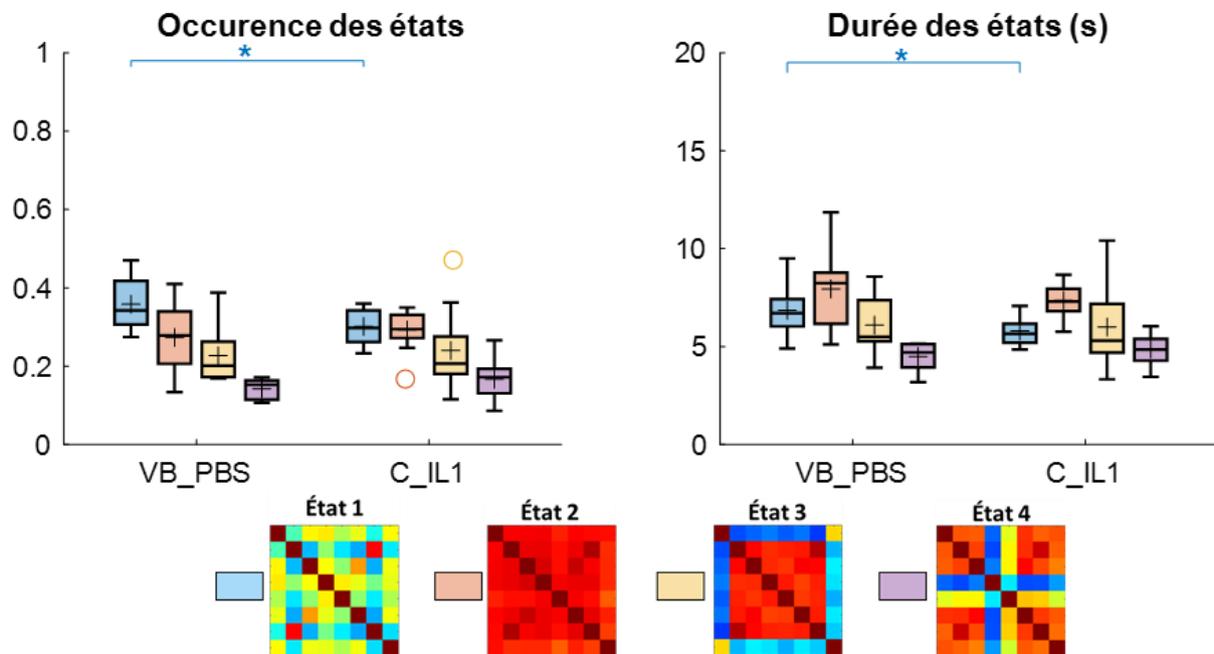


Figure 82. Effet combiné de l'inflammation et de la naissance par césarienne : comparaison des indices de connectivité dynamique entre le groupe contrôle VB-PBS et le groupe C-IL1. Pour l'occurrence des états un t-test à deux échantillons a été appliqué (* : $p < 0.05$). Pour la durée de l'état, un t-test de Welch a été appliqué (* : $p < 0.05$).

Dans leur étude, l'équipe de Pierre Gressens a montré que la naissance par césarienne augmente l'activation microgliale due à l'inflammation systémique à P1, mais que l'activation microgliale est ensuite équivalente à l'inflammation seule à P5. Cette modification à P1 suffit à entraîner une diminution plus importante de l'expression des gènes de la myéline à P22 ainsi qu'une diminution plus importante du pourcentage de certains précurseurs des oligodendrocytes à P5 lorsque la naissance par césarienne est combinée à l'inflammation [52]. Ces résultats semblent en accord avec nos résultats sur la connectivité, où l'on observe le même effet que celui de l'inflammation seule.

Ils ont également montré que la césarienne et l'inflammation combinées modifiaient la diversité et la répartition des bactéries du microbiote. L'effet de la césarienne sur la connectivité (augmentation de l'occurrence de l'état 4) est visible sans être significatif. Ceci peut éventuellement s'expliquer par la taille d'effet plus faible de la naissance par césarienne ($d = 1.01$) comparée à la taille d'effet de l'inflammation ($d = 1.25$).

3.5.3.5. Résultats : Analyse des transitions entre les états

L'analyse des transitions entre états pour les quatre groupes ne montre pas de différences significatives, sauf pour la transition de l'état 4 vers l'état 2 entre le groupe contrôle VB-PBS et le groupe VB-IL1. Il est tout de même intéressant de noter que les probabilités de transition semblent être consistantes pour l'ensemble des 4 groupes. Par exemple, les transitions entre l'état 3 et l'état 4 sont toujours faibles (<0.2, non-représentées) tandis que les transitions de l'état 4 vers 1 sont toujours plus importantes que les transitions de l'état 1 vers 4.

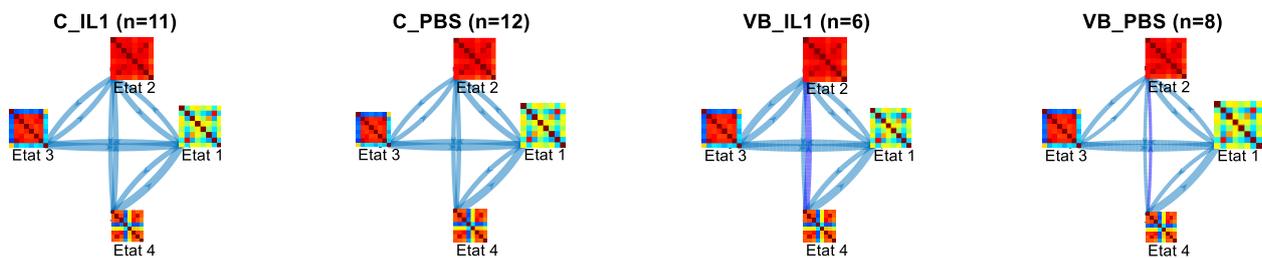


Figure 83. Représentation graphique des probabilités de transitions entre les états pour les quatre groupes. La largeur des flèches est proportionnelle à la probabilité de transition entre les états. Les flèches de couleurs représentent les probabilités de transitions significativement différentes comparées par t-test et corrigées pour comparaisons multiples (FDR) ($p < 0.05$). Seules les probabilités supérieures à 0.2 sont représentées.

3.5.4. Discussion

L'ensemble des résultats des analyses statique et dynamique de la connectivité indique la présence d'altérations de la connectivité due à la naissance par césarienne et à l'inflammation. Les modèles choisis d'altérations cérébrales étaient subtiles et nous avons dû utiliser des nouvelles méthodes de prétraitement pour mettre en avant leurs effets sur la connectivité. En effet, des phénomènes globaux physiologiques (en réponse à la chirurgie ou l'anesthésie) avaient tendance à créer une grande variabilité inter-individus dans l'évaluation de la connectivité. Avec le débruitage par CCA, les états trouvés par l'algorithme des K-moyennes ont des occurrences semblables entre les 4 groupes (même ordre d'occurrence et faible écart-type) alors même que ce sont quatre groupes indépendants, ce qui montre que les méthodes utilisées permettent d'évaluer de manière robuste la connectivité.

Une fois les variabilités inter-individus supprimées, la connectivité dynamique nous a permis d'identifier, pour les deux conditions de troubles néonataux, des états cérébraux impliquant des zones spécifiques qui avaient été identifiées par l'équipe de Pierre Gressens

(hippocampe pour l'inflammation et hypothalamus pour la césarienne). Cependant, nous restons prudents sur l'interprétation de ces résultats qui nécessiteraient d'être évalués sur un plus grand nombre d'animaux et avec une évaluation de la connectivité dans plus d'aires cérébrales pour ne pas omettre d'autres éventuelles altérations.

Les observations des transitions entre états semblent indiquer des sens de transitions préférentiels entre états cérébraux, communs à l'ensemble des individus. Ceci reste des observations préliminaires et il pourrait être intéressant de comparer et vérifier la consistance des chemins les plus probables au sein des graphes.

3.6. Discussion générale

Dans ce chapitre, nous avons montré que l'optimisation du prétraitement des données fUS combinée à l'utilisation de l'analyse de la connectivité dynamique permet de mettre en avant différents états de connectivité dans des modèles précliniques d'altérations cérébrales.

Dans la littérature, la plupart des études IRMf sur la connectivité dynamique utilisent la méthode de la « fenêtre glissante », donnant des résultats cliniques prometteurs notamment dans l'étude de troubles psychiatriques tels que la schizophrénie ou la bipolarité [35][55] ou dans l'étude de troubles autistiques [36]. Cependant, le lissage de l'information temporelle est inhérent à cette méthode, et un compromis est nécessaire sur les tailles du pas et de la fenêtre afin de calculer des corrélations pertinentes, tout en sauvegardant des transitions rapides [33]. Nous avons montré dans ce chapitre que la **méthode de la phase**, bien qu'elle ne prenne pas en compte l'information liée à l'amplitude du signal, permet d'être tout **aussi robuste que la méthode de la fenêtre glissante**. De plus, contrairement à la construction des matrices par fenêtre glissante, la construction des matrices de phase ne nécessite pas une optimisation de paramètres et permet de décrire des transitions instantanées. Cependant, puisque l'extraction de phase dépend de la transformée de Hilbert, la valeur de la phase en un point varie légèrement en fonction du reste du décours temporel. La méthode HMM, bien que prometteuse [56][57], s'est révélée peu robuste sur nos données fUS, notamment à cause de la variabilité de l'initialisation. Les 3 méthodes possèdent une limitation due à la **nécessité de choisir le nombre d'états représentatifs au préalable**. Dans notre cas, il n'est pas toujours facile de savoir le nombre d'états nécessaires pour décrire correctement la connectivité dynamique. L'utilisation d'algorithmes de partitionnement hiérarchique, à la place de l'algorithme des K-moyennes, pourrait permettre de lever cette limitation. En

effet, ces algorithmes classent l'ensemble des points pour créer un arbre hiérarchique basé sur la distance entre clusters : en bas, chaque cluster contient un unique point, en haut, le cluster comprend l'ensemble des points. Cependant, ces algorithmes sont eux aussi paramétrés puisqu'ils nécessitent de définir un seuil sur la valeur des distances entre clusters.

D'autres techniques d'analyse de connectivité dynamique existent et peuvent être complémentaires des méthodes déjà présentées. Par exemple, la recherche de **motif de co-activation** (« co-activation pattern » (CAP)) consiste à partitionner chaque image (chaque point temporel) à partir de la distance de la corrélation spatiale [58]. Contrairement à l'analyse en composantes indépendantes (« Independent Component Analysis » (ICA)) qui ne permet de capturer que les réseaux cérébraux avec une connectivité stable dans le temps, la recherche de CAP permet de capturer des réseaux dont les zones sont de manière récurrente co-activées ou co-désactivées. Une autre possibilité est l'**analyse dynamique de connectivité en fonction de la fréquence** notamment grâce à l'analyse de la cohérence de la transformée en ondelettes. Enfin, l'**analyse de verrouillage de phase** pourrait quant à elle mettre en avant des aires cérébrales qui auraient toujours le même déphasage au cours du temps. Dans tous les cas, les analyses de connectivité dynamique nécessitent un prétraitement spécifique comparé à l'analyse statique afin de préserver au mieux le décours temporel originel.

L'utilisation du **débruitage par CCA** a permis de répondre à cette problématique de conservation de la continuité temporelle des signaux pour l'étude de la connectivité dynamique notamment de la transition entre états. Il est important de noter que la **sélection de la zone artéfactuelle et le choix du seuil sont déterminants**. Un seuil de coupure trop faible ne va pas retirer suffisamment les composantes artéfactuelles. Landemard et *al.* [32] utilisent la corrélation entre le mouvement mesuré par vidéo et le signal de sortie pour fixer le seuil permettant de retirer suffisamment les composantes artéfactuelles. Ici, n'ayant pas accès à des données vidéo ou physiologiques (respiration, battement), un seuil fixe a été choisi. Comme l'implémentation repose sur la décomposition en valeur singulière, des techniques de sélection adaptative du seuil pour le filtrage des données IQ [59] pourraient être explorées afin d'optimiser la sélection du seuil.

Cette technique de prétraitement par CCA a permis également de **supprimer un effet vasculaire global** par la sélection d'une zone artéfactuelle comprenant des gros vaisseaux, nous assurant de ne mesurer dans la corrélation que la composante liée à

l'activité cérébrale. Cependant, **une neuroinflammation postnatale** provoque d'importants changements dans le cerveau en développement d'un nouveau-né. Notamment, l'autorégulation vasculaire et le couplage neurovasculaire sont très probablement altérés, pouvant **modifier à la fois la perfusion vasculaire globale et la perfusion vasculaire localisée de la réponse hémodynamique**. Ces potentiels effets sont théoriquement supprimés à la fois par le débruitage CCA et par la normalisation des signaux CBV dans chaque pixel. Il pourrait être intéressant de mesurer ces modifications neurovasculaires par imagerie fUS. Le fUS lors de stimulations de vibrisses permettrait la description de la réponse hémodynamique du couplage neurovasculaire (amplitude, temps de réponse,...) et d'identifier de potentielles altérations comme cela a été fait dans un modèle de la maladie d'Alzheimer [60]. L'utilisation de la modalité d'imagerie ULM, permettant d'imager les vaisseaux sanguins avec une résolution inférieure à la longueur d'onde tout en ayant des mesures quantitatives, pourrait être utile pour décrire **d'autres effets vasculaires du modèle d'inflammation** tels que la taille des vaisseaux, la vitesse des flux ou encore la densité de vaisseaux.

Les méthodes développées d'analyse statique et dynamique ont permis de mettre en évidence des différences d'altérations cérébrales subtiles avec l'acquisition d'un simple plan 2D. Une des hypothèses de l'imagerie fUS en 2D est que **la moyenne du signal CBV sur une zone du plan d'imagerie est représentative de l'activité de l'ensemble de la zone**. Dans le but de comparer deux groupes, cette hypothèse permet effectivement d'évaluer des différences de connectivité comme cela a été montré dans les deux études précliniques de ce chapitre, **à condition que les plans d'imagerie soient identiques**. Un des intérêts de l'échographe IconeusOne est justement de faciliter le placement de la sonde dans un plan identique pour tous les animaux, afin de pouvoir comparer, entre individus, les signaux d'une zone et interpréter les différences d'activité cérébrale de cette zone. On trouve dans les deux études des animaux semblables (groupe contrôle PBS et groupe contrôle VB-PBS, et groupe IL1 et groupe VB-IL), puisqu'ils ont été imagés au même âge et reçu un protocole d'injections identique. La seule différence notable est, pour les animaux de l'étude sur la césarienne, l'adoption des souriceaux par une autre souris, ce qui est considéré en général comme un environnement enrichi puisque la mère adoptive s'occupe plus des souriceaux. On retrouve également des aires cérébrales communes (thalamus et hippocampe gauches), donc on pourrait s'attendre à retrouver les mêmes valeurs pour les coefficients de corrélation trouvés dans les deux études. Cependant, on ne peut pas réellement comparer les résultats entre les deux études

puisque les animaux ont été imagés dans un cas en plan sagittal et dans l'autre en plan coronal. Pour le thalamus, par exemple, qui est constitué de nombreux noyaux neuronaux de fonctions distinctes, nous n'imaginons probablement pas les mêmes structures, et donc le signal moyen CBV est représentatif de différentes activités cérébrales d'un plan d'imagerie à l'autre.

L'utilisation d'analyses dynamiques de la connectivité a permis de détailler, pour les deux études, la diminution de connectivité globale observée dans un premier temps en analyse statique. Notamment, elle a mis en avant l'implication de zones cérébrales spécifiques pour le modèle d'inflammation (hippocampe) et de naissance par césarienne (hypothalamus). Cependant, il faut rester prudent sur ces interprétations, car les états trouvés par l'algorithme des K-moyennes dépendent fortement des autres aires cérébrales imagées et contenues dans la matrice. Par exemple, les états de forte connectivité trouvés dans les deux études sont loin d'être identiques. En effet, pour l'étude en plan sagittal (section 3.4) cet état représente uniquement la connectivité intrahémisphérique et pourrait donc regrouper à la fois des états de forte connectivité globale du cerveau et des états de déconnexion interhémisphérique (tout en gardant une forte connectivité intrahémisphérique), pouvant résulter en des taux d'occurrence très différents. De plus, les occurrences des états dépendent également fortement du nombre K d'états demandé par l'algorithme des K-moyennes.

La difficulté à comparer deux études fUS indépendantes vient principalement de ces différences possibles de plans d'imagerie. C'est pourquoi, afin de **caractériser pleinement les réseaux de connectivité** tels que décrits en introduction de ce chapitre, et pouvoir comparer des études entre elles, il sera nécessaire d'utiliser **l'imagerie 3D**. Une première solution actuellement proposée par Iconeus est de réaliser des scans successifs dans différents plans d'imagerie très rapidement. Plus récemment, le développement de la sonde IcoPrime multi-array (consistant en 4 sondes linéaires côte à côte) permet de réaliser 4 plans d'imagerie simultanément. Il est alors possible d'obtenir, environ toutes les 2 secondes, un volume entier du cerveau de souris. L'utilisation de cette sonde a permis de mettre en évidence les réseaux de connectivité chez la souris en imagerie fUS dans notre laboratoire.

Deux points du protocole des expérimentations précliniques sont à prendre en compte pour une interprétation plus précise des résultats de connectivité. Le premier est **l'influence de l'anesthésiant** utilisé sur l'évaluation de la connectivité cérébrale [61]. Notamment, il a été montré que plus la profondeur de l'anesthésie est importante, plus

la connectivité en fUS est faible [62]. Ceci implique que des animaux n'ayant pas été imagés au même stade d'anesthésie, par exemple si la chirurgie de la craniotomie dure plus longtemps, pourraient montrer des différences de connectivité mesurée. De plus, en IRMf à l'état de repos, Grandjean et *al.* [63] ont aussi montré un décalage de la distribution des fréquences moyennes en fonction du type et de la dose d'anesthésie. Le second point est **l'influence de la souche de souris utilisée**. La souche OF1 (Charles River) est connue pour sa variabilité génétique plus importante que d'autres souches telles que la souche C57BL/6J.

3.7. Conclusions

Nous avons montré dans ce chapitre que la méthode de débruitage par CCA pour le prétraitement des données fUS permet de supprimer à la fois des artéfacts de mouvements isolés et des composantes globales physiologiques tout en gardant un décours temporel continu. Ce maintien du décours temporel offre la possibilité d'étudier la connectivité fonctionnelle de manière dynamique. En considérant l'activité cérébrale comme une succession d'états cérébraux, nous avons alors étudié l'occurrence, la durée et les transitions entre ces états. Nous avons comparé 3 méthodologies pour évaluer ce caractère dynamique. Cette comparaison nous a permis de choisir la méthode dite de « phase », qui se base sur la mesure de la différence de phase des signaux CBV. Elle a été choisie pour sa robustesse et sa capacité à prendre en compte des transitions instantanées. L'application de ces techniques à deux modèles précliniques d'altérations cérébrales néonatales subtiles, que sont l'inflammation systémique postnatale et la naissance par césarienne, a permis de montrer des différences de connectivité fonctionnelle. Nous verrons dans le chapitre suivant comment ces méthodes d'analyse peuvent s'appliquer chez le nouveau-né humain.

3.8. Bibliographie du chapitre

- [1] B. Biswal, F. Zerrin Yetkin, V. M. Haughton, and J. S. Hyde, "Functional connectivity in the motor cortex of resting human brain using echo-planar mri," *Magn Reson Med*, vol. 34, no. 4, pp. 537–541, 1995.
- [2] B. B. Biswal, J. Van Kylen, and J. S. Hyde, "Simultaneous assessment of flow and BOLD signals in resting-state functional connectivity maps," *NMR Biomed*, vol. 10, no. 4–5, pp. 165–170, 1997.
- [3] H. Obrig *et al.*, "Spontaneous low frequency oscillations of cerebral hemodynamics and metabolism in human adults," *Neuroimage*, vol. 12, no. 6, pp. 623–639, 2000.
- [4] X. Chang, G. Collin, R. C. W. Mandl, W. Cahn, and R. S. Kahn, "Interhemispheric connectivity and hemispheric specialization in schizophrenia patients and their unaffected siblings," *NeuroImage Clin*, vol. 21, no. December 2018, p. 101656, 2019.
- [5] M. Filippi, E. Sarasso, and F. Agosta, "Resting-state Functional MRI in Parkinsonian Syndromes," *Mov Disord Clin Pract*, 2019.
- [6] J. S. Anderson *et al.*, "Decreased interhemispheric functional connectivity in autism," *Cereb Cortex*, vol. 21, no. 5, pp. 1134–1146, 2011.
- [7] S. L. Bressler and V. Menon, "Large-scale brain networks in cognition: emerging methods and principles," *Trends Cogn Sci*, vol. 14, no. 6, pp. 277–290, 2010.
- [8] V. Menon, "Large-scale brain networks and psychopathology: A unifying triple network model," *Trends Cogn Sci*, vol. 15, no. 10, pp. 483–506, 2011.
- [9] A. Gozzi and A. J. Schwarz, "Large-scale functional connectivity networks in the rodent brain," *Neuroimage*, vol. 127, pp. 496–509, 2016.
- [10] R. Matthew Hutchison and S. Everling, "Monkey in the middle: Why non-human primates are needed to bridge the gap in resting-state investigations," *Front Neuroanat*, vol. 6, no. JULY 2012, pp. 1–19, 2012.
- [11] H. Zhang, D. Shen, and W. Lin, *Resting-state functional MRI studies on infant brains: A decade of gap-filling efforts*, vol. 185. Elsevier Inc., 2019.
- [12] T. Deffieux, C. Demené, and M. Tanter, "Functional Ultrasound Imaging: A New Imaging Modality for Neuroscience," *Neuroscience*, vol. 474, pp. 110–121, 2021.
- [13] B. F. Osmanski, S. Pezet, A. Ricobaraza, Z. Lenkei, and M. Tanter, "Functional ultrasound imaging of intrinsic connectivity in the living rat brain with high spatiotemporal resolution," *Nat Commun*, vol. 5, 2014.
- [14] G. Paxinos and C. Watson, *The rat brain in stereotaxic coordinates*. Elsevier, 2007.
- [15] L. Rahal *et al.*, "Ultrafast ultrasound imaging pattern analysis reveals distinctive dynamic brain states and potent sub-network alterations in arthritic animals," *Sci Rep*, vol. 10, no. 1, pp. 1–17, 2020.
- [16] C. Rabut *et al.*, *Pharmaco-fUS: Quantification of pharmacologically-induced dynamic changes in brain perfusion and connectivity by functional ultrasound imaging in awake mice*, vol. 222. 2020.
- [17] J. Mairesse *et al.*, "Oxytocin receptor agonist reduces perinatal brain damage by targeting microglia," *Glia*, vol. 67, no. 2, pp. 345–359, 2019.
- [18] K. Murphy and M. D. Fox, "Towards a consensus regarding global signal regression for resting state functional connectivity MRI," *Neuroimage*, vol. 154, no. November 2016, pp. 169–173, 2017.
- [19] A. Urban, C. Dussaux, G. Martel, C. Brunner, E. Mace, and G. Montaldo, "Real-time imaging of brain activity in freely moving rats using functional ultrasound," *Nat Methods*, vol. 12, no. 9, pp. 873–878, 2015.
- [20] C. Demene *et al.*, "Functional ultrasound imaging of brain activity in human newborns," *Sci Transl Med*, vol. 9, no. 411, 2017.
- [21] G. Pfurtscheller *et al.*, "Distinction between neural and vascular BOLD oscillations and

- intertwined heart rate oscillations at 0.1 Hz in the resting state and during movement,” *PLoS One*, vol. 12, no. 1, pp. 1–13, 2017.
- [22] K. Li, L. Guo, J. Nie, G. Li, and T. Liu, “Review of methods for functional brain connectivity detection using fMRI,” *Comput Med Imaging Graph*, vol. 33, no. 2, pp. 131–139, 2009.
- [23] A. O. Nunez-Elizalde *et al.*, “Neural correlates of blood flow measured by ultrasound,” *Neuron*, vol. 110, no. 10, pp. 1631–1640.e4, 2022.
- [24] M. P. van den Heuvel and H. E. Hulshoff Pol, “Exploring the brain network: A review on resting-state fMRI functional connectivity,” *Eur Neuropsychopharmacol*, vol. 20, no. 8, pp. 519–534, 2010.
- [25] M. Rubinov and O. Sporns, “Complex network measures of brain connectivity: Uses and interpretations,” *Neuroimage*, vol. 52, no. 3, pp. 1059–1069, 2010.
- [26] A. M. Chiarelli, C. Sestieri, R. Navarra, R. G. Wise, and M. Caulo, “Distinct effects of prematurity on MRI metrics of brain functional connectivity, activity, and structure: Univariate and multivariate analyses,” *Hum Brain Mapp*, vol. 42, no. 11, pp. 3593–3607, 2021.
- [27] X. Zhuang, Z. Yang, and D. Cordes, “A technical review of canonical correlation analysis for neuroscience applications,” *Hum Brain Mapp*, vol. 41, no. 13, pp. 3807–3833, 2020.
- [28] A. de Cheveigné *et al.*, “Multiway canonical correlation analysis of brain data,” *Neuroimage*, vol. 186, pp. 728–740, 2019.
- [29] A. de Cheveigné, D. E. Wong, G. M. Di Liberto, J. Hjortkjær, M. Slaney, and E. Lalor, “Decoding the auditory brain with canonical component analysis,” *Neuroimage*, vol. 172, no. September 2017, pp. 206–216, 2018.
- [30] A. S. Janani *et al.*, “Fast and effective removal of contamination from scalp electrical recordings,” *Clin Neurophysiol*, vol. 131, no. 1, pp. 6–24, 2020.
- [31] J. Li *et al.*, “A unified canonical correlation analysis-based framework for removing gradient artifact in concurrent EEG/fMRI recording and motion artifact in walking recording from EEG signal,” *Med Biol Eng Comput*, vol. 55, no. 9, pp. 1669–1681, 2017.
- [32] A. Landemard, C. Bimbard, C. Demené, S. Shamma, S. Norman-Haignere, and Y. Boubenec, “Distinct higher-order representations of natural sounds in human and ferret auditory cortex,” *Elife*, vol. 10, pp. 1–30, 2021.
- [33] M. G. Preti, T. A. Bolton, and D. Van De Ville, “The dynamic functional connectome: State-of-the-art and perspectives,” *Neuroimage*, vol. 160, no. December 2016, pp. 41–54, 2017.
- [34] E. A. Allen, E. Damaraju, S. M. Plis, E. B. Erhardt, T. Eichele, and V. D. Calhoun, “Tracking whole-brain connectivity dynamics in the resting state,” *Cereb Cortex*, vol. 24, no. 3, pp. 663–676, 2014.
- [35] E. Damaraju *et al.*, “Dynamic functional connectivity analysis reveals transient states of dysconnectivity in schizophrenia,” *NeuroImage Clin*, vol. 5, no. July, pp. 298–308, 2014.
- [36] L. E. Mash, A. C. Linke, L. A. Olson, I. Fishman, T. T. Liu, and R. A. Müller, “Transient states of network connectivity are atypical in autism: A dynamic functional connectivity study,” *Hum Brain Mapp*, vol. 40, no. 8, pp. 2377–2389, 2019.
- [37] J. Baranger *et al.*, “Bedside functional monitoring of the dynamic brain connectivity in human neonates,” *Nat Commun*, vol. 12, no. 1, 2021.
- [38] D. Vidaurre, A. J. Quinn, A. P. Baker, D. Dupret, A. Tejero-Cantero, and M. W. Woolrich, “Spectrally resolved fast transient brain states in electrophysiological data,” *Neuroimage*, vol. 126, pp. 81–95, 2016.
- [39] M. Pedersen, A. Omidvarnia, A. Zalesky, and G. D. Jackson, “On the relationship between instantaneous phase synchrony and correlation-based sliding windows for time-resolved fMRI connectivity analysis,” *Neuroimage*, vol. 181, no. June, pp. 85–94, 2018.
- [40] G. Favrais *et al.*, “Systemic inflammation disrupts the developmental program of white matter,”

- Ann Neurol*, vol. 70, no. 4, pp. 550–565, 2011.
- [41] A. Bertolo *et al.*, “Whole-brain 3d activation and functional connectivity mapping in mice using transcranial functional ultrasound imaging,” *J Vis Exp*, vol. 2021, no. 168, pp. 1–17, 2021.
- [42] M. Nouhoum *et al.*, “A functional ultrasound brain GPS for automatic vascular-based neuronavigation,” *Sci Rep*, vol. 11, no. 1, pp. 1–12, 2021.
- [43] L. Bourgeois-Rambur *et al.*, “Altered Cortical Trigeminal Fields Excitability by Spreading Depolarization Revealed with in Vivo Functional Ultrasound Imaging Combined with Electrophysiology,” *J Neurosci*, vol. 42, no. 32, pp. 6295–6308, 2022.
- [44] N. M. Jiang, M. Cowan, S. N. Moonah, and W. A. Petri, “The Impact of Systemic Inflammation on Neurodevelopment,” *Trends Mol Med*, vol. 24, no. 9, pp. 794–804, 2018.
- [45] S. N. Malaeb, J. M. Davis, I. M. Pinz, J. L. Newman, O. Dammann, and M. Rios, “Effect of sustained postnatal systemic inflammation on hippocampal volume and function in mice,” *Pediatr Res*, vol. 76, no. 4, pp. 363–369, 2014.
- [46] E. Guevara *et al.*, “Altered functional connectivity following an inflammatory white matter injury in the newborn rat: A high spatial and temporal resolution intrinsic optical imaging study,” *Front Neurosci*, vol. 11, no. JUL, pp. 1–11, 2017.
- [47] M. Mavigner *et al.*, “Postnatal Zika virus infection is associated with persistent abnormalities in brain structure, function, and behavior in infant macaques,” *Sci Transl Med*, vol. 10, no. 435, pp. 1–16, 2018.
- [48] M. D. Rudolph *et al.*, “Maternal IL-6 during pregnancy can be estimated from newborn brain connectivity and predicts future working memory in offspring,” *Nat Neurosci*, vol. 21, no. 5, pp. 765–772, 2018.
- [49] Y. Zhan *et al.*, “Deficient neuron-microglia signaling results in impaired functional brain connectivity and social behavior,” *Nat Neurosci*, vol. 17, no. 3, pp. 400–406, 2014.
- [50] J. Van Steenwinckel *et al.*, “Decreased microglial Wnt/ β -catenin signalling drives microglial pro-inflammatory activation in the developing brain,” *Brain*, vol. 142, no. 12, pp. 3806–3833, 2019.
- [51] D. Purves *et al.*, *Neuroscience*, Third edit. Sinauer Associates, 2004.
- [52] C. Morin, “Naissance par césarienne en cas de prématurité: impact sur le cerveau en développement ?,” Université Sorbonne Paris Cité Préparée, 2021.
- [53] N. Sudo *et al.*, “Postnatal microbial colonization programs the hypothalamic-pituitary-adrenal system for stress response in mice,” *J Physiol*, vol. 558, no. 1, pp. 263–275, 2004.
- [54] A. Castillo-Ruiz, M. Mosley, A. J. Jacobs, Y. C. Hoffiz, and N. G. Forger, “Birth delivery mode alters perinatal cell death in the mouse brain,” *Proc Natl Acad Sci U S A*, vol. 115, no. 46, pp. 11826–11831, 2018.
- [55] B. Rashid, E. Damaraju, G. D. Pearlson, and V. D. Calhoun, “Dynamic connectivity states estimated from resting fMRI Identify differences among Schizophrenia, bipolar disorder, and healthy control subjects,” *Front Hum Neurosci*, vol. 8, no. November, pp. 1–13, 2014.
- [56] D. Vidaurre, S. M. Smith, and M. W. Woolrich, “Brain network dynamics are hierarchically organized in time,” *Pnas*, vol. 114, no. 48, 2017.
- [57] D. Vidaurre *et al.*, “Discovering dynamic brain networks from big data in rest and task,” *Neuroimage*, vol. 180, no. March 2017, pp. 646–656, 2018.
- [58] X. Liu, N. Zhang, C. Chang, and J. H. Duyn, “Co-activation patterns in resting-state fMRI signals,” *Neuroimage*, vol. 180, no. January, pp. 485–494, 2018.
- [59] J. Baranger, B. Arnal, F. Perren, O. Baud, M. Tanter, and C. Demene, “Adaptive Spatiotemporal SVD Clutter Filtering for Ultrafast Doppler Imaging Using Similarity of Spatial Singular Vectors,” *IEEE Trans Med Imaging*, vol. 37, no. 7, pp. 1574–1586, 2018.
- [60] C. Morisset *et al.*, “Retinal functional ultrasound imaging (rfUS) for assessing neurovascular alterations: a pilot study on a rat model of dementia,” *Sci Rep*, vol. 12, no. 1, pp. 1–11, 2022.

- [61] T. Tsurugizawa and D. Yoshimaru, “Impact of anesthesia on static and dynamic functional connectivity in mice,” *Neuroimage*, vol. 241, no. July, p. 118413, 2021.
- [62] J. Ferrier, E. Tiran, T. Deffieux, M. Tanter, and Z. Lenkei, “Functional imaging evidence for task-induced deactivation and disconnection of a major default mode network hub in the mouse brain,” *Proc Natl Acad Sci U S A*, vol. 117, no. 26, pp. 15270–15280, 2020.
- [63] J. Grandjean, A. Schroeter, I. Batata, and M. Rudin, “Optimization of anesthesia protocol for resting-state fMRI in mice based on differential effects of anesthetics on functional connectivity patterns,” *Neuroimage*, vol. 102, no. P2, pp. 838–847, 2014.

Chapitre 4.

Évaluation de la connectivité
fonctionnelle à l'état de repos chez le
nouveau-né humain et translation
clinique

4.1. Introduction du chapitre

Actuellement, le **diagnostic de troubles neurodéveloppementaux est généralement effectué tardivement** lorsque les premiers symptômes d'altérations cognitives ou comportementales sont observables. D'après une étude Ipsos de 2019, l'âge moyen au moment du diagnostic est de 7.3 ans alors que certains troubles peuvent être détectés de manière plus précoce [1]. Les recommandations de la Haute Autorité de Santé et la Délégation interministérielle à la stratégie nationale pour l'autisme au sein des troubles du neuro-développement, mettent justement l'accent sur la **détection la plus précoce possible d'une déviation de la trajectoire neurodéveloppementale normale** [2]. Deux livrets ont notamment été mis en place pour le repérage d'écarts inhabituels : un pour les enfants de 0 à 3 ans pour les fonctions motrices, cognitives, le langage ou encore la socialisation et un livret pour les enfants de 7 à 12 ans pour les troubles « DYS » (dyslexie, dysorthographe, ...) et les troubles de l'attention avec ou sans hyperactivité (TDAH). L'évaluation de la connectivité fonctionnelle à l'état de repos chez le nouveau-né, ne nécessitant pas d'actions particulières du nouveau-né, est donc un enjeu important puisqu'elle pourrait permettre de détecter plus précocement les trajectoires développementales anormales.

Nous avons déjà détaillé en introduction (section 1.2.3) les différentes techniques d'imagerie fonctionnelle cérébrale utilisables actuellement chez le nouveau-né humain que sont l'IRMf, l'EEG, la MEG, le fNIRS et le fUS [3]. La nécessité d'une méthode portable pour être utilisée en routine clinique, son faible coût et sa profondeur d'imagerie, font de l'imagerie ultrasonore une technique d'imagerie bien adaptée à l'imagerie cérébrale néonatale. Le développement de l'imagerie fonctionnelle ultrarapide (fUS) a permis d'ajouter une nouvelle modalité à l'imagerie ultrasonore, déjà utilisée en routine clinique avec le B-mode et le Doppler conventionnel.

La **première utilisation de l'imagerie fUS chez l'humain a été réalisée chez le nouveau-né**, en 2017, dans notre laboratoire par Demené et *al.* [4]. Dans cette étude, il a été démontré d'une part que l'imagerie fUS est capable de discriminer les états de sommeil, définis par EEG, chez le nouveau-né sain à partir de variations d'amplitudes des fluctuations du CBV plus importantes pendant le sommeil agité comparé au sommeil calme (Figure 84. A). D'autre part, ils ont montré une augmentation du CBV lors de crise épileptique (période ictale) chez des nouveau-nés pathologiques (Figure 84. B) et ont été capables de suivre la propagation de modifications vasculaires pendant les périodes interictales.

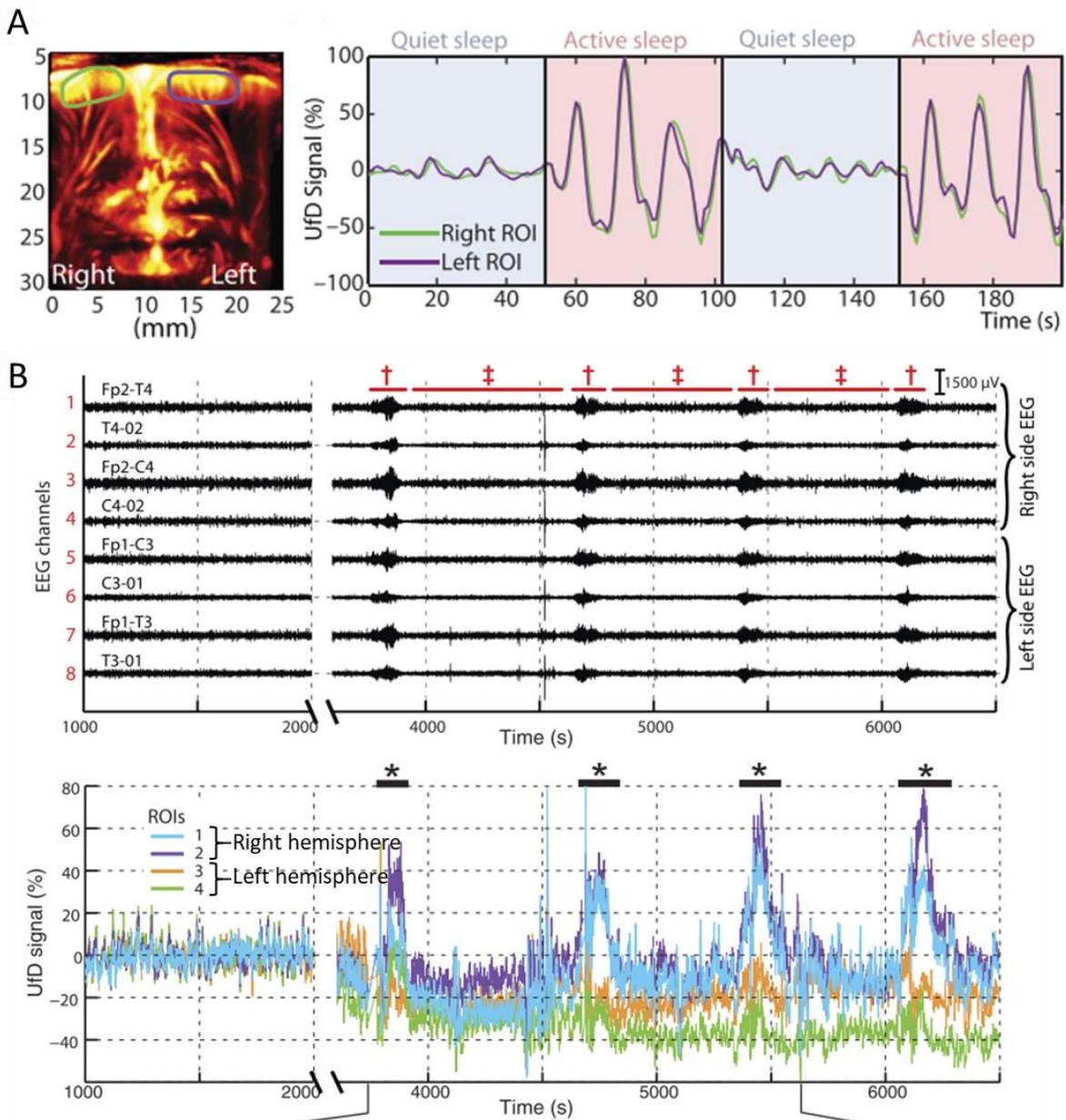


Figure 84. Imagerie fUS de l'activité cérébrale de nouveau-nés. (A) Variation relative du CBV dans les zones vert et violet. On remarque l'augmentation des variations pic à pic du signal CBV durant les phases de sommeil actif. (B) En haut, enregistrement EEG montrant les périodes ictales d'une crise d'épilepsie (†) et les périodes entre deux périodes ictales (‡), chez un patient pathologique avec une dysplasie corticale dans l'hémisphère droit. En bas, le décours temporel du signal CBV sur la même plage de temps. Les étoiles * indiquent des différences significatives d'amplitude entre l'hémisphère droit (bleu et violet) et l'hémisphère gauche (jaune et vert). (D'après Demené et al.[4])

Ces premiers travaux ont montré la faisabilité de l'imagerie fonctionnelle ultrasonore chez le nouveau-né ainsi que la capacité du fUS à décrire des événements vasculaires pour le suivi de la fonction cérébrale. Cependant, à ce stade, certaines limitations techniques subsistaient pour pouvoir évaluer la connectivité fonctionnelle par imagerie fUS comme

présenté dans le chapitre 3, notamment un bon maintien de la sonde pendant plusieurs minutes et la possibilité de recalibrer les acquisitions sur un atlas fonctionnel du nouveau-né.

L'objectif de ce chapitre est de montrer la **faisabilité de l'évaluation de la connectivité fonctionnelle à l'état de repos chez le nouveau-né humain**. Nous étudions une première cohorte de $n = 6$ nouveau-nés prématurés et $n = 4$ nouveau-nés à terme pour évaluer d'éventuelles différences de connectivité (section 4.2) liées à la prématurité. Nous testons ensuite la faisabilité de l'évaluation de la connectivité par imagerie fUS chez le nouveau-né sur une deuxième cohorte de $n = 18$ nouveau-nés prématurés, imagés à terme équivalent, dont un groupe de $n = 9$ nouveau-nés exposés de manière régulière à de la musique pendant leur séjour à l'hôpital (section 4.3). Enfin, nous montrons en dernière partie (section 4.4) quelles sont les limitations actuelles de l'imagerie fUS chez le nouveau-né et les pistes d'amélioration envisagées au sein du projet Conexus visant à construire un neuro-imageur fUS spécialisé pour l'imagerie du nouveau-né.

4.2. Étude de la connectivité fonctionnelle à l'état de repos chez les nouveau-nés à terme et prématurés

4.2.1. Travaux précédents sur l'imagerie fUS pour l'étude de la connectivité cérébrale à l'état de repos chez le nouveau-né

Les premières acquisitions d'imagerie fUS chez le nouveau-né pour l'étude de la connectivité fonctionnelle ont été réalisées par notre laboratoire et en partenariat avec l'Hôpital Robert Debré en juillet et août 2018. Ceci a été possible grâce 1/ à l'intégration de la sonde ultrasonore au sein d'un dispositif personnalisé imprimé en 3D pour stabiliser le maintien de la sonde au-dessus de la fontanelle pendant plusieurs minutes et 2/ au développement d'une méthode de parcellisation des zones cérébrales à partir du recalage d'un volume B-Mode sur le volume d'un atlas IRM.

Le jeu de données se compose de 11 patients, comprenant 6 nouveau-nés prématurés, 4 nouveau-nés nés à terme et un patient pathologique, né à terme, avec une mutation génétique dite KCNQ2 entraînant des crises d'épilepsie ainsi que des tracés EEG atypiques dit de « Burst-Suppression ». Les premières analyses de connectivité statique chez les prématurés ont montré la présence de connectivités intra et interhémisphérique. Une analyse de connectivité dynamique avec la méthode des matrices de phase a été

effectuée en prenant seulement 4 zones cérébrales (lobe frontal et cortex cingulaire de chaque hémisphère). Les résultats de cette analyse dynamique, présentés Figure 85, montrent une diminution d'occurrence d'un état de forte connectivité entre les 4 zones (état 1) et une augmentation des occurrences d'états de déconnexion (états 3 et 4) chez le patient pathologique comparé aux nouveau-nés à terme et prématurés.

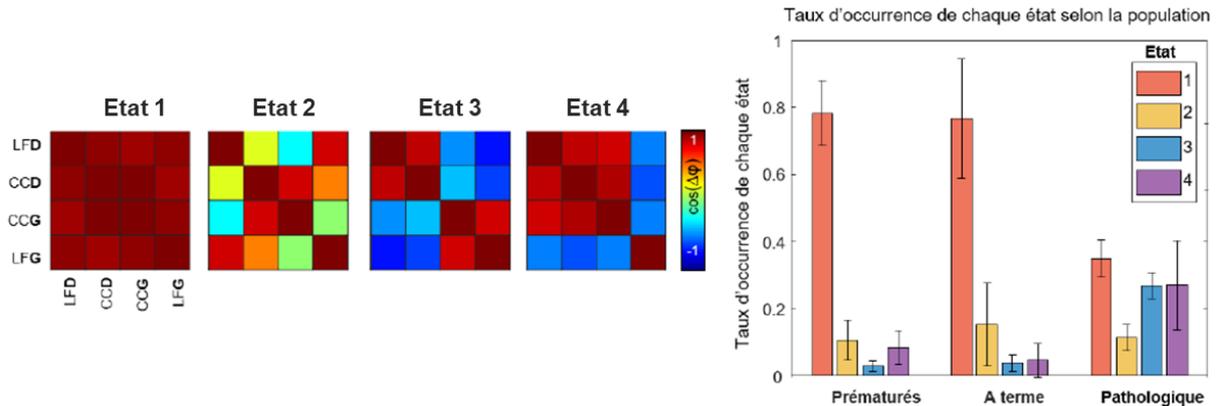


Figure 85. Analyse dynamique de connectivité par matrices de phase chez des nouveau-nés sains et un nouveau-né pathologique. À gauche, les centroïdes résultantes de l'algorithme des K-moyennes sur des matrices de phase et à droite le taux d'occurrence de chaque état pour chaque groupe de population. On remarque une diminution d'occurrence de l'état 1 (pleine connectivité) et une augmentation d'occurrence des états 3 et 4 (états de déconnexion) chez le nouveau-né pathologique (D'après la thèse de Jérôme Baranger).

Toutefois, dans l'étude de connectivité dynamique, **aucune différence notable n'avait été notée entre les nouveau-nés à terme et prématurés**. Pourtant, des différences de l'activité cérébrale sont attendues entre les bébés à terme et les prématurés puisque la naissance prématurée survient avant la fin du développement cérébral. Par exemple, le degré de myélinisation des neurones, qui débute à partir de la 28^{ème} semaine de gestation, est différent si le nouveau-né est né à 24SA ou à 36SA. Une étude a notamment montré des changements de la microstructure de la substance blanche avec une augmentation de la fraction d'anisotropie et une diminution de la diffusivité moyenne mesurée par IRM de diffusion entre 30 et 40 semaines [5]. Dans cette étude, les auteurs montrent également une augmentation de la connectivité fonctionnelle interhémisphérique en IRMf. Smyser et *al.* [6] ont par ailleurs montré, grâce à une analyse longitudinale, le développement de certains réseaux cérébraux avec l'âge gestationnel et notamment une diminution de connectivité interhémisphérique chez les nouveau-nés prématurés. Dans cette étude, ils montrent également qu'à l'âge à terme équivalent, les enfants nés prématurément n'ont pas les mêmes connections thalamo-corticales que des nouveau-nés contrôles nés à terme. Cette **différence de maturation des connexions**

thalamo-corticales entre les nouveau-nés à terme et ceux prématurés est montrée dans d'autres études [7][8].

Il était dès lors intéressant de se demander s'il était possible de mettre en lumière cette différence de connectivité fonctionnelle, entre les nouveau-nés nés à terme et ceux nés prématurément, par l'imagerie fUS sur la cohorte de patients déjà étudiée. C'est le sujet de l'étude présentée dans ce paragraphe.

4.2.2. Méthodes

4.2.2.1. Cohorte

Les acquisitions ont été réalisées à l'Hôpital Robert Debré avec le Pr Valérie Biran et Dr Alice Frérot du service de néonatalogie et Dr Catherine Delanoë du service d'exploration fonctionnelle ainsi qu'avec la collaboration du Pr Olivier Baud des Hôpitaux Universitaires de Genève. Les nouveau-nés prématurés sont nés entre 26 et 32 SA et imagés au jour postnatal 9 ± 3 . Nous nous intéressons ici aux $n=6$ prématurés et $n=4$ nouveau-nés nés à terme.

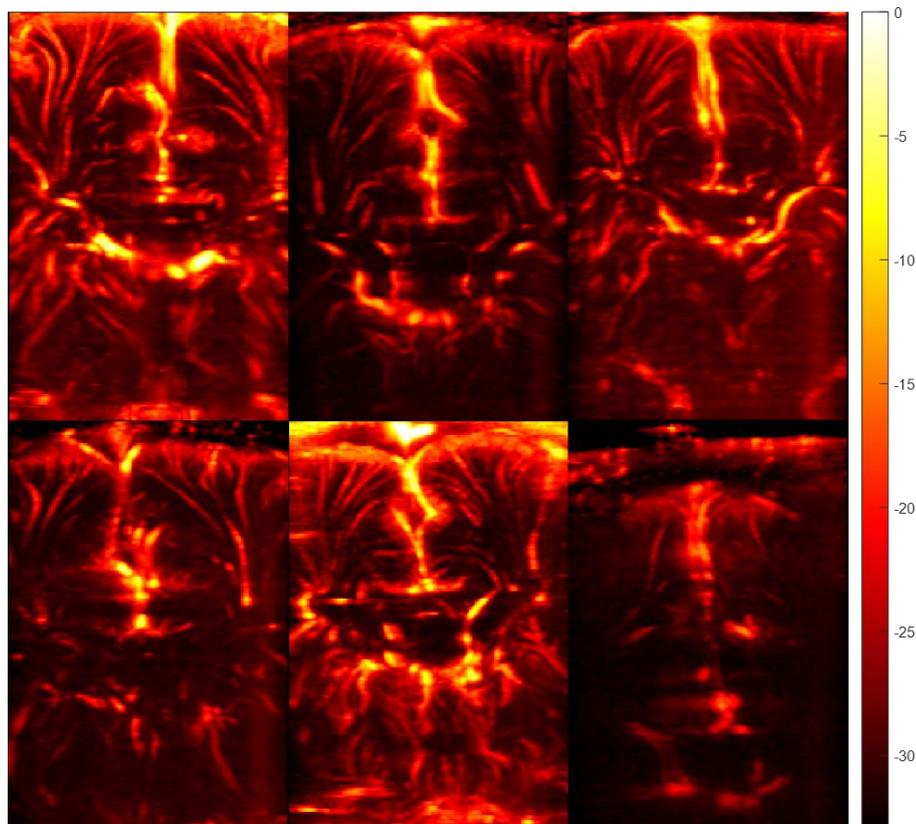


Figure 86. Image Doppler de puissance de 6 nouveau-nés prématurés de la cohorte, imagés au jour postnatal 9. On remarque que la profondeur d'imagerie de 50mm permet pour la plupart de ces enfants d'imager des structures sous les ventricules telles que le thalamus.

4.2.2.2. Acquisitions fUS

Les acquisitions fUS ont été réalisées avec l'échographe clinique Aixplorer au chevet du patient dans un plan coronal. La séquence ultrasonore utilise trois ondes planes inclinées $[-3^\circ, 0^\circ, 3^\circ]$ avec une PRF de 1800 Hz sur une durée de 570 ms d'acquisition soit un bloc de 342 images IQ suivi d'une pause de 330 ms. On peut ainsi obtenir une image Doppler de puissance par seconde après filtrage des données IQ par SVD (Figure 86). La durée de l'acquisition est de 20 minutes pour laquelle on obtient donc 1 200 images Doppler de puissance. La sonde est maintenue sur un porte sonde qui s'aimante à l'intérieur d'une couronne de maintien s'adaptant à la courbure de la tête du nouveau-né tout en laissant la place pour tourner la sonde. L'ensemble est maintenu par un bonnet/ harnais compatible avec l'utilisation d'une ventilation assistée et d'un bonnet EEG (Figure 87).



Figure 87. **Acquisition en contexte clinique.** L'échographe peut être placé facilement à côté de la couveuse du patient (à gauche) et le système de fixation permet de maintenir la sonde, une fois placée par un néonatalogiste expérimenté au-dessus de la fontanelle, pendant les 20 minutes d'acquisition.

4.2.2.3. Prétraitement

Après l'obtention des images Doppler de puissance, la première étape de prétraitement consiste à recalibrer chacune de ces images avec la première afin de s'assurer qu'un pixel correspond toujours à la même zone cérébrale. En effet malgré le maintien de la sonde par le harnais, lors des mouvements du bébé, le champ de vue peut être modifié. Les potentiels artéfacts de mouvements sont détectés manuellement et les images correspondantes supprimées de l'acquisition. Les étapes suivantes de prétraitement consistent en un filtrage spatial léger (filtre gaussien de largeur à mi-hauteur 0.5 mm) et en un filtrage temporel passe bande $[0.01 \text{ } 0.1]$ Hz (filtre Butterworth d'ordre 5) suivis d'une normalisation. Afin de pouvoir moyenner les signaux CBV pour différentes zones

d'intérêt, il a d'abord été nécessaire de recalibrer un atlas IRM sur les acquisitions fUS. Pour cela les volumes des structures remplies de liquide cébrospinal ont été extraits de l'atlas IRM et également d'une acquisition tomographique 3D B-Mode, afin d'être recalés l'un sur l'autre. Une fois le recalage effectué il a été possible d'inclure à l'analyse les thalamus droit et gauche. On considère donc 6 zones : lobe frontal droit (LFD) et gauche (LFG), cortex cingulaire droit (CCD) et gauche (CCG) et thalamus droit (TD) et gauche (TG) (Figure 89). La profondeur d'imagerie étant limitée à 50 mm pour des raisons techniques d'acquisition et de transfert de données, on parvient à imager quasiment l'entièreté du cerveau pour un nouveau-né né prématurément, mais il peut être difficile d'atteindre des structures profondes pour un nouveau-né à terme, ce qui a restreint l'analyse à 4 zones pour la comparaison du nouveau-né pathologique avec mutation KCNQ2.

4.2.2.4. Analyse de connectivité statique

Comme dans le chapitre précédent, nous souhaitons comparer les matrices moyennes de connectivité statique afin d'évaluer une différence de connectivité globale (section 3.2.2). Pour cela, une plage temporelle continue de 300 s des signaux CBV prétraités est sélectionnée, pour chaque individu, afin de calculer les coefficients de corrélations entre les zones cérébrales et de construire chaque matrice de connectivité individuelle. Ensuite, on calcule pour chaque groupe (à terme/prémas) la matrice moyenne de connectivité statique, puis on lui applique une transformation de Fisher (ou transformée en Z). La différence entre les deux matrices moyennes Z-transformées est calculée et l'on teste si l'ensemble des coefficients de cette matrice de différence a une moyenne positive ou négative (t-test unilatéral).

4.2.2.5. Analyse de connectivité dynamique

Comme pour les analyses de connectivité du chapitre précédent, nous avons utilisé la méthode des matrices de phase, donnant pour chaque temps t d'acquisition une matrice de synchronicité évaluée par le cosinus de la différence de phase des signaux (cf section 3.3.2.2).

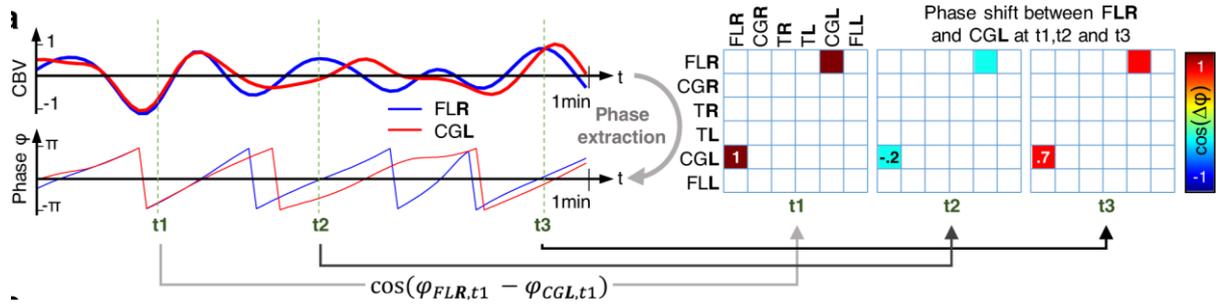


Figure 88. Rappel de la méthode de construction des matrices de phase.

L'algorithme des K-moyennes est ensuite appliqué pour $K = 4$ à l'ensemble des matrices de phase et les 4 centroïdes résultantes sont les états moyens représentatifs de la connectivité dynamique. Les taux d'occurrence des 4 états sont ensuite calculés et comparés par ANOVA.

4.2.3. Résultats

4.2.3.1. L'analyse de connectivité statique montre une plus faible connectivité globale chez les nouveau-nés prématurés

Dans un premier temps, en regardant qualitativement les matrices moyennes de corrélation statique entre les deux groupes, on remarque que les coefficients de corrélation semblent plus fort pour le groupe des nouveau-nés à terme (Figure 89).

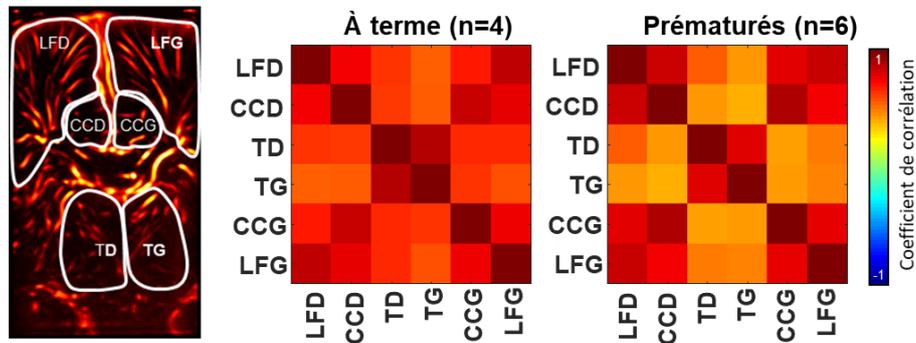


Figure 89. Analyse de connectivité statique entre nouveau-nés à terme et prématurés. À gauche, les contours des zones cérébrales sélectionnées pour les analyses sont tracés sur l'image Doppler de puissance. À droite, les matrices de connectivité statique moyenne pour le groupe des nouveau-nés à terme et des nouveau-nés prématurés. On remarque que la connectivité globale semble plus élevée chez les nouveau-nés à terme.

La moyenne des coefficients de la matrice de différence (Termes - Prématurés) des matrices moyennes Z-transformées est significativement positive ($p < 0.01$) montrant que la connectivité cérébrale globale de ces 6 zones des nouveau-nés à terme est plus forte que celle des nouveau-nés prématurés.

On observe également que les coefficients de la matrice des connexions thalamo-corticale chez le groupe prématuré sont plus faibles, bien que les différences de forces de connectivité, calculées d'après la formule section 3.2.2, pour le thalamus droit et gauche ne soient pas significatives.

4.2.3.2. *L'analyse de connectivité dynamique montre une déconnexion thalamo-corticale chez les nouveau-nés prématurés*

Chaque centroïde résultante de l'algorithme des K-moyennes peut être interprétée comme un réseau cérébral qui est activé de manière dynamique. On retrouve un premier état représentant un état de forte synchronicité globale, proche de la matrice statique des nouveau-nés à terme. L'état 2 est un état de désynchronisation thalamo-corticale modérée tandis que l'état 3 est un état de désynchronisation thalamo-corticale forte (les signaux sont en opposition de phase). On retrouve dans ces deux états le même motif que précédemment observé dans la matrice de connectivité statique des nouveau-nés prématurés. Enfin, l'état 4 représente un état de désynchronisation des cortex cingulaires.

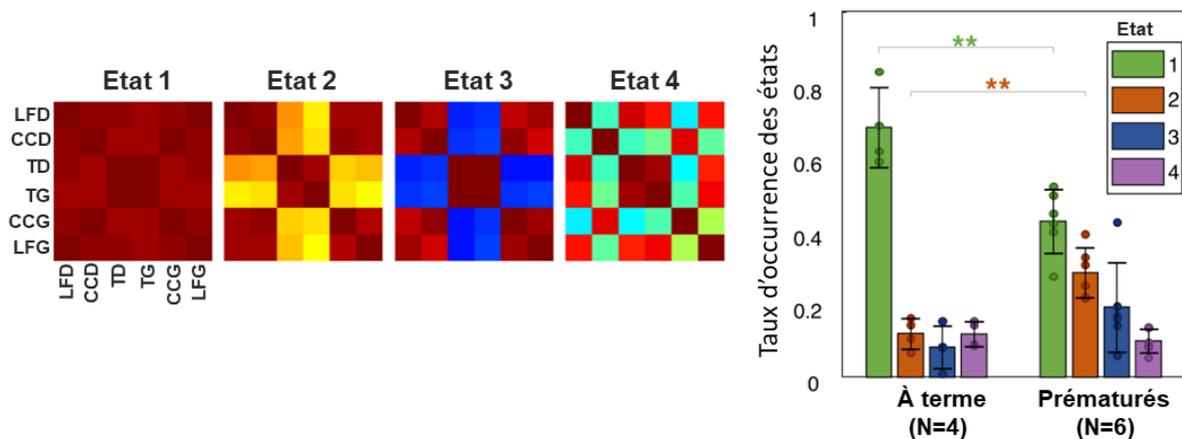


Figure 90. Analyse de connectivité dynamique montrant une déconnexion thalamo-corticale chez le nouveau-né prématuré. États de connectivité résultants de l'algorithme des K-moyennes appliqué aux matrices de phase à 6 zones ainsi que leur taux d'occurrence pour chaque groupe. (** : $p=0.003$, ANOVA)

Les taux d'occurrence nous apprennent que les nouveau-nés prématurés passent significativement moins de temps que les nouveau-nés à terme dans l'état 1 de synchronisation totale ($43 \pm 9 \%$ vs $68 \pm 10 \%$, ANOVA : $p<0.01$) au profit de l'état 2 de désynchronisation thalamo-corticale modérée ($29 \pm 6 \%$ vs $12 \pm 4 \%$, ANOVA : $p<0.01$)(Figure 90). On note également une augmentation de l'occurrence de l'état 3 qui est une désynchronisation thalamo-corticale forte pour les nouveau-nés prématurés, bien que non significative.

On n'observe pas de différence significative entre les deux groupes pour les probabilités de transitions entre états (Figure 91). Il est tout de même intéressant de noter qu'il n'existe pas de transition de l'état 3 vers l'état 1 directement et qu'à partir de l'état 3 le chemin le plus probable est d'aller vers l'état 2 puis vers l'état 1. Cela pourrait être interprété comme une resynchronisation progressive des connexions entre le thalamus et le cortex.

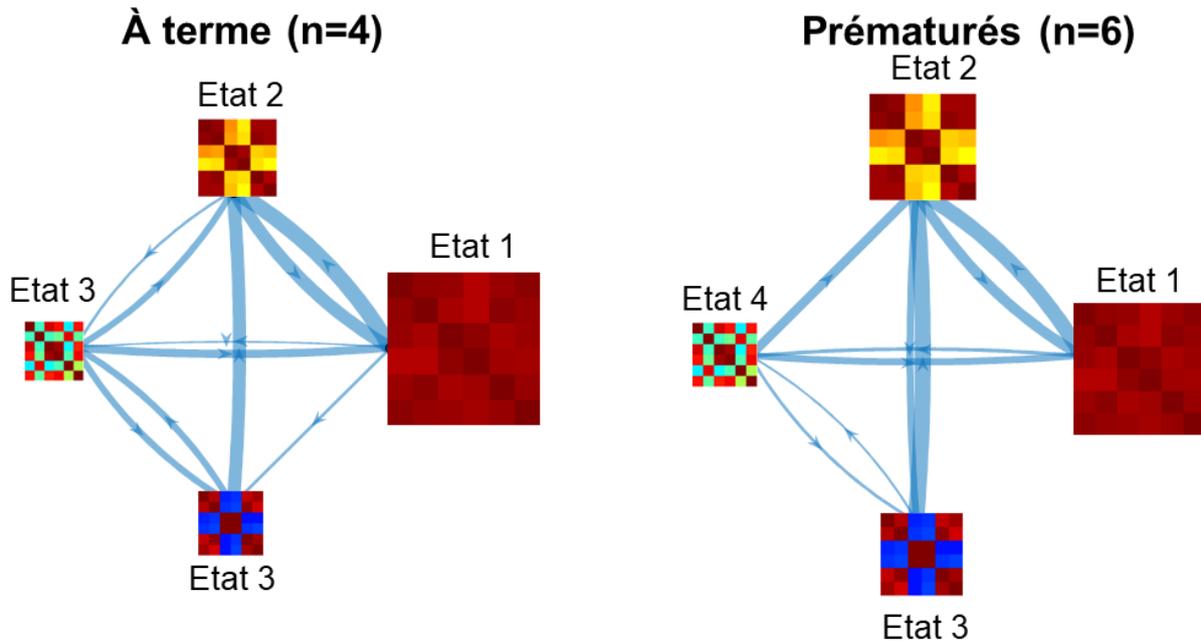


Figure 91. Graphe de transitions entre les états pour les nouveau-nés à terme et prématurés. La taille des matrices est proportionnelle à l'occurrence des états et la largeur des flèches est proportionnelle à la probabilité de transition entre les états. Seules les probabilités inférieures à 0.1 sont représentées.

L'ensemble de ces résultats semblent montrer que la maturité des connexions entre le thalamus et le cortex est différente chez les nouveau-nés prématurés comparés aux nouveau-nés nés à terme.

4.2.4. Discussion

En plus de la faisabilité de l'évaluation de la connectivité à l'état de repos chez le nouveau-né, cette étude a montré que l'analyse dynamique de la connectivité chez le nouveau-né permet de montrer des différences de maturation cérébrale. Notamment, les analyses ont mis en avant une déconnexion thalamo-corticale plus importante chez le nouveau-né prématuré comparée à celle du nouveau-né à terme.

Cette déconnexion thalamo-corticale chez le prématuré est également mise en avant dans d'autres études en IRMf [8] et par imagerie de tenseur de diffusion [7]. La mise en place

des réseaux spécifiques à l'état de repos chez le nouveau-né est un champ de recherche très actif. Fransson *et al.* [9] ont montré pour la première fois en 2007 la présence chez le nouveau-né de certains réseaux cérébraux semblables à ceux de l'adulte, grâce à l'IRMf. Ils ont montré que ces réseaux de l'état de repos consistent principalement en des corrélations entre des zones fonctionnelles semblables entre les deux hémisphères. D'autres études ont montré que ces connexions interhémisphériques sont réduites chez les enfants prématurés [10].

Si l'IRMf a été largement utilisée pour l'évaluation de la connectivité néonatale et a ouvert la voie à de nouvelles méthodes de traitements, d'analyses et d'hypothèses sur le neurodéveloppement, son utilisation est limitée pour les âges très précoces et elle se concentre plutôt sur les premières années de vie [11]. L'imagerie fUS pourrait permettre d'approfondir les connaissances sur le développement précoce du cerveau car elle est facilement utilisable dès la naissance.

Il est important de rappeler que ces différences observées ne sont pas figées dans le temps. Ainsi certains prématurés rejoindront ensuite une trajectoire neurodéveloppementale normale et ne présenteront aucune pathologie à long-terme. À l'inverse d'autres prématurés auraient besoin de stratégies neuroprotectrices/neurorestauratrices pour favoriser le retour à une trajectoire normale.

4.3. Confirmation de la faisabilité de l'évaluation de la connectivité fonctionnelle à l'âge équivalent au terme chez le nouveau-né prématuré

Dans cette seconde étude, menée en collaboration avec le Pr Olivier Baud du service de Pédiatrie des Hôpitaux Universitaires de Genève, l'objectif était dans un premier temps de continuer à évaluer la faisabilité de l'évaluation de la connectivité cérébrale chez les nouveau-nés par imagerie fUS. En particulier, les patients étudiés sont des nouveau-nés prématurés, mais imagés à l'âge équivalent au terme, c'est-à-dire à un âge bien plus avancé que dans l'étude présentée en section 4.2. Ceux-ci sont répartis en deux groupes : un groupe ayant été exposé de manière régulière à de la musique pendant le séjour au centre de soins néonataux et l'autre ayant reçu uniquement les soins standards, sans exposition à la musique. La musique a été composée par Andreas Vollenweider spécialement dans le but d'être utilisée dans des études sur les nouveau-nés (<https://www.vollenweider.com/music-for-preemies>). Sa composition comprend des sons de cloches, de harpes et de *pungi* (flûte utilisée par les charmeurs de serpent) sur un fond

apaisant. L'exposition à la musique en période postnatale, qui enrichit l'environnement sensoriel du nouveau-né, est considérée comme une stratégie neuroprotectrice du développement et son impact sur la connectivité fonctionnelle fait l'objet de recherche en fMRI [12][13].

4.3.1. Méthodes

4.3.1.1. Cohorte et acquisition fUS

Un total de $n = 21$ patients nés prématurément (entre 24 et 32 SA) a été inclus dans l'étude entre 2019 et 2022. Les nouveau-nés du groupe contrôle ($n = 10$) ont reçu, pendant leur séjour à l'unité de soins néonataux, les soins classiques puis ont été imagés par imagerie fUS à l'état de repos pendant 24 minutes à l'âge équivalent au terme, c'est-à-dire à 37 semaines d'aménorrhée (SA). Ceux appartenant au second groupe dit « Musique » ($n = 11$) ont, en plus des soins classiques, été exposés à une musique de manière répétée (2 à 3 fois par jour) à partir de 33 SA jusqu'à 37 SA. La musique d'une durée de 8 minutes a été composée spécialement dans le but d'endormir l'enfant. Les nouveau-nés du groupe Musique ont également été imagés par fUS à 37 SA pendant 24 minutes mais avec 8 minutes d'exposition à la musique au milieu de l'enregistrement. Les caractéristiques de la séquence fUS et du dispositif de maintien de la sonde sont les mêmes que celles décrites pour l'étude précédente en section 4.2.2.2. Toutefois, une légère adaptation du montage de maintien de la sonde a dû être effectuée. Comme les nouveau-nés imagés avaient un âge gestationnel plus grand que ceux de la première cohorte, de nouvelles couronnes de maintien ont été réalisées avec des courbures différentes afin de s'adapter aux différents crânes en fonction de l'âge gestationnel. Ces courbures ont été évaluées à partir de la reconstruction volumique de scan IRM de tête de nouveau-né.

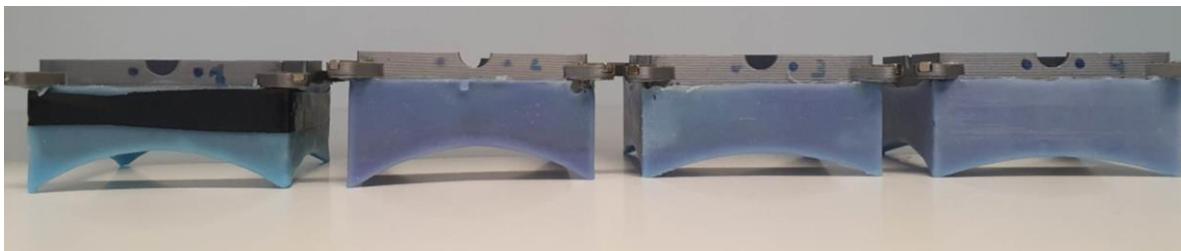


Figure 92. Ensemble des couronnes de maintien disponibles pour la fixation de la sonde en fonction de l'âge gestationnel. Elles sont rangées de gauche à droite par ordre croissant d'âge gestationnel pour lequel elles sont utilisées. La pièce n°1 (à gauche) est celle utilisée dans l'étude précédente. On remarque que la courbe est de plus en plus aplatie.

Sur la totalité des patients inclus, l'enregistrement des acquisitions fUS n'a pas été possible pour 3 nouveau-nés et 4 enregistrements se sont révélés inexploitable. Le protocole a été approuvé par le comité d'éthique local, il respecte la déclaration d'Helsinki de l'Organisation Mondiale de la Santé en matière de recherche médicale impliquant des sujets humains. Les acquisitions ultrasonores suivent les recommandations de la FDA (Food and Drug Administration, Track 3) en termes de puissance acoustique et de température d'élévation de la sonde.

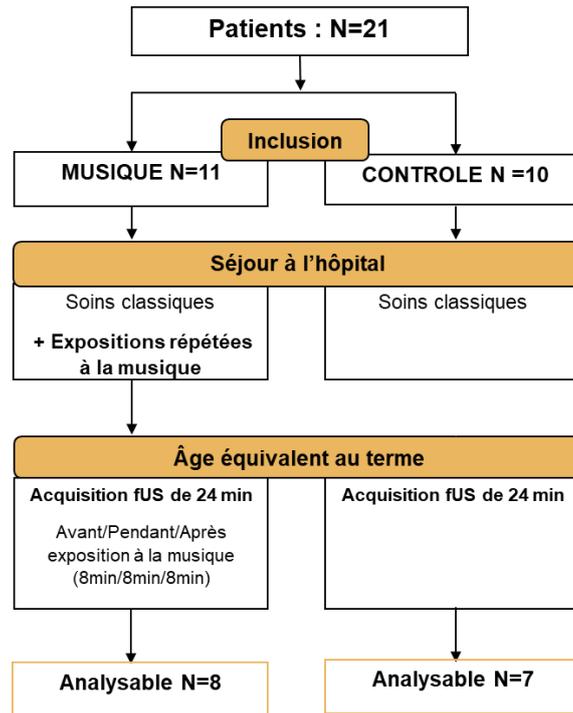


Figure 93. Diagramme de flux du protocole d'écoute de la musique

4.3.1.2. Prétraitement du signal

Les étapes de prétraitement sont semblables à celles employées dans l'étude précédente, cependant de légères adaptations ont été nécessaires au vu des premières acquisitions de cette cohorte. En effet, la plupart des patients de cette cohorte possèdent un large espace sous-arachnoïdien (Figure 94), ce qui n'est pas rare pour des nouveau-nés nés prématurément.

Notamment, afin d'améliorer le filtrage par SVD, il a été décidé de retirer les premiers millimètres du haut des images IQ contenant le crâne, le sinus veineux et l'espace sous-arachnoïdien et d'appliquer le filtrage SVD sur la partie conservée contenant uniquement le cerveau.

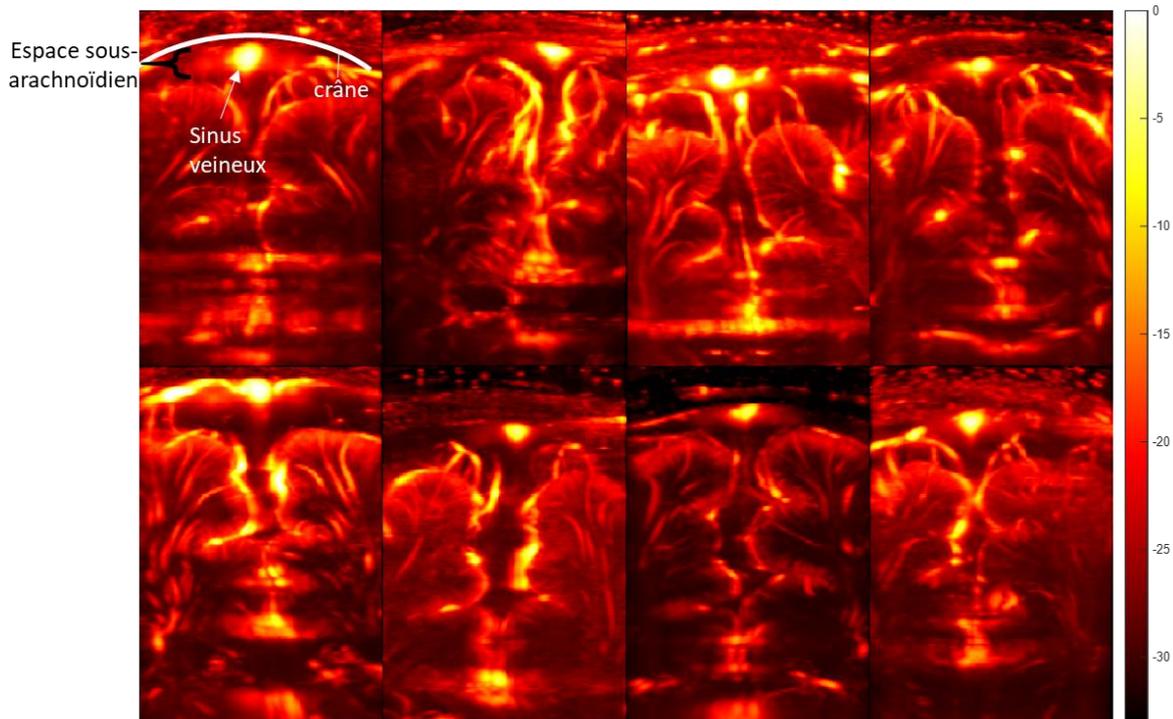


Figure 94. Doppler de puissance de 8 nouveau-nés prématurés imagés à l'âge équivalent à terme (37SA). On remarque l'espace entre la sonde et le crâne ainsi que le large espace sous-arachnoïdien.

Les acquisitions comportaient également plus d'artéfacts de mouvements que dans l'étude précédente, probablement dû au fait que les nouveau-nés étaient imagés à 37SA et commençaient donc à avoir plus de sommeil agité et de phases d'éveil qu'à la naissance. Pour certaines acquisitions, un léger changement de plan rendait difficile le recalage avec la première image de l'acquisition. Pour faciliter le recalage entre images, chaque image était recalée sur l'image moyenne des dix images précédentes.

Le processus de recalage de l'atlas n'a pas été possible de par l'absence d'acquisition B-mode de qualité. Les zones fonctionnelles d'intérêt ont donc été tracées manuellement en fonction de repères vasculaires. Nous avons sélectionné seulement 4 zones : lobe frontal droit (LFD) et gauche (LFG), cortex cingulaire droit (CCD) et gauche (CCG). A cause du large espace sous-arachnoïdien de ces nouveau-nés et de leur plus grand âge gestationnel au moment de l'imagerie fUS, la profondeur d'imagerie de 60 mm ne permettait pas, en général, d'imager les structures profondes telles que le thalamus.

Nous avons également utilisé le débruitage par CCA, après recalage des images entre elles, pour retirer le plus d'artéfacts de mouvements visibles sur le signal CBV (Figure 95), sans avoir à supprimer les images correspondantes. Toutefois, certains passages étaient trop bruités pour pouvoir évaluer la connectivité fonctionnelle et les plages de

temps correspondantes ont été supprimées de l'analyse. Le débruitage par CCA a tout de même permis de garder des plages de temps continues les plus longues possibles.

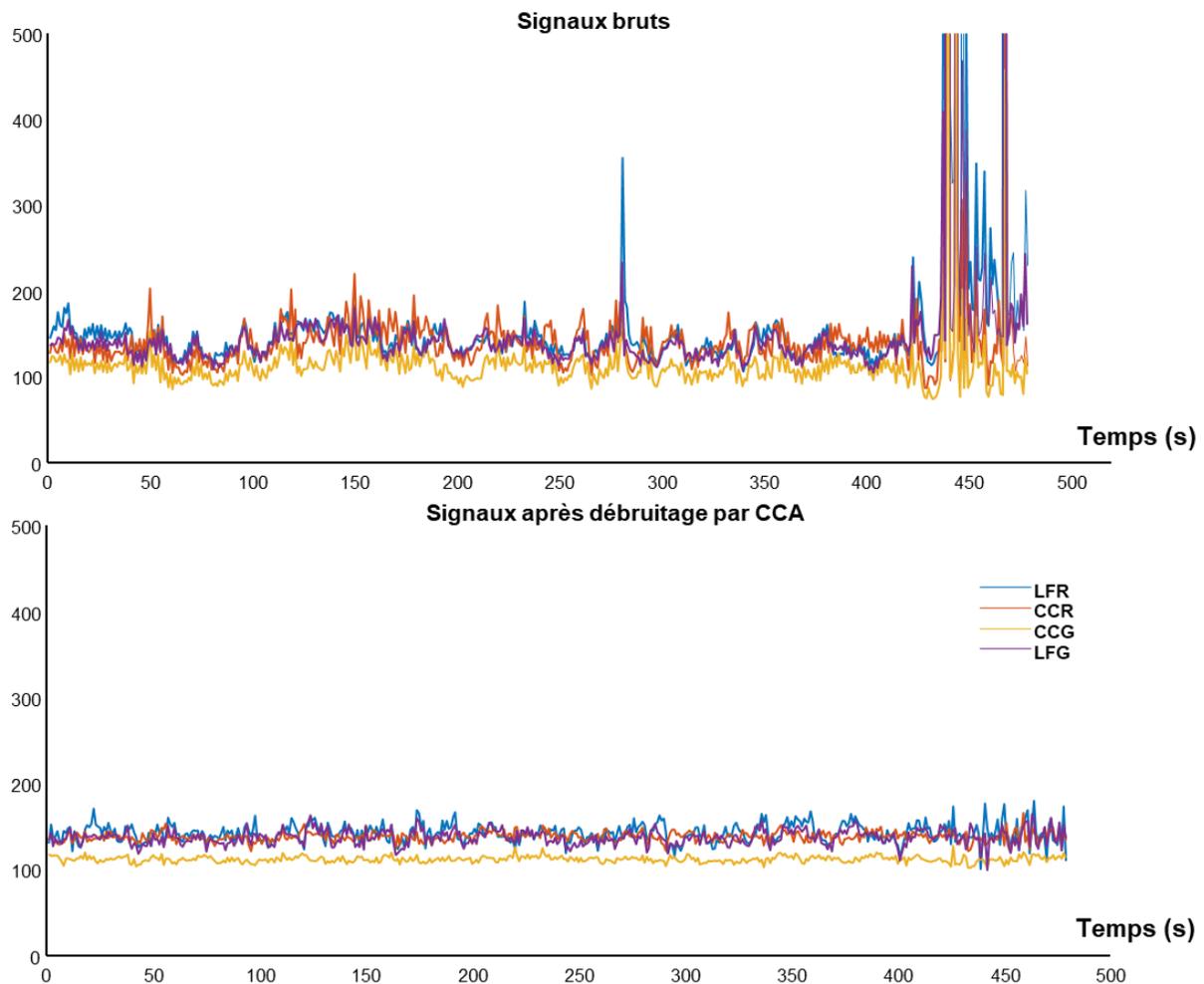


Figure 95. Illustration de l'effet du débruitage par CCA sur les signaux CBV. Signaux CBV moyen pour les 4 zones cérébrales étudiées avant (en haut) et après (en bas) débruitage par CCA. On remarque sur le graphe du bas la suppression des pics d'artéfacts de mouvement ainsi qu'une fluctuation globale commune.

Pour plusieurs patients, on peut remarquer sur les images Doppler de puissance une traînée horizontale légèrement au-dessus du corps calleux (Figure 96 flèches blanches). Elle est générée par le mouvement de l'artère péricalleuse (qui passe orthogonalement au plan d'imagerie au milieu de cette traînée), qui par sa forte intensité contamine le signal des pixels alentours lors de l'étape de reconstruction de l'image. Cet artéfact, qui n'était pas observé sur le jeu de données de l'étude précédente, pourrait s'expliquer par la particularité de ces nouveau-nés prématurés qui ont un large espace sous-arachnoïdien laissant l'artère péricalleuse bouger plus facilement. En créant la carte de corrélation avec une zone contenant l'artère péricalleuse (Figure 96 ovale blanc), on remarque que les

signaux des pixels sur toute une bande horizontale au niveau de l'artère sont fortement corrélés. Cet artefact va induire une corrélation forcée entre les cortex cingulaires.

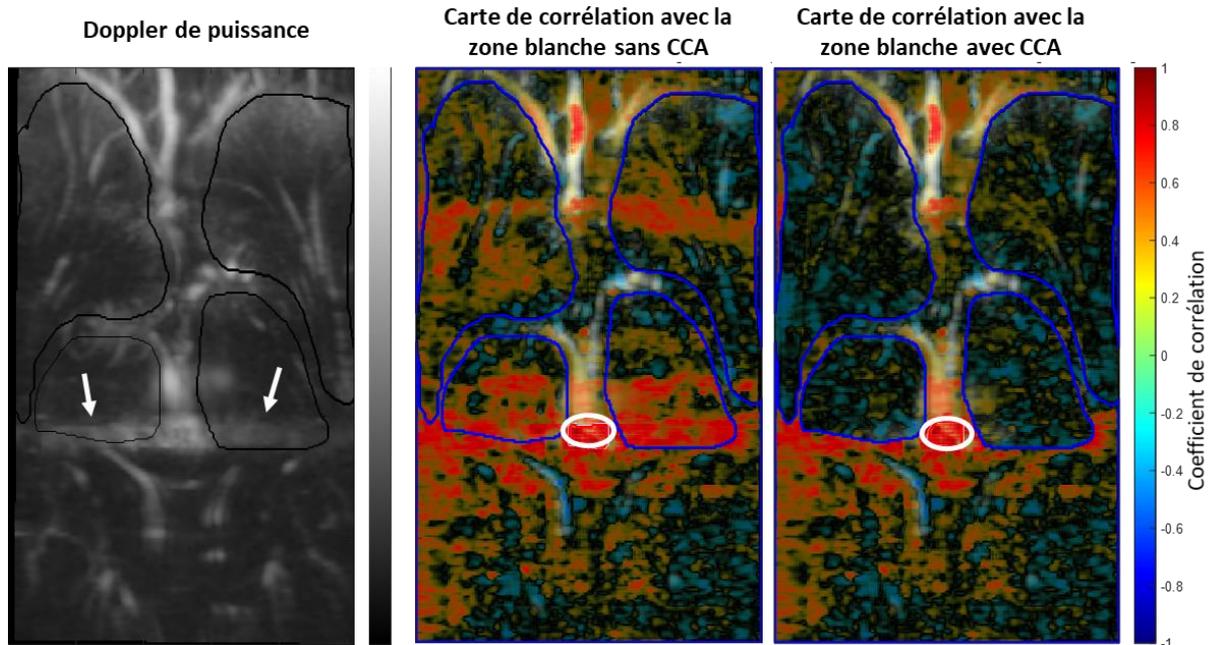


Figure 96. Suppression de la corrélation induite par un artefact généré par la pulsativité de l'artère péricalleuse.

Comme vu précédemment, le prétraitement par CCA permet en fonction de la zone artéfactuelle sélectionnée de retirer également des artefacts physiologiques (section 3.3.1). Nous allons donc ici choisir une zone artéfactuelle qui inclut l'artère péricalleuse, et aussi le corps calleux et lorsque cela est possible les ventricules. Cette zone artéfactuelle, bien qu'à l'intérieur du cerveau, ne contient *a priori* pas de signaux liés à l'activité cérébrale. Une fois les aires cérébrales d'intérêt débruitées par CCA, on remarque que la large bande horizontale de forte corrélation n'apparaît plus sur la carte de corrélation (Figure 96, à droite) dans les zones d'intérêts débruitées (délimitées en bleu).

4.3.1.3. Analyse de connectivité

Puisque les enfants du groupe Musique ont été exposés à la musique plusieurs fois par jour pendant plusieurs semaines avant la session d'imagerie, l'analyse de la connectivité sur les 8 premières minutes d'enregistrement fUS pourrait permettre d'évaluer **l'effet à long-terme de l'exposition à la musique**. Pendant ces 8 premières minutes, aucun des deux groupes n'est exposé à la musique.

À l'inverse, l'analyse de la connectivité entre la 8^{ème} et la 16^{ème} minute d'enregistrement permettrait d'évaluer **l'effet à court-terme de la musique**, puisqu'il s'agit de la

période d'enregistrement fUS où le groupe Musique est en train d'écouter de la musique. Le groupe contrôle n'est pas exposé à la musique pendant cette période.

Nous appliquons pour chacune de ces deux périodes, la méthode d'analyse statique, telle que décrite dans l'étude précédente, et une analyse de connectivité dynamique par la méthode des matrices de phases. Les états globaux sont d'abord déterminés avec l'algorithme des K-moyennes, pour $K = 5$, sur l'ensemble du temps d'acquisition, puis nous comparons les occurrences et les durées des états entre les deux groupes calculés sur chacune des deux périodes mentionnées.

4.3.2. Résultats

4.3.2.1. Effet long-terme de la musique

Dans un premier temps, nous avons donc effectué **l'analyse de connectivité statique** entre le groupe Musique et le groupe Contrôle sur les 8 premières minutes d'acquisition, correspondant à la **période avant l'exposition à la musique pour le groupe Musique**.

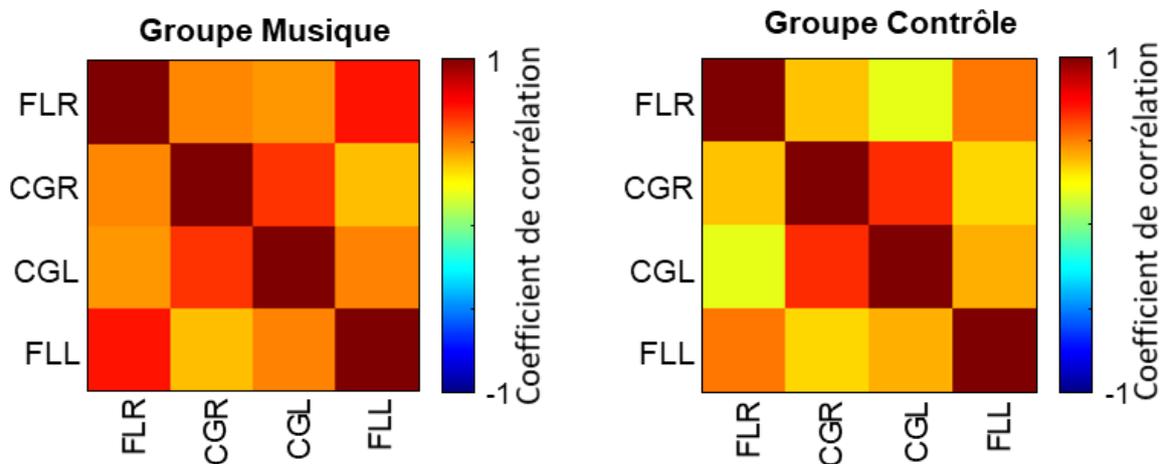


Figure 97. Analyse statique de la connectivité pour évaluer l'effet à long-terme de la musique. On représente les matrices de connectivité statique moyenne calculées les 8 premières minutes d'acquisition, avant l'exposition à la musique pour le groupe Musique. On remarque des coefficients plus élevés pour le groupe ayant été exposé à la musique régulièrement.

L'observation des matrices moyennes de chaque groupe semble indiquer des coefficients de corrélation plus élevés pour le groupe Musique. Pour confirmer ces observations, nous calculons la moyenne des coefficients de la matrice de différence (Musique - Contrôle) des matrices moyennes Z-transformées, que l'on trouve être significativement positive ($p=0.02$). Cela montre que la connectivité cérébrale globale des 4 zones des nouveau-nés

du groupe Musique est plus forte que celle des nouveau-nés du groupe Contrôle dans la première phase d'acquisition. Cela suggère que la **musique augmente la connectivité globale à long-terme**. Cette augmentation de la connectivité a également été suggérée par une étude en IRMf montrant une plus grande connectivité entre des réseaux cérébraux pour les nouveau-nés ayant été exposés à de la musique lors du séjour à l'hôpital [13].

Pour avoir une lecture plus fine de l'impact de la musique sur la connectivité fonctionnelle, nous avons ensuite conduit une **analyse de connectivité dynamique** entre les deux groupes. En considérant les états trouvés par l'algorithme des K-moyennes appliqué aux matrices de phases de toute la durée de l'acquisition, nous avons calculé leur taux d'occurrence et leur durée uniquement sur la période précédant l'exposition à la musique pour les comparer.

Les distances intraclusters des 5 centroïdes résultants de l'algorithme des K-moyennes sont plus petites que les distances interclusters (Figure 98), ce qui indique une bonne représentation des données par ces 5 états globaux. L'état 1, le plus fréquent, est un état de forte connectivité entre les 4 zones cérébrales. L'état 2 est un état de forte connectivité interhémisphérique uniquement. Enfin les états 3, 4 et 5 sont des états avec déconnexion d'une zone spécifique, respectivement le lobe frontal gauche, le lobe frontal droit et le cortex cingulaire gauche.

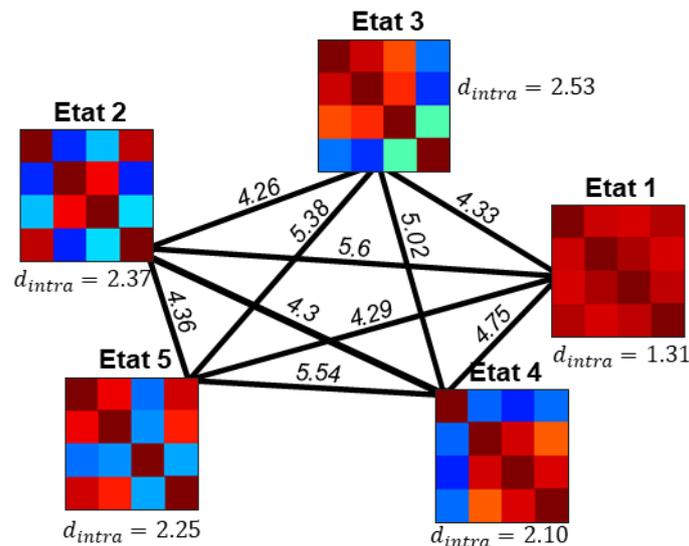


Figure 98. Comparaison des distances interclusters (traits noirs) et intraclusters (d_{intra})

L'analyse des taux d'occurrence et de la durée des états montre une diminution significative d'occurrence de l'état 4 (état de déconnexion du lobe frontal droit) pour le groupe Musique ($p < 0.05$).

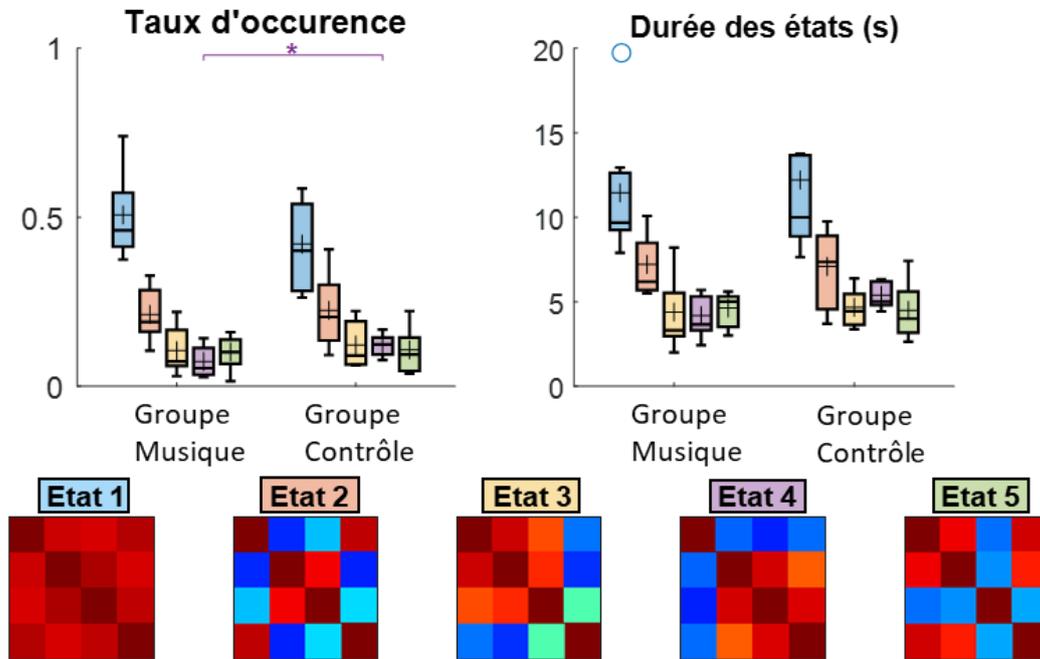


Figure 99. Analyse dynamique de la connectivité pour évaluer l'effet à long-terme de la **musique**. Comparaison des taux d'occurrence et de la durée moyenne des états sur les 8 premières minutes de l'acquisition, correspondant à la période précédant l'exposition à la musique. (* : $p < 0.05$, ANOVA)

Le traitement de la musique par le cerveau est un processus complexe impliquant de nombreuses structures cérébrales, avec une prédominance de l'hémisphère droit. D'après une étude en IRMf, cette asymétrie se retrouve également chez le nouveau-né avec une prédominance de l'activité cérébrale dans la zone temporelle (cortex auditif primaire et secondaire) de l'hémisphère droit [14]. Cependant, la diminution d'occurrence de l'état 4 observée est délicate à interpréter puisqu'il s'agit d'un état avec une occurrence relativement faible et que l'asymétrie concerne une déconnexion d'une zone de l'hémisphère droit (lobe frontal).

4.3.2.2. Effet court-terme de la musique

Nous avons ensuite évalué l'**effet à court-terme de la musique** en réalisant les mêmes analyses statique et dynamique que précédemment, mais sur la période de temps entre la 8^{ème} et la 16^{ème} minute d'acquisition, correspondant à la **période d'exposition à la musique** (uniquement pour le groupe Musique).

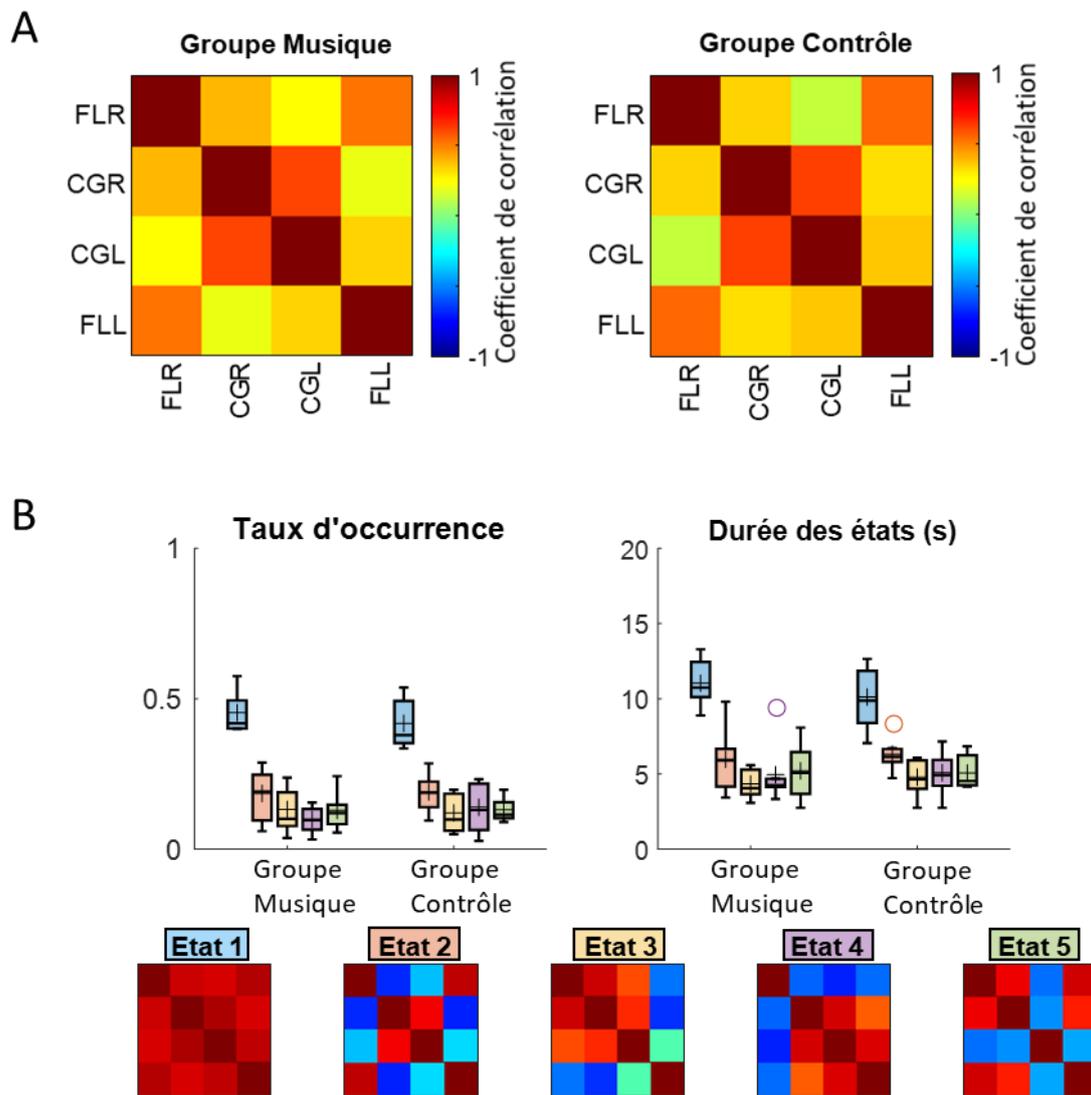


Figure 100. Analyse statique et dynamique de la connectivité pour évaluer l'effet à court-terme de la musique. (A) Représentation des matrices de connectivité statique moyenne calculées entre la 8^{ème} et la 16^{ème} minute d'acquisition, c'est-à-dire pendant l'exposition à la musique pour le groupe Musique. (B) Taux d'occurrence et durée des états des 5 centroïdes résultantes de l'algorithme des K-moyennes, calculés sur la période entre la 8^{ème} et la 16^{ème} minute d'acquisition.

Aucune différence significative ne ressort des analyses statique et dynamique de la connectivité pendant la période d'exposition à la musique. La matrice de connectivité statique du groupe Musique pendant l'écoute de la musique (Figure 100, A) semble toutefois avoir des coefficients de corrélation plus faible par rapport à la matrice de connectivité de la période avant la musique (Figure 97). Il est probable que la connectivité des aires cérébrales concernées par l'écoute de la musique (entre autres, le cortex auditif) soit modifiée, entraînant des modifications globales des réseaux de

connectivités, mais le plan d'imagerie utilisé ici est limité et ne semble pas permettre la caractérisation de ces changements.

4.3.3. Discussion

Cette étude a tout d'abord permis de confirmer la faisabilité de l'évaluation de la connectivité fonctionnelle sur une plus large cohorte de patient. Nous avons également pu confirmer l'efficacité de la méthode de débruitage par CCA pour ces données plus bruitées par des artefacts de mouvements que les acquisitions précliniques avec des animaux anesthésiés.

D'un point de vue clinique, une équipe de chercheurs des Hôpitaux Universitaires de Genève, utilisant un protocole similaire d'exposition ont montré des **bénéfices de ce protocole d'un point de vue structurel, fonctionnel et cognitif/émotionnel**. Du côté structurel, ils ont montré une amélioration de la maturation de la substance blanche dans différentes structures pour les nouveau-nés exposés à la musique comparée à des nouveau-nés avec des soins standards [15]. Concernant la connectivité fonctionnelle, ils ont montré par IRMf que l'exposition à la musique entraîne une plus grande connectivité fonctionnelle entre différents réseaux cérébraux [13]. Enfin, leurs résultats préliminaires sur l'effet de l'intervention de la musique sur les capacités cognitives et émotionnelles montrent que la musique semble atténuer les différences entre les nouveau-nés prématurés et les nouveau-nés à terme pour la gestion de la peur à 12 mois et la gestion de la colère à 24 mois [16]. De plus, une étude de la connectivité fonctionnelle mesurée par EEG a montré, chez l'adulte, qu'à long-terme l'écoute de la musique augmentait la connectivité fonctionnelle et les connexions du lobe frontal [17].

Si nos résultats de connectivité statique vont également dans le sens d'une augmentation de la connectivité, nous devons rester prudents sur l'interprétation des différences en analyse dynamique de la connectivité. En effet, le nombre de zones étant limité à 4, de par la limitation de la profondeur d'imagerie à 50 mm, les états trouvés ne sont qu'un aperçu partiel des réseaux cérébraux présents dans le cerveau et ne décrivent peut-être pas suffisamment l'ensemble des réseaux présents. Nous n'avons pas pu, par exemple, imager le thalamus pour ces nouveau-nés imagés à l'âge équivalent au terme, or nous avons vu lors de la première étude en section 4.2 que les connexions thalamo-corticales semblent justement être un marqueur important du neurodéveloppement. Il aurait également pu être intéressant de pouvoir imager le cortex auditif, situé dans le lobe

pariétal, pour étudier l'activation du réseau auditif lors de l'exposition à la musique, mais le champ de vue accessible n'était pas assez large.

Des différences de connectivité plus marquantes existent probablement entre ces deux groupes, mais les limitations technologiques au moment de l'acquisition de ces données n'ont pas permis de se placer dans les conditions adéquates pour les observer. Nous verrons dans la section suivante, les pistes envisagées pour améliorer les conditions d'acquisitions de l'imagerie fUS chez le nouveau-né, notamment avec le développement d'un nouveau neuro-imageur fUS.

4.4. Limitations actuelles de l'imagerie fonctionnelle chez le nouveau-né et perspectives pour un nouvel neuro-imageur

Pour espérer utiliser le fUS en tant que modalité d'imagerie clinique pour le suivi de pathologies néonatales, plusieurs points sont à optimiser pour élargir les possibilités d'applications et pour rendre son utilisation plus facile lors des acquisitions. Le projet Conexus, porté au laboratoire et en collaboration avec Iconeus, vise à la création d'un nouvel échographe clinique conçu spécialement pour l'imagerie fonctionnelle du nouveau-né au chevet du patient.

Nous allons, dans un premier temps, aborder les limitations de l'imagerie fonctionnelle chez le nouveau-né auxquelles doit répondre la construction de ce nouvel échographe, puis dans un second temps, voir les solutions envisagées lors de la réalisation du projet et enfin les perspectives d'utilisation.

4.4.1. Limitations actuelles de l'imagerie fonctionnelle chez le nouveau-né et cahier des charges de l'échographe

4.4.1.1. Limitations actuelles

Comme nous avons commencé à l'aborder dans les précédentes sections, une des principales limitations est le **champ de vue restreint accessible actuellement**. Ne permettant pas d'imager tout le cerveau, surtout pour les nouveau-nés à terme, il limite les applications possibles sur l'étude de la connectivité fonctionnelle. Une autre limitation importante est la **cadence d'imagerie** des images Doppler de puissance que l'on veut maintenir **la plus rapide possible**, avec un minimum d'une image par seconde, afin de pouvoir observer des phénomènes vasculaires rapides.

Ces deux limitations sont en réalité liées et ont principalement une origine technologique. En effet, plus on augmente le champ de vue et/ou la cadence d'imagerie et plus on augmente la taille des données acquises à transférer et stocker, et cela nécessite du temps. Ce délai de transfert nous contraint à effectuer des compromis entre la taille du champ de vue et la cadence d'imagerie. Par exemple, pour les deux études précédemment évoquées, avec l'échographe Aixplorer, la profondeur avait été fixée à 50 mm afin de conserver une cadence d'imagerie d'une image par seconde.

La cadence et la profondeur d'imagerie sont également liées par la physique. Plus on veut imager profondément, plus la fréquence d'acquisitions entre deux ondes planes doit diminuer. En effet, lorsque la profondeur augmente l'onde ultrasonore a besoin de plus de temps pour faire l'aller-retour entre les piézoélectriques et la profondeur maximum que l'on souhaite imager. Pour compenser cette durée supplémentaire d'acquisitions tout en gardant une cadence finale d'imagerie de Doppler de puissance convenable pour imager les fluctuations du CBV liées, il est possible d'adapter le nombre d'émissions compoundées et le nombre d'images par bloc IQ. La cadence d'imagerie limite est d'environ 1 image par seconde, ce qui permet d'échantillonner des fréquences jusqu'à 0.5 Hz tout en respectant la fréquence de Nyquist.

La largeur du champ de vue est principalement limitée par la sonde utilisée. La largeur de la sonde a été conçue pour correspondre à l'anatomie du nouveau-né et être positionnée au-dessus de la fontanelle antérieure, sans dépasser au-dessus des os. L'envoi d'ondes planes ne permet d'imager que les zones cérébrales situées en dessous de la sonde, car l'énergie envoyée sur les côtés est trop faible pour pouvoir reconstruire l'image correctement sur les bords. Une fois positionnée en sagittal ou en coronal, il est toutefois possible d'incliner légèrement la sonde d'avant en arrière pour imager d'autres plans. Le dispositif mis en place, avec l'intégration d'un moteur rotationnel pour incliner la sonde, permet alors de faire un scan 3D vasculaire du cerveau du nouveau-né. Dans son ancienne version, l'évaluation de la connectivité fonctionnelle était réalisable uniquement en 2D car le temps de déplacement du moteur et de transfert des données était trop long pour faire des acquisitions multi-plan avec une cadence d'imagerie convenable.

4.4.1.2. Cahier des charges

Pour résumer, le cahier des charges pour un nouvel neuro-imageur clinique pour l'évaluation de la connectivité doit inclure :

- Un champ de vue élargi pour tous les âges gestationnels

- Une cadence d'imagerie rapide (au minimum 1 image par seconde)
- Un transfert de données plus rapide

Nous pouvons également ajouter les critères suivants pour que l'échographe soit un outil de clinique performant :

- Une meilleure sensibilité d'imagerie
- Une bonne ergonomie d'utilisation pour le médecin (placement/maintien de la sonde, facilité d'utilisation du logiciel)
- Pas d'inconfort pour le nouveau-né
- Le respect des normes cliniques

4.4.2. Solutions techniques étudiées pour le neuro-imageur de la connectivité fonctionnelle du nouveau-né

4.4.2.1. Développement de séquences ultrasonores en ondes divergentes

Nous avons choisi d'utiliser pour l'émission des ondes ultrasonores, des **ondes divergentes** et non des ondes planes, afin d'élargir le champ d'imagerie. La focalisation à postériori réalisée avec une base d'ondes planes permettant de réaliser de l'imagerie ultrarapide est également possible avec l'utilisation d'une base d'ondes divergentes. Une onde plane peut en fait être vue comme un cas particulier d'une onde divergente dont la source est placée à l'infini.

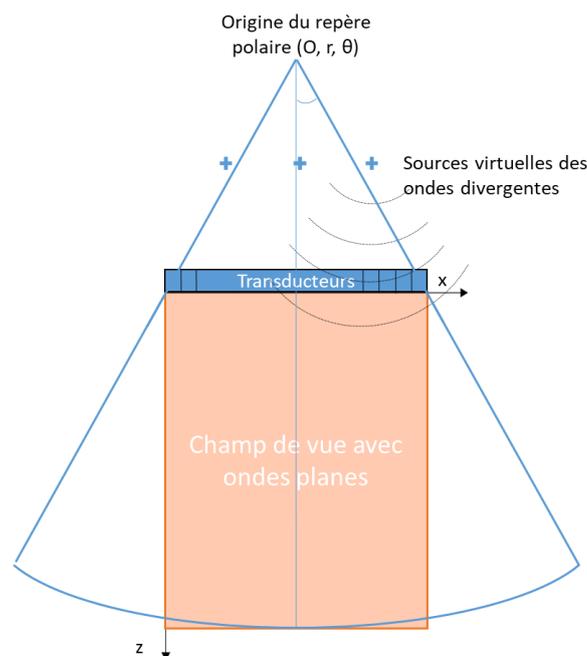


Figure 101. Champ de vue élargi grâce à l'utilisation d'ondes divergentes.

Pour la phase d'émission, au lieu de définir un angle d'inclinaison des ondes, il faut définir, pour les ondes divergentes, les sources virtuelles d'où proviendraient les ondes (Figure 101). On calcule alors les délais à appliquer aux piézoélectriques pour créer ces ondes divergentes. La phase de réception des ondes ultrasonores est comparable à celle en ondes planes. En revanche pour la phase de reconstruction de l'image, on préfère reconstruire l'image dans un repère polaire (Figure 101), afin de ne reconstruire l'image uniquement pour les pixels insonifiés et ainsi diminuer à la fois le temps de reconstruction et le stockage des données. Pour optimiser le temps de reconstruction des images, on a utilisé une parallélisation de l'algorithme de beamforming sur GPU.

Dans le cadre du projet PREMSTEM, dont un des objectifs secondaires est le développement de l'imagerie fonctionnelle ultrasonore pour imager le cerveau d'agneau, nous avons eu l'occasion de tester la séquence implémentée en ondes divergentes, au sein de l'équipe de Tim Wolf à Maastricht. Malheureusement, chez l'agneau, il n'y a pas de grande fontanelle comme chez l'homme. Il existe uniquement une ouverture cartilagineuse des os du crâne sur 4×2 mm. Pour pouvoir imager la totalité du cerveau, une profondeur d'imagerie d'environ 4 cm est nécessaire. Pour ces premiers tests d'imagerie chez l'agneau, ne sachant quelle sonde serait optimale, nous avons testé plusieurs sondes :

- sonde LA-6 : Réseau linéaire, 128 éléments, 6.25 MHz (sonde utilisée chez le nouveau-né humain)
- sonde PA-64 : phased array, 64 éléments, 5.2 MHz
- sonde XP5-1 : phased array, 96 éléments, 2.5 MHz (sonde utilisée pour l'imagerie transcrânienne chez l'adulte)
- sonde micro-convexe : 128 éléments, 6.25 MHz

Les acquisitions ont été réalisées le lendemain de la naissance des agneaux pendant une phase de sommeil sans anesthésie. Nous avons utilisé un échographe IconeusOne et les sondes ont été tenues manuellement.

Lors des premières séances d'imagerie, nous avons réussi à obtenir des images acceptables uniquement avec la sonde PA-64. L'administration d'un agent de contraste ultrasonore (SonoVue®) a permis d'améliorer la qualité d'image.

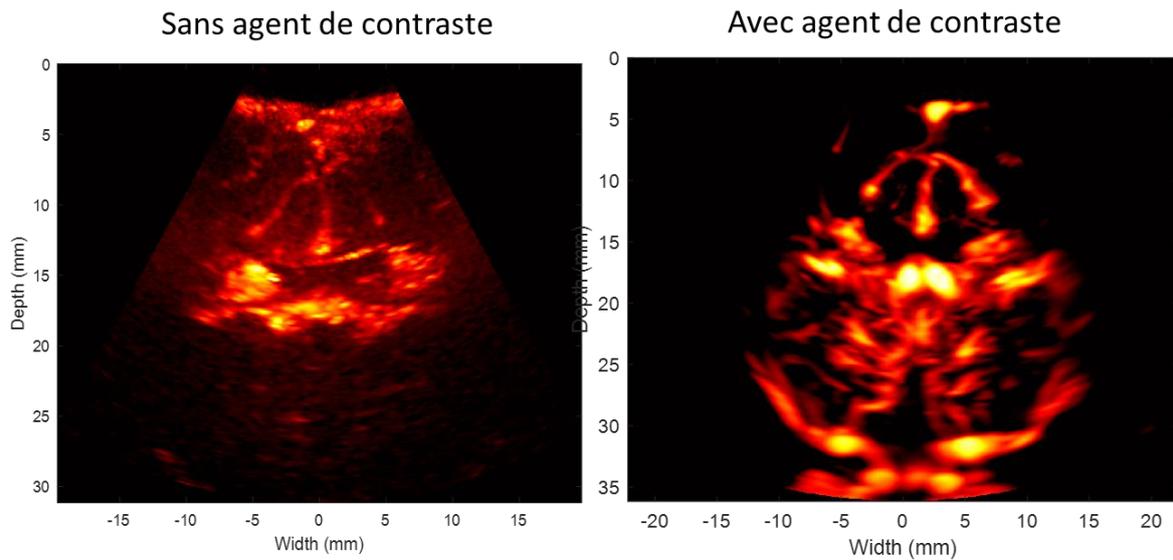


Figure 102. Doppler de puissance moyen d'un cerveau de mouton nouveau-né avec ou sans agent de contraste. La sonde utilisée est la PA-64.

L'objectif de ces tests préliminaires était principalement de valider la possibilité d'imager le cerveau de l'agneau à travers l'ouverture cartilagineuse. Les tests nous ont permis de **corriger et de valider les algorithmes de beamforming** mis en place pour les ondes divergentes. Cependant, sur la courte période d'acquisition disponible, nous n'avons pas pu tester l'évaluation de la connectivité fonctionnelle en raison de l'absence de système de maintien de la sonde adapté à l'imagerie de l'agneau (pour atténuer les effets des mouvements de l'animal) et des difficultés à positionner correctement la sonde.

Pour l'imagerie du nouveau-né, nous avons conservé la sonde linéaire LA-6 qui était utilisée dans les études précédentes, plus adaptée à l'anatomie de la fontanelle.

4.4.2.2. Prototype de sonde et système de maintien

L'ancienne version de la sonde et du système de maintien, utilisée dans les deux études de ce chapitre, est détaillée en Figure 21. La pièce n°4, recouverte d'un matériau souple (en rose), est celle qui est au contact de la tête du nouveau-né. La sonde (pièce n°1) est fixée à la pièce n°2 tout en lui permettant de tourner autour de son axe, et la pièce n°2 va venir s'aimanter sur la pièce n°4 pour maintenir la sonde au-dessus du crâne du nouveau-né au niveau de la fontanelle antérieure. Les ailettes de la pièce n°3 vont permettre de maintenir le tout sur la tête. De plus, la présence d'aimants répulsifs entre la pièce n°3 et la partie grise n°4 permet d'atténuer les déplacements du montage lors des mouvements du nouveau-né. La pièce verte peut être échangée contre une pièce intégrant un servomoteur afin de pouvoir réaliser des acquisitions tomographiques.



Figure 103. Prototype V0 : ancienne sonde utilisée pour les deux études présentées

Sur le même principe de maintien, afin de faciliter la mise en place, il a été décidé d'intégrer le moteur et la sonde acoustique dans un même bloc pour le **prototype de sonde V1** (Figure 104). Pour ce nouvel assemblage du bloc sonde, les matériaux ont été sélectionnés afin que l'intégralité des surfaces extérieures soit biocompatible. De plus, dans cette nouvelle version, l'équivalent de la pièce n°4 existe en plusieurs modèles en fonction de l'âge gestationnel. Chaque modèle (XS, S, M, L, XL et XXL) a des courbures adaptées à la taille et la forme de la tête à l'âge gestationnel considéré afin que la sonde vienne effleurer au plus près le crâne des nouveau-nés. Le système de fixation par aimantation a été conservé, mais en intégrant les aimants à l'intérieur du cache pour que la surface extérieure reste biocompatible.

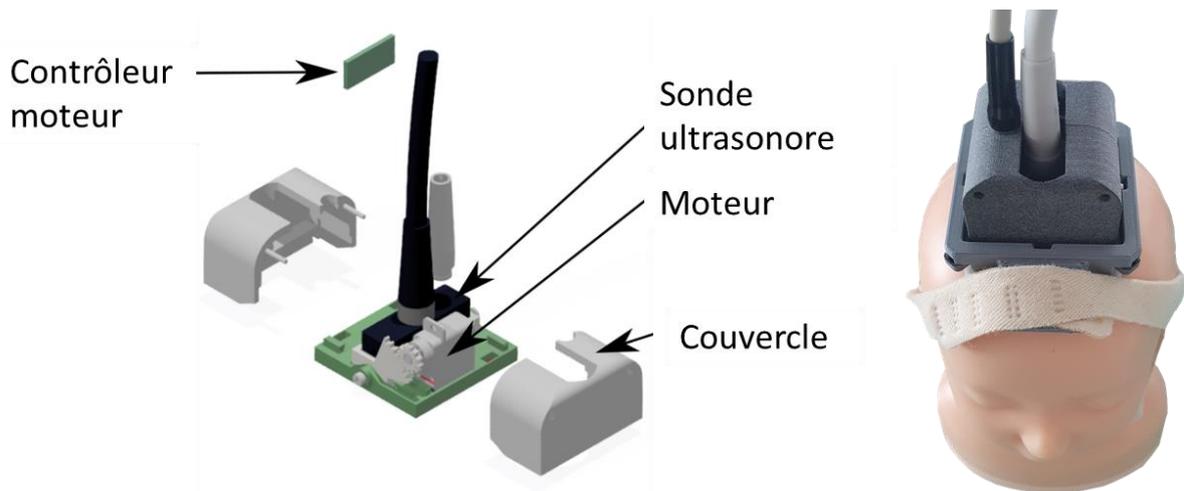


Figure 104. Prototype de sonde V1 : mise en situation du prototype sur un phantom d'imagerie B-Mode du cerveau d'un nouveau-né.

Lors des tests d'utilisation sur un phantom d'imagerie B-mode de cerveau d'un nouveau-né, nous avons confirmé la possibilité d'effectuer un scan tomographique B-mode du

cerveau de bonne qualité (Figure 105), puis la possibilité, grâce au logiciel développé par Iconeus, de se replacer dans un plan d'intérêt sélectionné.

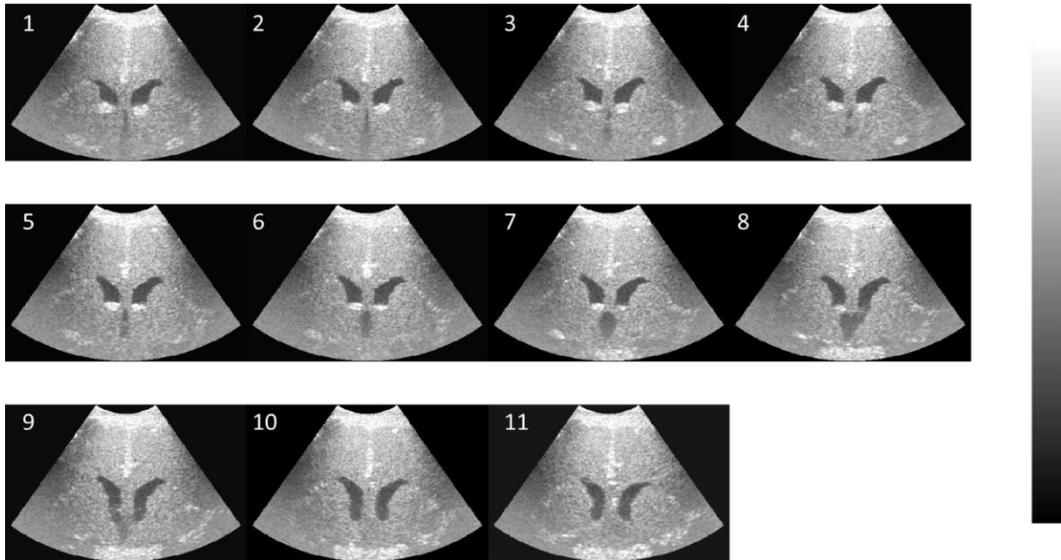


Figure 105. Scan B-Mode 3D un phantom d'imagerie B-Mode du cerveau d'un nouveau-né.

Nous avons également effectué un test de scan 3D Doppler sur le foie d'un volontaire sain (Figure 106), cependant les mouvements de respiration rendent la qualité de l'image moyenne pour les premiers plans. On arrive tout de même à reconnaître différents vaisseaux (flèches blanches et bleues) entre les plans 7, 8, 9 et 10.

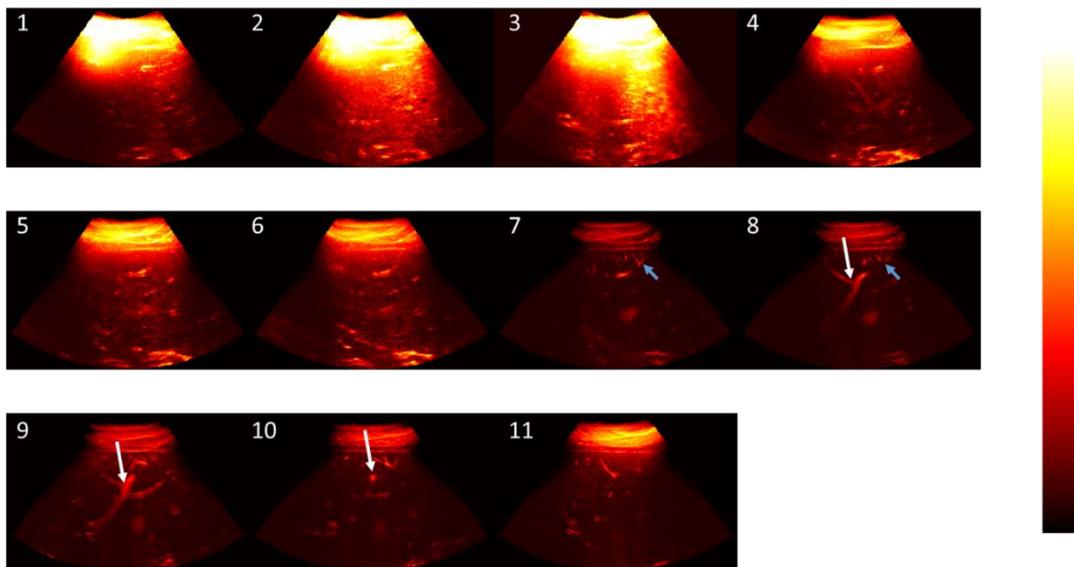


Figure 106. Scan Doppler 3D sur le foie d'un volontaire sain. Même si la qualité de l'image est dégradée pour les premiers plans à cause de mouvement dû à la respiration, on remarque que l'on peut suivre certains vaisseaux entre les plans 7, 8, 9 et 10 (flèches blanches et bleues)

Cependant, quelques difficultés ont été rencontrées lors de ces tests. En effet, le choix d'intégrer les aimants à l'intérieur de la sonde a eu pour effet de diminuer la force d'attraction des aimants, puisque plus éloignés, et le poids de la sonde et des câbles avait tendance à détacher la sonde du système de fixation. De plus, le gel échographique avait tendance à s'introduire à l'intérieur du cache lors des mouvements de rotation de la sonde et il faut alors démonter le cache pour pouvoir nettoyer l'intérieur de la sonde.

Un **prototype de sonde V2** est en développement par Vermont, pour rendre la sonde encore plus compacte, plus facilement nettoyable et avec un maintien fort entre la sonde et la couronne de maintien (Figure 107). L'intégration d'une interface de gel à la sonde, devrait permettre d'avoir un meilleur couplage entre la sonde et le crâne tout en ayant une installation et un nettoyage plus pratique, notamment lorsque l'on veut coupler le fUS avec l'EEG. La position des aimants est conçue de manière à avoir une unique configuration d'assemblage possible en sagittal et en coronal, ce qui permet d'éviter des erreurs lors de la mise en place de la sonde (inversion gauche/droite par exemple).



Figure 107. Prototype de sonde V2

4.4.2.3. Définition des paramètres de champ vue et de la séquence ultrasonore

La taille du cerveau variant fortement entre 24 SA et le terme à 38/40SA (Figure 108), il est nécessaire de définir différentes séquences dont les paramètres de profondeur et d'ouverture angulaire sont adaptés pour imager la totalité du cerveau à tous les âges gestationnels.

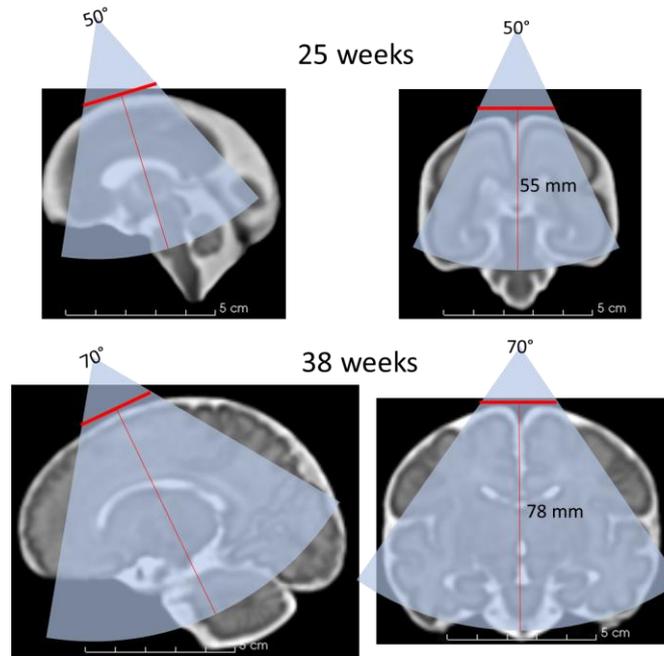


Figure 108. Taille du cerveau à 25 et 38 SA imagé par IRM et secteur d'imagerie souhaité correspondant.

Nous avons choisi de définir 6 séquences, une pour chaque modèle de couronne de maintien (XS, S, M, L, XL, XXL), avec des paramètres de champ de vue adaptés pour couvrir la taille du cerveau en développement à chaque âge.

Une fois les paramètres du champ d'ouverture définis pour chacune des 6 séquences, nous avons également dû définir les paramètres de la séquence ultrasonore, c'est-à-dire le nombre de sources utilisées et leur position, le voltage, la PRF ainsi que la durée du demi-cycle du pulse ultrasonore. Nous avons fixé ces paramètres comme un compromis entre la qualité d'image, la cadence d'imagerie et le respect des normes cliniques définies par la Track 3 de la Food and Drug Administration(FDA) en termes de pression acoustique, d'échauffement dans les tissus et de températures d'élévation à la surface de la sonde.

L'ensemble des analyses et expérimentations ont conduit aux 6 séquences suivantes dont les paramètres sont résumés dans le tableau suivant :

| Nom séquence | Age gestationnel (SA) | Ouverture Angulaire (°) | Profondeur max. (mm) |
|--------------|-----------------------|-------------------------|----------------------|
| XS | 25 | 50 | 55 |
| S | 28 | 60 | 60 |
| M | 32 | 70 | 68 |
| L | 38 | 70 | 78 |
| XL | 42 | 70 | 90 |
| XXL | >43 | 80 | 92 |

Tableau 3. Paramètres d'ouverture des séquences ultrasonores

Le nombre de sources (6), le voltage (40V) et le nombre de demi-cycle par pulse (2) sont identiques pour les 6 séquences.

Une fois les séquences définies, elles ont été transmises à Iconeus pour intégration dans leur logiciel. L'optimisation de l'implémentation dans leur logiciel et l'utilisation de composants électroniques avec une grande puissance de calcul dans l'échographe permettent que le transfert de données ne soit plus un paramètre trop limitant. Le protocole pour les nouveau-nés n'ayant pas démarré, nous avons les séquences testées sur le foie d'un volontaire sain au laboratoire (Figure 109).

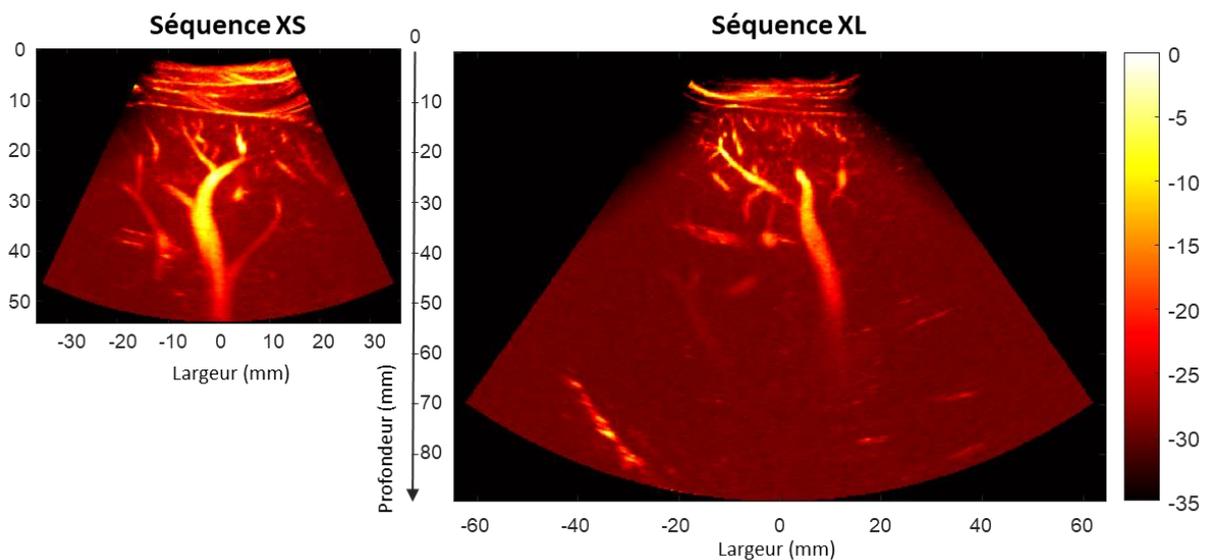


Figure 109. Images Doppler de puissance des séquences XS et XL sur un foie.

Ces tests nous ont permis de valider la possibilité d'obtenir des images Doppler de puissance, avec un affichage en temps réel, pour des profondeurs allant jusqu'à 90 mm.

4.4.3. Perspectives d'applications

L'ergonomie de l'échographe et du logiciel d'utilisation a été optimisée pour la version finale en Figure 110.



Figure 110. Version finale de l'échographe La structure métallique a été agrandie par rapport à la version préclinique pour pouvoir inclure un transformateur d'isolement et les moyens de protection du patient requis pour une utilisation clinique

L'échographe a déjà validé les normes de sécurité électrique et de compatibilité électromagnétique. Pour que l'Agence Nationale de Sécurité du Médicament et des produits de santé (ANSM) valide l'utilisation en clinique, la dernière étape de calibration des séquences est nécessaire (et prévue en juin) pour vérifier le respect des normes cliniques acoustiques sur le produit assemblé final.

Ce nouvel échographe va ensuite servir pour une première étude de connectivité fonctionnelle chez le nouveau-né, en collaboration avec le Pr Valérie Biran et le Dr Alice Frérot à l'Hôpital Robert Debré. Un premier objectif de cette étude est de pouvoir caractériser la trajectoire développementale des nouveau-nés prématurés par rapport aux nouveau-nés à terme. Un deuxième objectif est d'identifier des biomarqueurs de la connectivité fonctionnelle, pour des nouveau-nés à risque d'avoir des trajectoires anormales et de développer, plus tard dans leur développement, des pathologies ou des troubles autistiques.

Pour atteindre ces objectifs, le recrutement des patients devrait commencer à l'automne 2023 et inclure 30 nouveau-nés dans l'étude :

- 10 nouveau-nés à terme qui seront imagés à 41 SA. Ils constitueront le groupe contrôle afin d'établir une référence de la connectivité fonctionnelle à terme.
- 10 nouveau-nés extrêmement prématurés (nés à moins de 28 SA). Les acquisitions auront lieu aux jours postnatals J3, J10-15, et J21 ainsi qu'à l'âge gestationnel de 36 SA afin de suivre la trajectoire neurodéveloppementale des nouveau-nés prématurés et pouvoir la comparer à la connectivité de référence à terme.
- 10 nouveau-nés dont un des membres de la fratrie est atteint de troubles du spectre autistique et imagés dans le mois suivant la naissance, afin d'éventuellement identifier des biomarqueurs de développement anormal. Ces enfants auront également un suivi clinique régulier avec une évaluation neuropsychologique à 2 ans, afin d'identifier des pathologies ou un développement de troubles autistiques.

Nous pouvons ensuite envisager que ce type de neuro-imageur fUS pourra être présent, dans les prochaines années, dans plusieurs hôpitaux afin d'étudier la connectivité fonctionnelle au même titre que l'EEG ou le NIRS.

4.5. Discussion

Dans ce chapitre, nous avons confirmé la possibilité d'évaluer la connectivité fonctionnelle chez le nouveau-né humain, à des âges gestationnels variés, au chevet du patient. Même si le système d'imagerie n'était pas encore optimal, l'utilisation de l'analyse de connectivité dynamique par matrices de phase a permis de mettre en lumière une maturation des connexions thalamo-corticales plus faible chez le nouveau-né prématuré comparé au nouveau-né à terme. De plus, l'utilisation du débruitage par CCA nous a permis d'évaluer la connectivité fonctionnelle dans une seconde cohorte de nouveau-nés prématurés imagés à terme, dont les acquisitions comportaient plus d'artéfacts de mouvement. Pour cette seconde cohorte dont certains nouveau-nés avaient été exposés à la musique pendant leur séjour à l'hôpital, les analyses de connectivité statique et dynamique semblent indiquer que l'effet de la musique à long-terme est d'augmenter la connectivité fonctionnelle. Toutefois, pour cette étude, le nombre de zones d'intérêts (4 et uniquement dans le cortex) était limité à cause du champ de vue, et la valeur des résultats nécessite d'être évaluée sur une plus grande cohorte avec plus de zones

cérébrales. La construction du nouveau neuro-imageur devrait permettre de résoudre les limitations principales actuelles de l'imagerie fUS chez le nouveau-né que sont le champ de vue restreint et la nécessité d'une cadence d'imagerie d'au moins 1 image par seconde.

Les solutions techniques développées pour la construction de l'échographe devraient permettre d'améliorer la qualité des acquisitions ainsi que la facilité d'utilisation de l'imagerie fUS. Cependant, d'autres solutions sont envisageables. Par exemple, l'utilisation de la sonde linéaire LA-6, avec un pas entre les piézoélectriques à λ et donc une directivité assez forte, n'est pas optimale pour l'émission d'ondes divergentes. Les sondes phased array, dont les éléments piézoélectriques sont plus proches, permet des angles d'émission des ondes ultrasonores générées plus importants et donc d'imager avec un champ de vue plus large. Une sonde phased array pour l'imagerie Doppler ultrarapide en ondes divergentes a été utilisée pour la première fois pour l'imagerie cérébrale du nouveau-né et a permis de multiplier par 3 la surface imagée du cerveau [18][19].

Nous avons vu également que l'utilisation d'un agent de contraste permet d'obtenir des images Doppler de meilleure qualité chez le mouton nouveau-né en l'absence de fontanelle. L'utilisation d'agent de contraste est déjà appliquée en clinique chez l'adulte et a fait ses preuves pour l'imagerie Doppler ultrarapide [20]. Malheureusement, il est difficilement envisageable d'utiliser cette technique en routine de clinique dans la population néonatale, car elle nécessite l'injection de l'agent de contraste, ce qui n'est ni recommandable ni facilement accepté par les familles. Le seul éventuel intérêt serait pour des patients avec une condition pathologique très sévère pour lesquels le rapport bénéfique/risque serait important. Par exemple, une étude d'imagerie échographique de contraste (« *contrast-enhanced ultrasound* » CEUS) [21] a montré la faisabilité et la sûreté de l'utilisation d'agent de contraste ultrasonore chez le nouveau-né, mais les conditions d'inclusion étaient la préexistence d'un accès intraveineux et la programmation d'une IRM dans le cadre des soins, c'est-à-dire des enfants très suivis médicalement. L'intérêt de cette technique mis en avant par les auteurs est le diagnostic précoce de troubles, au chevet du patient, chez des enfants très fragiles dont le transport jusqu'à un IRM peut s'avérer difficile.

La possibilité d'imager en 3D tout le cerveau des nouveau-nés, va permettre de décrire les réseaux spécifiques de l'état de repos chez le nouveau-né, et ce, à différents âges gestationnels. Alcauter et *al.* [22] ont décrit l'existence de certaines connexions thalamo-corticales dès la naissance tandis que d'autres connexions thalamo-corticales ne se

développent que plus tardivement (1 ou 2 ans après la naissance). L'utilisation de l'imagerie 3D pourrait venir confirmer cette observation en étudiant différents types de connexion thalamo-corticale au cours du développement du nouveau-né. De plus, l'imagerie 3D permettrait d'augmenter le recouvrement spatial des informations cérébrales obtenues simultanément avec d'autres méthodes d'imagerie cérébrale telles que l'EEG. Des techniques de traitements telles que la CCA peuvent être utilisées pour retrouver l'information commune aux deux techniques et pourraient donner des informations complémentaires sur le fonctionnement cérébral.

D'un point de vue clinique, l'objectif de l'évaluation de la connectivité fonctionnelle n'est pas nécessairement d'avoir un diagnostic plus précoce et/ou un pronostic définitif d'un trouble neurodéveloppemental, mais plutôt de permettre la détection d'une déviation de la trajectoire développementale normale. La trajectoire suivie par le nouveau-né n'est pas fixée à la période postnatale et peut être modifiée par des stimuli environnementaux. Si on est capable d'identifier un risque, on peut alors faire un suivi régulier de l'évolution neurodéveloppementale pendant la mise en place de stratégie neurorestauratrice. Nous avons montré par exemple dans ce chapitre que l'on peut détecter par le fUS l'augmentation de la connectivité cérébrale due à l'écoute de musique au centre de soins intensifs néonataux dont le bénéfice avait été mis en avant par d'autres études, mais ce n'est pas la seule stratégie possible. Un modèle de soins intégratifs du développement néonatal a été décrit sur la base de sept mesures neuroprotectrices [23]: l'environnement thérapeutique, l'implication des familles, le positionnement et la manipulation, la préservation du sommeil, la réduction du stress et de la douleur, la protection de la peau et enfin l'optimisation de l'alimentation. L'ensemble de ces paramètres permet de modifier/corriger la trajectoire développementale de l'enfant pour améliorer ses capacités à long-terme.

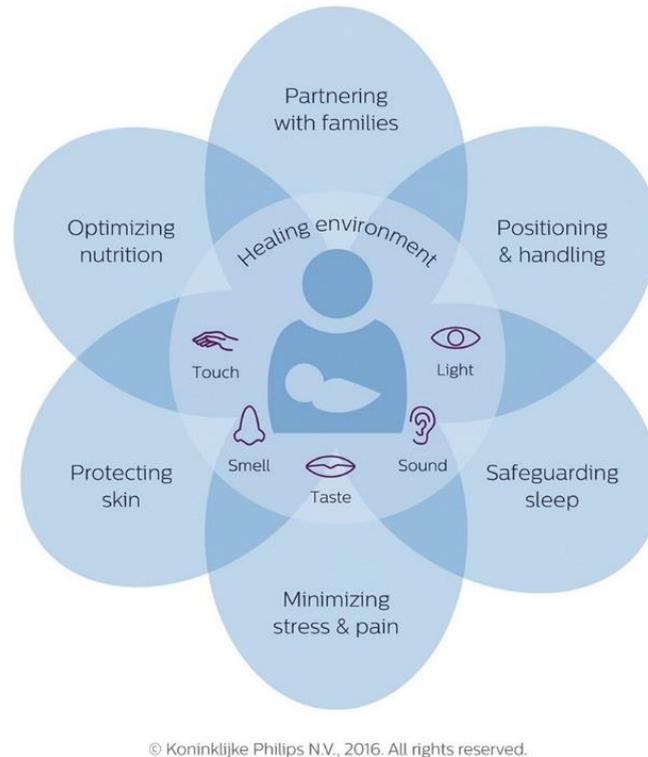


Figure 111. Diagramme représentatif des mesures neuroprotectrices du modèle de soins intégratifs néonataux. On voit que les stimulations sensorielles sont au centre des actions possibles. (D'après Altimier and Philips [23])

D'autres stratégies neuroprotectrices sont possibles comme l'utilisation de cellules souches. C'est l'objectif du projet PREMSTEM, qui cherche à valider l'utilisation de cellules souches mésenchymateuses (CSM) humaines dérivées du cordon ombilical comme thérapie régénératrice dans le cadre d'encéphalopathies de la prématurité (rassemblant un large éventail de lésions cérébrales autour de la naissance prématurée)[24]. L'efficacité des CSM a déjà été démontrée sur certains modèles de lésions [25], l'idée du projet est de développer une évaluation standardisée sur de nombreux modèles de lésions (inflammation, hémorragie) et sur des modèles précliniques variés (souris, mouton).

4.6. Bibliographie du chapitre

- [1] “Résultats de la 1ère étude d’impact de la stratégie nationale autisme et troubles du neuro-développement.” [Online]. Available: <https://handicap.gouv.fr/resultats-de-la-1ere-etude-dimpact-de-la-strategie-nationale-autisme-et-troubles-du-neuro>. [Accessed: 19-Apr-2023].
- [2] “Intervenir précocement auprès des enfants présentant des écarts inhabituels de développement.” [Online]. Available: <https://www.handicap.gouv.fr/engagement-2>. [Accessed: 19-Apr-2023].
- [3] A. R. Mohammadi-Nejad *et al.*, “Neonatal brain resting-state functional connectivity imaging modalities,” *Photoacoustics*, vol. 10, pp. 1–19, 2018.
- [4] C. Demene *et al.*, “Functional ultrasound imaging of brain activity in human newborns,” *Sci Transl Med*, vol. 9, no. 411, 2017.
- [5] M. P. Van Den Heuvel *et al.*, “The neonatal connectome during preterm brain development,” *Cereb Cortex*, vol. 25, no. 9, pp. 3000–3013, 2015.
- [6] C. D. Smyser *et al.*, “Longitudinal analysis of neural network development in preterm infants,” *Cereb Cortex*, vol. 20, no. 12, pp. 2852–2862, 2010.
- [7] G. Ball *et al.*, “The influence of preterm birth on the developing thalamocortical connectome,” *Cortex*, vol. 49, no. 6, pp. 1711–1721, 2013.
- [8] H. Toulmin *et al.*, “Specialization and integration of functional thalamocortical connectivity in the human infant,” *Proc Natl Acad Sci U S A*, vol. 112, no. 20, pp. 6485–6490, 2015.
- [9] P. Fransson *et al.*, “Resting-state networks in the infant brain,” *Proc Natl Acad Sci U S A*, vol. 104, no. 39, pp. 15531–15536, 2007.
- [10] C. D. Smyser and J. J. Neil, “Use of resting-state functional MRI to study brain development and injury in neonates,” *Semin Perinatol*, vol. 39, no. 2, pp. 130–140, 2015.
- [11] H. Zhang, D. Shen, and W. Lin, *Resting-state functional MRI studies on infant brains: A decade of gap-filling efforts*, vol. 185. Elsevier Inc., 2019.
- [12] S. Loukas *et al.*, “Musical memories in newborns: A resting-state functional connectivity study,” *Hum Brain Mapp*, vol. 43, no. 2, pp. 647–664, 2022.
- [13] L. Lordier *et al.*, “Music in premature infants enhances high-level cognitive brain networks,” *Proc Natl Acad Sci U S A*, vol. 116, no. 24, pp. 12103–12108, 2019.
- [14] D. Perani *et al.*, “Functional specializations for music processing in the human

- newborn brain,” *Proc Natl Acad Sci U S A*, vol. 107, no. 10, pp. 4758–4763, 2010.
- [15] J. Sa de Almeida *et al.*, “Music enhances structural maturation of emotional processing neural pathways in very preterm infants,” *Neuroimage*, 2019.
- [16] F. Lejeune *et al.*, “Effects of an early postnatal music intervention on cognitive and emotional development in preterm children at 12 and 24 months: Preliminary findings,” *Front Psychol*, vol. 10, no. MAR, pp. 1–12, 2019.
- [17] D. Mahmood, H. Nisar, V. V. Yap, and C. Y. Tsai, “The Effect of Music Listening on EEG Functional Connectivity of Brain: A Short-Duration and Long-Duration Study,” *Mathematics*, vol. 10, no. 3, 2022.
- [18] N. Fakhari, J. Aguet, M. Nguyen, and L. Mertens, “Longitudinal assessment of cerebral blood volume variation in human neonates using ultrafast power Doppler and diverging waves,” vol. xx, no. X, pp. 1–13, 2023.
- [19] J. Aguet *et al.*, “Impact of cardiopulmonary bypass on cerebrovascular autoregulation assessed by ultrafast ultrasound imaging,” vol. 0, pp. 1–17, 2023.
- [20] C. Demené *et al.*, “Transcranial ultrafast ultrasound localization microscopy of brain vasculature in patients,” *Nat Biomed Eng*, vol. 5, no. 3, pp. 219–228, 2021.
- [21] J. H. Squires *et al.*, “Feasibility and Safety of Contrast-Enhanced Ultrasound of the Neonatal Brain: A Prospective Study Using MRI as the Reference Standard,” *Am J Roentgenol*, vol. 218, no. 1, pp. 152–161, 2022.
- [22] S. Alcauter *et al.*, “Development of thalamocortical connectivity during infancy and its cognitive correlations,” *J Neurosci*, vol. 34, no. 27, pp. 9067–9075, 2014.
- [23] L. Altimier and R. Phillips, “The Neonatal Integrative Developmental Care Model: Advanced Clinical Applications of the Seven Core Measures for Neuroprotective Family-centered Developmental Care,” *Newborn Infant Nurs Rev*, vol. 16, no. 4, pp. 230–244, 2016.
- [24] “PREMSTEM.” [Online]. Available: <https://www.premstem.eu/project-summary/>. [Accessed: 19-Apr-2023].
- [25] S. Passera *et al.*, “Therapeutic potential of stem cells for preterm infant brain damage: can we move from the heterogeneity of preclinical and clinical studies to established therapeutics?,” *Biochem Pharmacol*, vol. 186, no. December 2020, p. 114461, 2021.

Conclusion générale

Les travaux de cette thèse avaient pour objectif d'explorer les capacités de l'imagerie ultrasonore ultrarapide pour le suivi de pathologies cérébrales néonatales. Ils s'inscrivent à la suite des développements réalisés dans notre laboratoire au cours des dernières années.

Dans un premier temps, nous nous sommes intéressés à l'évaluation de la fonction vasculaire du cerveau par la mesure de l'index de résistivité vasculaire cérébrale. De précédents travaux avaient montré la possibilité de cartographier la résistivité vasculaire de nouveau-nés en tout point du champ de vue grâce à l'imagerie Doppler ultrarapide, mais ces analyses étaient restées qualitatives. Nous avons donc développé une méthode de quantification de la résistivité cérébrale en fonction du diamètre des vaisseaux. À partir de paramètres de la régression linéaire entre les valeurs de résistivité et de diamètre, nous avons défini deux paramètres de résistivité globaux prenant en compte les informations de résistivité sur l'ensemble de l'arbre vasculaire considéré. La mesure de ces paramètres dans une large cohorte de patient prématurés et à terme a permis de différencier l'effet du diamètre du vaisseau et de l'arbre vasculaire sur la valeur de la résistivité. De plus, nous avons mis en évidence leur capacité à prédire l'apparition de lésions de la substance blanche. En complément des mesures de résistivité, des mesures de la rigidité des structures cérébrales par élastographie par ondes de cisaillement ont été effectuées puisque des modifications moléculaires pouvant affecter les propriétés mécaniques du cerveau sont attendues lors d'apparition de lésions de la substance blanche. Ces mesures ont permis d'améliorer la capacité de prédiction de nos paramètres de résistivité globaux.

Nous nous sommes ensuite concentrés sur l'évaluation de l'activité cérébrale par imagerie fonctionnelle ultrasonore (fUS). Cette technique repose sur la mesure du volume sanguin cérébral par imagerie Doppler ultrarapide, donnant une mesure indirecte de l'activité cérébrale via le couplage neurovasculaire. Le fUS a déjà fait ses preuves pour l'évaluation de la connectivité dans plusieurs études précliniques. Nous avons souhaité l'utiliser dans le cadre de deux modèles précliniques d'altérations cérébrales subtiles : un premier modèle d'inflammation systémique postnatale, mimée par injection d'interleukin- β -1, et un deuxième modèle de naissance par césarienne. Pour mettre en avant les différences de connectivité provoquées par ces deux modèles, nous avons dû utiliser une nouvelle technique de prétraitement de données, le débruitage par analyse en composante canonique, afin de supprimer les artéfacts de mouvements, mais aussi des variations physiologiques non liées à l'activité neuronale. La conservation d'un décours temporel continu, sans artéfact, grâce au débruitage par CCA, a permis également l'évaluation

robuste de la connectivité dynamique. Dans ces modèles, l'analyse dynamique permet de mettre en avant des modifications, entre les groupes, des occurrences d'états de connectivité et de transitions entre ces états.

Enfin, nous avons cherché à évaluer la connectivité fonctionnelle en clinique chez le nouveau-né humain. La translation de l'imagerie fUS en clinique engendre un certain nombre de défis : maintien de la sonde malgré les mouvements des nouveau-nés, artéfacts de mouvements dans les signaux, une plus grande surface à imager, etc. L'utilisation des techniques de prétraitement et d'analyse dynamique a permis de confirmer la faisabilité de l'évaluation de la connectivité fonctionnelle chez le nouveau-né sur deux cohortes différentes. L'amélioration de différents éléments d'acquisitions (maintien de la sonde, cadence d'imagerie, champ de vue) au vu de la construction d'un nouveau neuro-imageur par imagerie fUS, devrait permettre d'élargir les applications possibles du fUS pour l'évaluation de la connectivité fonctionnelle néonatale.

Nous espérons que ces travaux ont permis de montrer que l'imagerie ultrasonore ultrarapide est un outil bien adapté à l'imagerie cérébrale du nouveau-né aussi bien pour évaluer la fonction vasculaire qu'évaluer l'activité cérébrale. Son faible coût et sa portabilité sont des atouts indéniables pour son utilisation en routine clinique. Le développement de techniques d'acquisitions et d'analyses robustes devrait permettre d'élargir ses applications et de faciliter son adoption par le monde médical.

Communications scientifiques

Publications dans des revues internationales à comité de lecture

J. Baranger, C. Demené, A. Frérot, **F. Faure**, C. Delanoë, H. Serroune, A. Houdouin, J. mairresse, V. Biran, O. Baud, M. Tanter

“Bedside functional monitoring of the dynamic brain connectivity in human neonates”. Nat Commun 12, 1080 (2021).

Publications en cours d’écriture

F.Faure, J.Baranger, M. Alison, B. Boutillier, A. Frérot, C. Lim, G. Planchette, M. Prigent, M. Tanter, O. Baud, V. Biran, C. Demené

“Brain-wide vascular resistivity mapping via ultrafast Doppler in human neonates helps early detection of white matter injury”. TMI IEEE – Soumis

F.Faure, M.Alison, M. Francavilla, P.Boizeau, S. Guilmin Crepon, C. Lim, G. Planchette, M. Prigent, A.Frérot, C. Demené, M. Tanter, O. Baud, V. Biran

« *Brain ultrasound shear wave elastography : feasibility and added value in preterm infants* ». En rédaction

Présentations orales lors de conférences internationales

EMIM 2021 – European Molecular Imaging Meeting – Göttingen, Allemagne

F. Faure, C. Demené, J. Baranger, A. Frérot, C. Delanoë, M. Alison, O. Baud, V. Biran, M. Tanter

“Bedside monitoring of the dynamic brain connectivity in human neonates using functional Ultrasound”

EMIM 2022 – European Molecular Imaging Meeting – Thessalonique, Grèce

F.Faure, J. Baranger, M. Alison, A. Frérot, M. Tanter, O. Baud, V.Biran, C. Demené

“Brain-wide cerebrovascular resistivity mapping via ultrafast Doppler in the first weeks of life in human neonates”

Présentations de posters lors de conférences internationales

fUSBrain 2022 – International Workshop on Functional ultrasound imaging of the brain – Cargèse, France

F. Faure, C. Bokobza, P. Gressens, M. Tanter, C. Demené

“Subtle changes in functional connectivity in a perinatal mild neuro-inflammation mouse model are detected via functional ultrasound imaging”

IEEE IUS 2022 – Internation Ultrasound Symposium –Venise, Italie

F.Faure, J. Baranger, M. Alison, A. Frérot, M. Tanter, O. Baud, V.Biran, C. Demené

”Brain-wide vascular resistivity mapping via ultrafast Doppler in the first weeks of life in human neonates differentiates the effects of vessels diameter and region”

RÉSUMÉ

Ces travaux de thèse portent sur l'utilisation de l'imagerie ultrasonore ultrarapide pour l'évaluation de la fonction vasculaire et de la connectivité fonctionnelle cérébrales dans le cadre du suivi de pathologies néonatales. La naissance prématurée (avant 37 semaines de gestation) est souvent associée à une perturbation cérébrovasculaire pouvant entraîner des lésions cérébrales détectables dans des semaines suivant la naissance. Toutefois, leur détection n'est pas suffisante pour établir une prédiction des troubles neurodéveloppementaux lourds (paralysie cérébrale, autisme, hyperactivité,...) pouvant résulter de ces lésions. La nécessité d'évaluer la fonction vasculaire du cerveau et l'activité cérébrale du nouveau-né le plus tôt possible est donc primordiale pour espérer détecter des anomalies précocement. Dans un premier temps, nous nous sommes intéressés à l'analyse de la résistivité vasculaire cérébrale chez des nouveau-nés. L'utilisation de l'imagerie Doppler ultrarapide permettant d'évaluer la résistivité dans l'ensemble du champ de vue simultanément, a permis de différencier les effets du diamètre et de l'arbre vasculaire du vaisseau considéré sur la résistivité. Cette analyse a aussi permis de décrire des nouveaux marqueurs globaux de résistivité vasculaire cérébrale pouvant être utilisés pour la prédiction d'apparition de lésions de la substance blanche. De plus, des mesures de rigidités cérébrales, évaluées par élastographie par ondes de cisaillement, ont été réalisées et ont permis d'améliorer la prédiction d'apparition de ces lésions. Dans un deuxième temps, nous nous sommes intéressés à la mesure de l'activité cérébrale du cerveau en développement. Par rapport à d'autres techniques d'imagerie fonctionnelle existantes (IRMf, fNIRS, EEG), l'imagerie fonctionnelle par ultrasons (fUS), qui repose sur la mesure des fluctuations du volume sanguin cérébral (CBV) liées à l'activité neuronale, combine une bonne résolution spatiale et temporelle tout en étant utilisable au chevet du patient. Une étape essentielle est le prétraitement des données pour s'assurer de retirer correctement les artefacts et ne conserver que les fluctuations liées à l'activité cérébrale. Nous présentons une méthode de prétraitement des données fUS basée sur l'analyse en composantes canoniques qui permet à la fois de supprimer des artefacts extérieurs ou des changements hémodynamiques systémiques. La connectivité fonctionnelle revêt un caractère dynamique que nous avons cherché à identifier par différentes techniques. Grâce au prétraitement et à l'analyse dynamique de connectivité, nous montrons, en collaboration avec l'équipe de Pierre Gressens, l'influence d'une naissance par césarienne et d'une inflammation systémique néonatale sur la connectivité dynamique dans deux études précliniques. Dans un troisième temps, nous montrons que ces techniques de traitements et d'analyse dynamique de la connectivité sont utilisables en clinique chez le nouveau-né. En particulier, nous sommes parvenus à montrer une différence de connectivité dynamique entre le thalamus et le cortex entre des nouveau-nés prématurés et à terme. Ensuite nous avons pu évaluer, chez des nouveau-nés prématurés, l'effet d'une écoute régulière de musique lors du séjour au centre de soins intensifs sur la connectivité cérébrale évaluée par le fUS. Dans ces études cliniques, nous avons cependant été limités notamment par le champ de vue possible avec les échographes et les sondes actuels. Nous abordons brièvement la conception et réalisation d'un nouveau neuroimageur clinique pour l'évaluation de l'activité fonctionnelle du nouveau-né. L'ensemble des résultats montrent que l'utilisation du fUS, aussi bien en clinique qu'en préclinique, est capable de révéler des altérations subtiles de la connectivité cérébrale chez le nouveau-né et que le fUS a tout le potentiel pour devenir une modalité d'imagerie pour la détection et le suivi de pathologies néonatales en routine clinique.

MOTS CLÉS

Imagerie ultrasonore ultrarapide – Nouveau-nés – Imagerie cérébrale – Connectivité fonctionnelle

ABSTRACT

This thesis focuses on the application of ultrafast ultrasound imaging for the evaluation of cerebral vascular function and functional connectivity in the context of monitoring neonatal pathologies. Preterm birth (before 37 weeks of gestation) is often associated with cerebrovascular disruption that can lead to detectable brain lesions in the weeks following birth. However, their detection is not sufficient to predict severe neurodevelopmental disorders (cerebral palsy, autism, hyperactivity,...) that may result from these lesions. The need to evaluate the vascular function and the cerebral activity of the newborn brain as early as possible is therefore essential to detect abnormalities earlier. First, we were interested in the analysis of cerebral vascular resistivity in newborns. The use of ultrafast Doppler imaging, which allows to evaluate the resistivity in the whole field of view simultaneously, allowed to differentiate the effects of the diameter and the vascular tree of the considered vessel on the resistivity. This analysis also resulted in the description of new global markers of cerebral vascular resistivity that can be used for white matter lesions prediction. In addition, measurements of cerebral stiffness, assessed by shear wave elastography, were performed and helped to improve white matter lesions prediction. In a second step, we were interested in measuring brain activity in the developing brain. Compared to other existing functional imaging techniques (fMRI, fNIRS, EEG), functional ultrasound imaging (fUS), which is based on the measurement of cerebral blood volume (CBV) fluctuations related to neuronal activity, combines good spatial and temporal resolution while being usable at the bedside. An essential step is the preprocessing of the data to ensure that artifacts are properly removed and that only fluctuations related to brain activity are retained. We present a method for preprocessing fUS data based on canonical component analysis that allows both removal of external artifacts and systemic hemodynamic changes. Functional connectivity can be analysed in a dynamic through various techniques. Thanks to preprocessing and dynamic connectivity analysis, we show, in collaboration with Pierre Gressens' team, the influence of caesarean birth and neonatal systemic inflammation on dynamic connectivity in two preclinical studies. In a third step, we show that these techniques of treatment and dynamic connectivity analysis can be used in the clinic in newborns. In particular, we were able to show a difference in dynamic connectivity between the thalamus and the cortex between premature and full-term newborns. Then we were able to evaluate, in preterm newborns, the effect of regular music listening during the stay in the intensive care center on the brain connectivity evaluated by fUS. In these clinical studies, however, we were limited in particular by the field of view possible with current ultrasound scanners and probes. We briefly discuss the design and realization of a new clinical neuroimager for the evaluation of functional activity in the newborn. The overall results show that the use of fUS, both in clinical and preclinical settings, is capable of revealing subtle alterations of brain connectivity in the newborn and that fUS has the potential to become a imaging modality for the detection and monitoring of neonatal pathologies in clinical routine.

KEYWORDS

Ultrafast ultrasound imaging – Neonates – Brain Imaging – Functional Connectivity