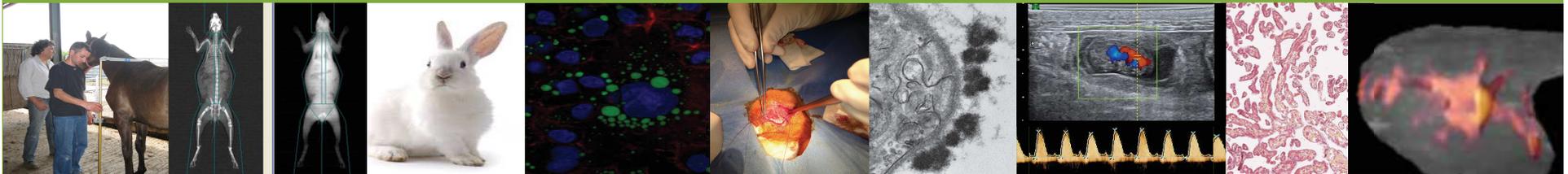


Apport de l'imagerie en reprotox



Anne COUTURIER-TARRADE
UMR 1198- Biologie du Développement et Reproduction
Equipe PEPPS, Jouy-en-Josas

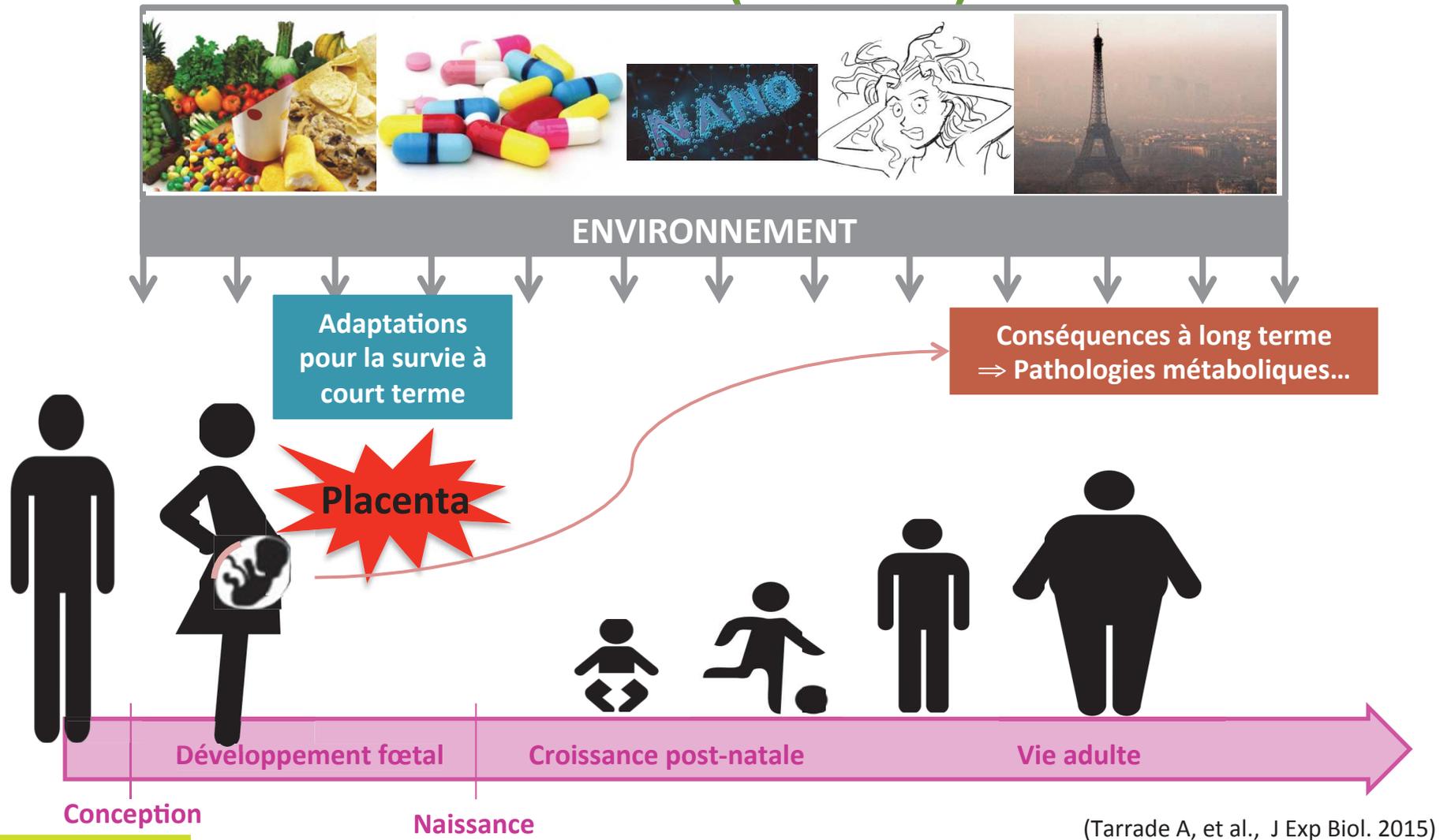
anne.couturier-tarrade@inra.fr



Avantages de l'imagerie *in vivo*

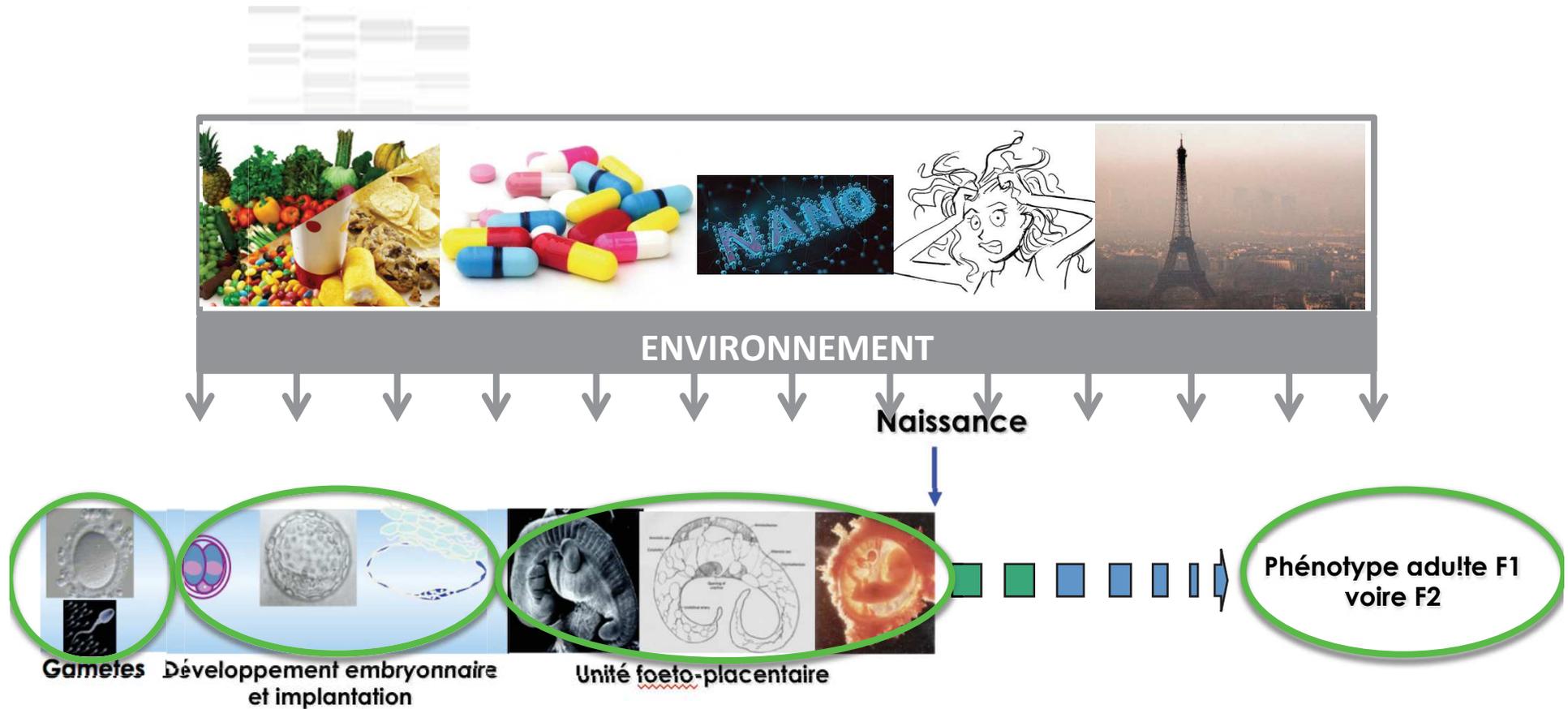
- Recherche biomédicale, innovation pharmaceutique, toxicologie...
- Caractère non-invasif
- Suivi longitudinal des animaux
- Etude anatomique, fonctionnelle, hémodynamique, biodistribution
- 3R (Réduire, remplacer, raffiner)

Origines développementales de la santé et des maladies (DOHaD)



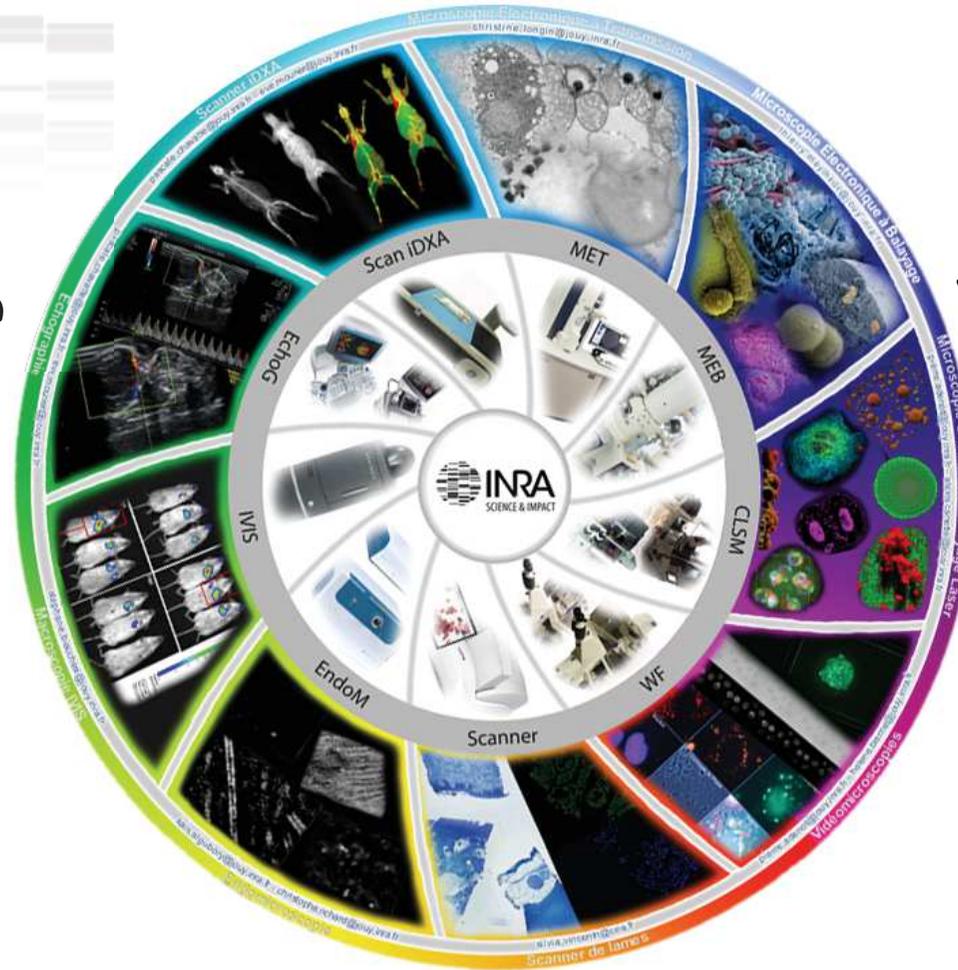
(Tarrade A, et al., J Exp Biol. 2015)

Evaluation de l'environnement maternel ou paternel sur le phénotype de la descendance



MIMA2: DEUX GRANDS DOMAINES D'ACTIVITES

Imagerie



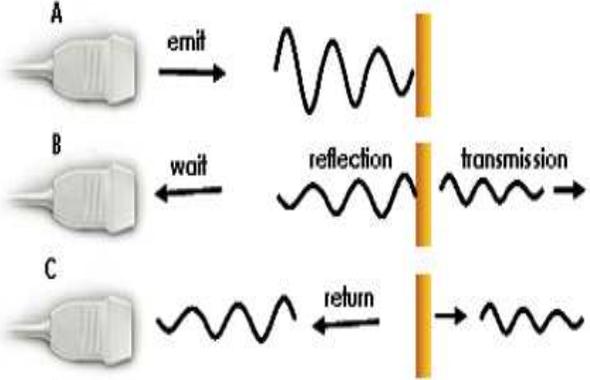
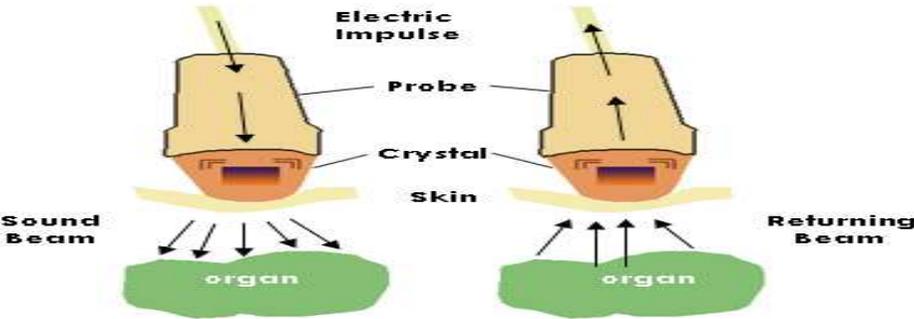
Microscopie



LES GAMETES

Technologie Ultrasons

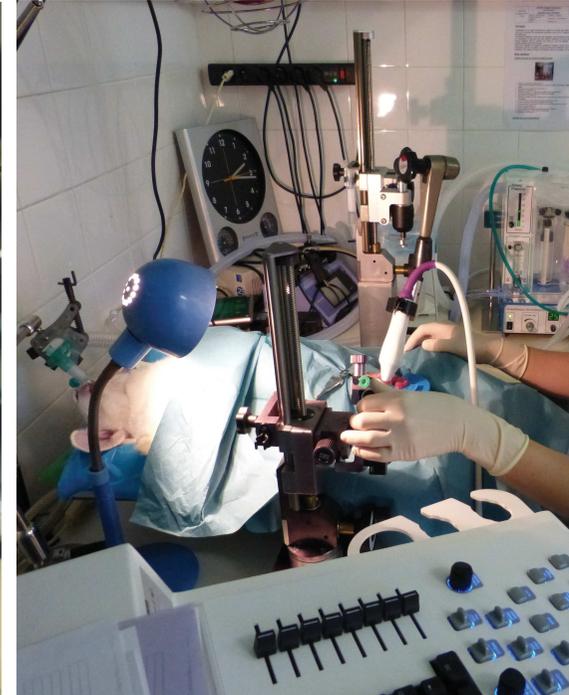
Technique



Visualisation des follicules chez la lapine par micro-échographie

VEVO 3100

-> sonde 50MHz, jusqu'à 30 μ m résolution, 1-5 cm profondeur



Eve Mourier et Christophe Richard

Visualisation des follicules chez la lapine par micro-échographie

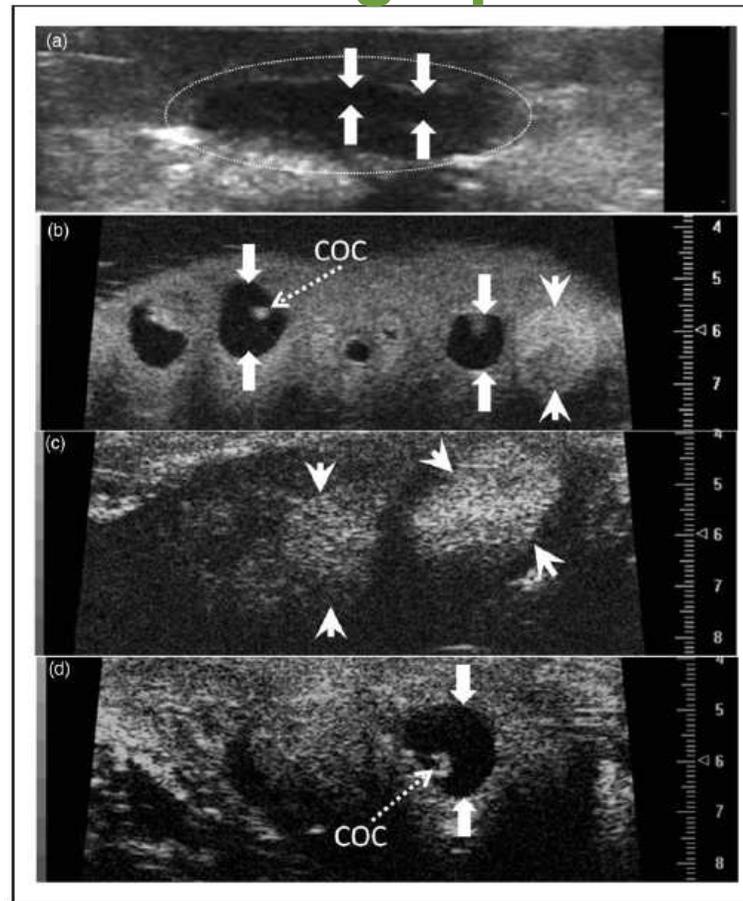


Figure 1. Rabbit ovaries imaged in vivo by conventional ultrasonography (a), ex situ by ultrasound bio-microscopy (b) and in vivo by transcutaneous ultrasound bio-microscopy (c, d). Figures show follicles (arrows) and corpora lutea (arrow-heads). Note cumulus-oocyte complexes [COC] within the follicular antrum. Scale marks are spaced at 5 mm in (a), and at 0.1 mm in (b), (c) and (d).

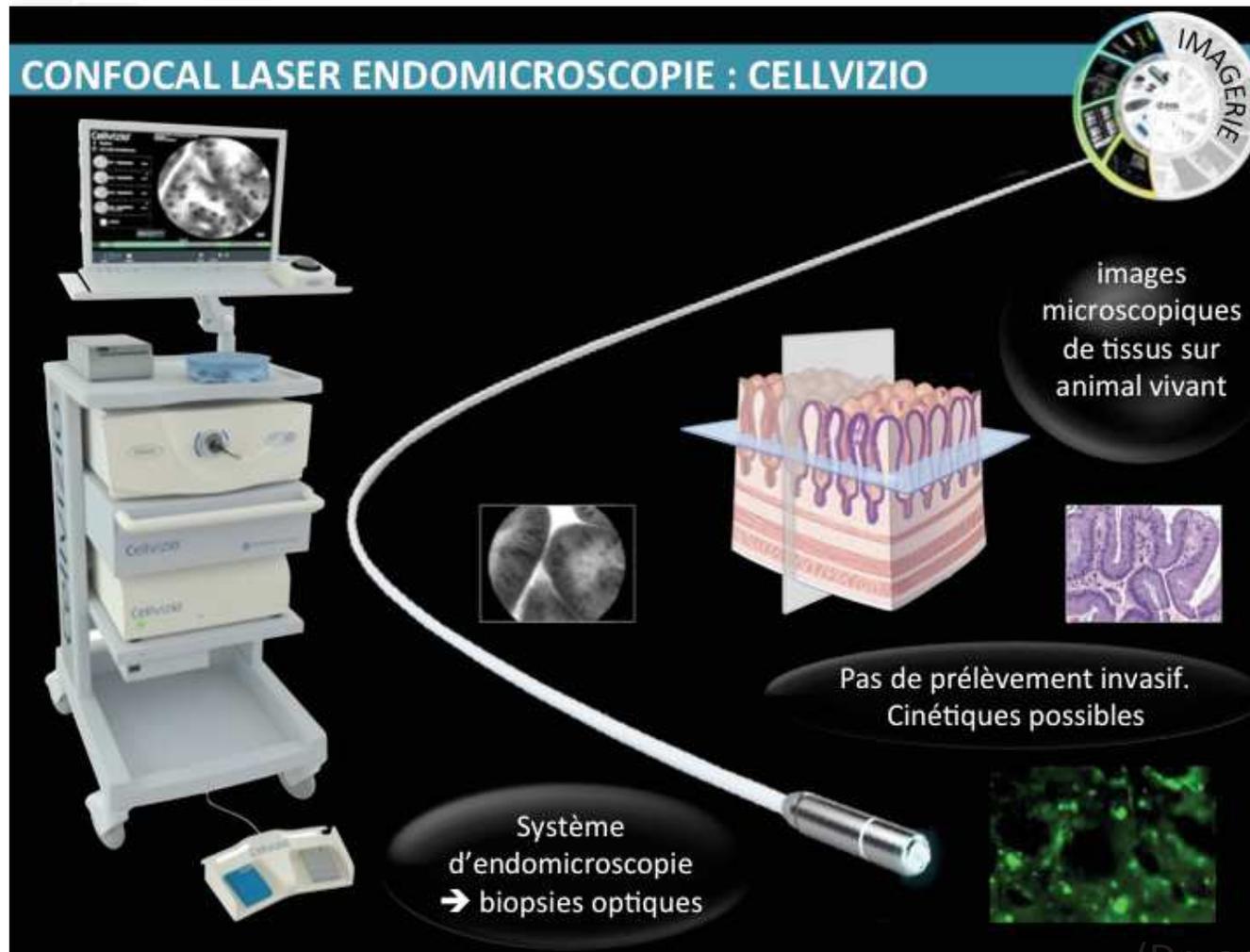
(Cervantes MP et al, 2014)

Visualisation, chez la vache, des follicules et ponction sous contrôle échographique



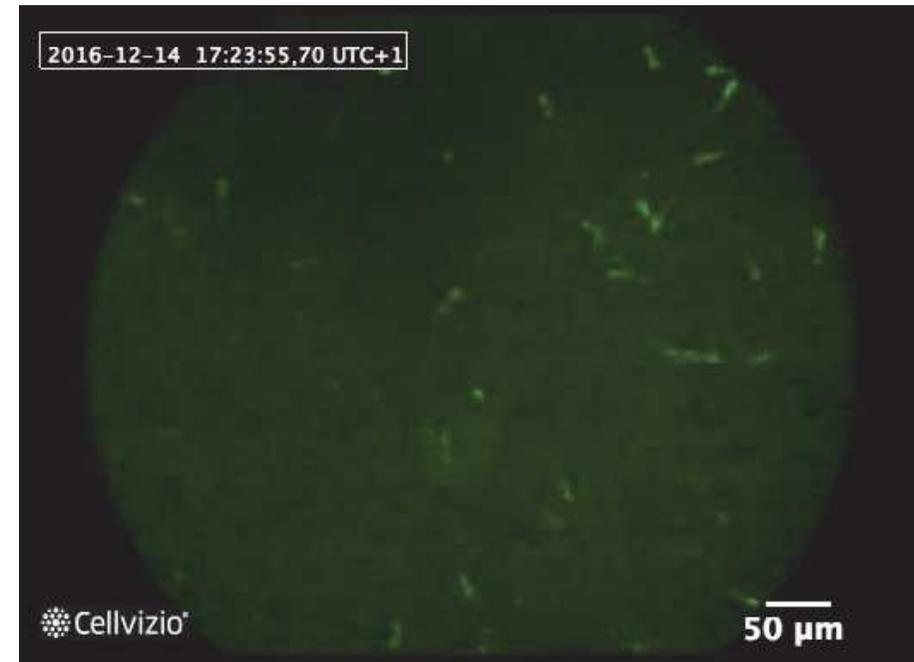
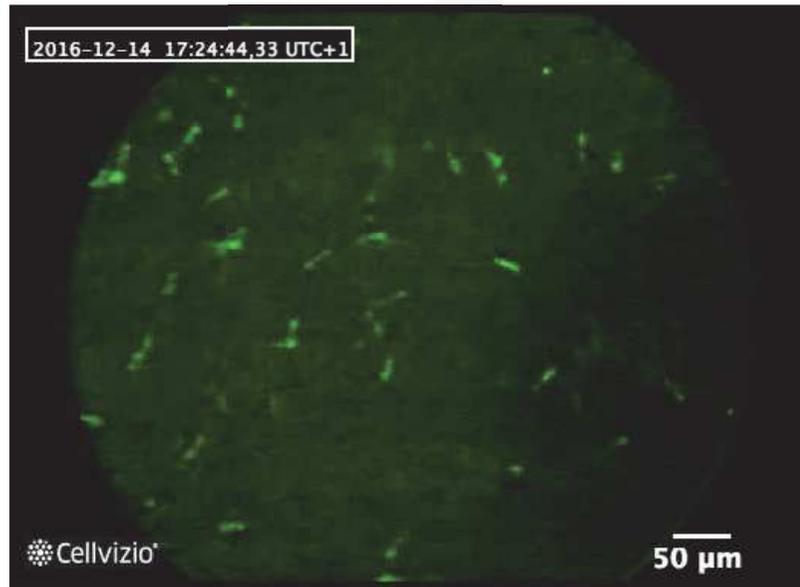
- FIV
- Etudier la qualité des ovocytes
- Etudier la composition du liquide folliculaire (métabolomique ou lipidomique)

Suivi de la motilité des spermatozoïdes dans les voies génitales femelles



(Druart et al., 2009)

Suivi de la motilité des spermatozoïdes dans les voies génitales femelles



(Druart et al., 2009)



L'EMBRYON

Développement de l'embryon bovin *via* l'imagerie PrimoVision après FIV



Diagnostic de gestation et développement embryonnaire chez la lapine

General Electric
Voluson

15 MHz ,
profondeur
1-10 cm



ECHOGRAPHIE

Lop 1215187 G 24, 11L-D/SM P MI 0.6 - PremImage Cr2i Physiopole
DOA326-13-05-03-2 2.5cm / 1.2 / 12Hz 03.05.2013 11.04.00

COMP 100
Gn 3
WMP 160 Hz
Angle 57°
Taille 8.1cm
Prg Elevée
PRF 3.3kHz

CR2i

Default
16.30 - 6.30
Pulse 100 µ
Gn 1
C4 / M5
PG / E4
100 Hz

Pulse 100 µ
Gn 5.8
Prg Elevée
Qual norm
WMP F/ablat
PRF 1.8kHz

Techniques de pointe développées en médecine humaine (Doppler et 3-dimensions) adaptées sur l'animal

Vés-Syst. 14.26cm/s
Vés-Diasto. -5.63cm/s
Vés-S/D 2.53

5 échographes, dont 3 spécialisés dans le domaine de la reproduction et du développement

IMAGERIE

Suivi du développement embryonnaire chez la lapine



30-31

Jours de gestation

5 jours

6 jours

7 jours

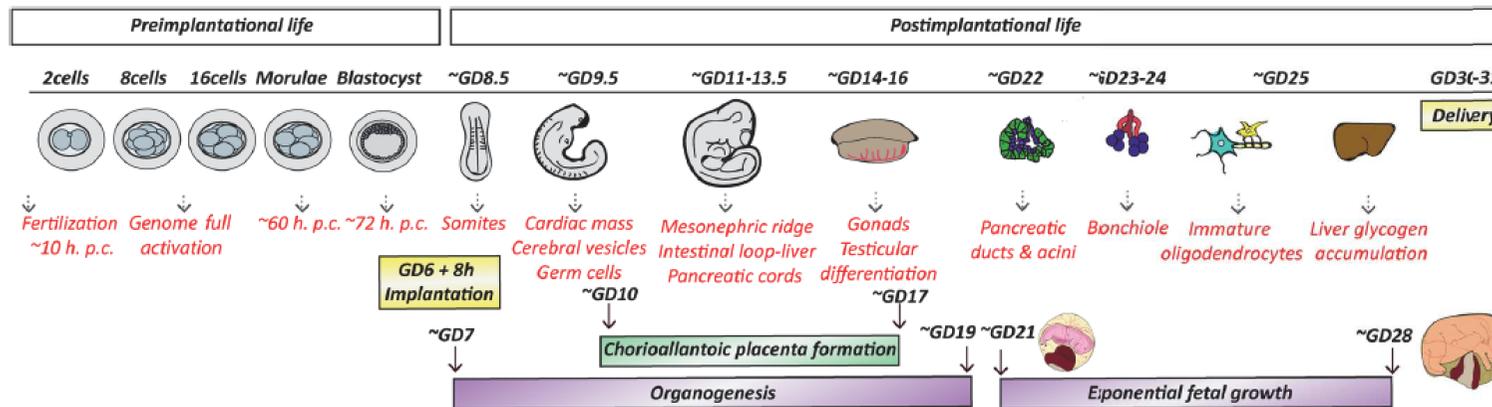
8 jours

11 jours

14 jours

21 jours

28 jours



(Lopez-Tello et al. 2019)

Jour 7

INTND G7,
15-26-2

RSP6-16-D/SM P
3.4cm / 1.3 / 25Hz

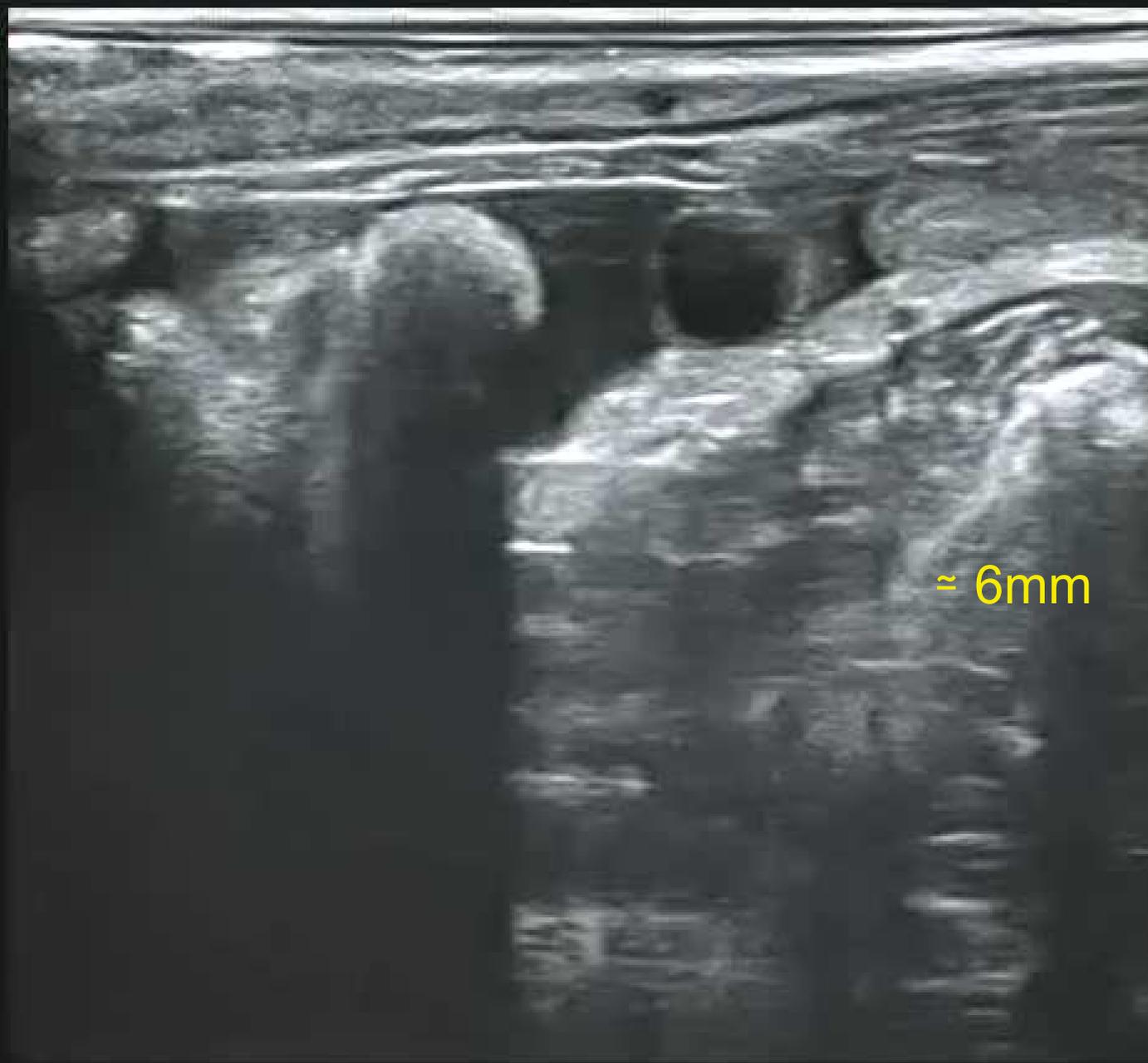
MI 1.2
TIs 0.1

MIMA2 IMDRA LAPINERIE

26.05.2015

15:09:14

CEREBRALES
Har-Élevée
Puiss. 100 W
Gn 4
C5 / M8
P2 / E1
SRI II 4



Visualisation des embryons au stade péri-implantatoire chez la lapine *via* le micro-échographe

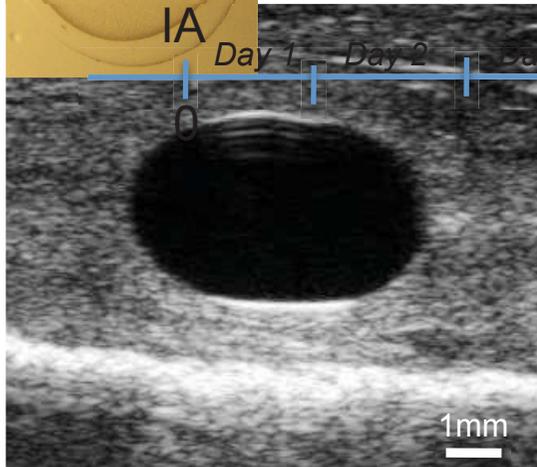
-> Sonde 50MHz probes, 30µm résolution, 1-5cm profondeur



147hpc



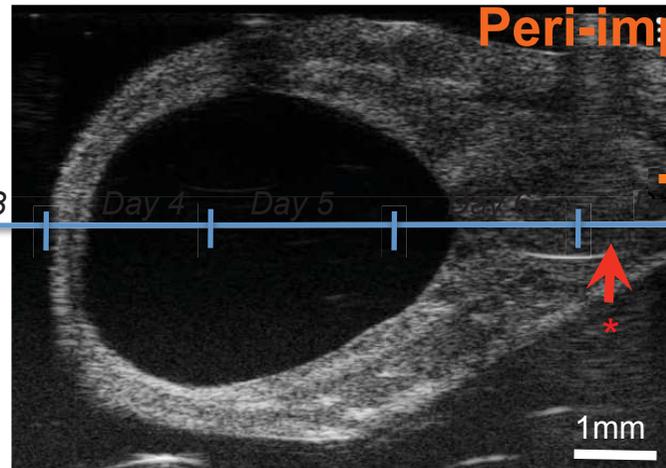
* Early D7



EV free into uterus

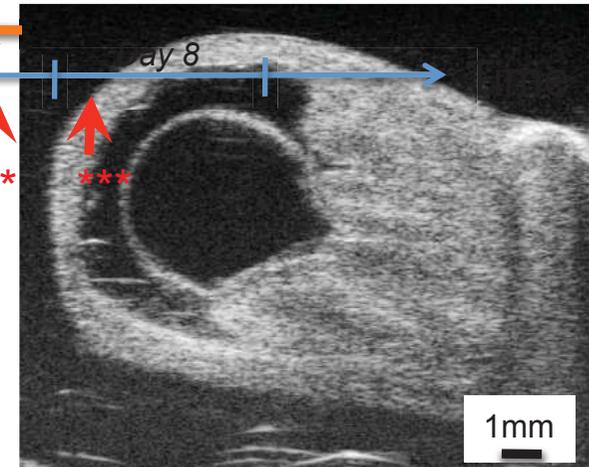
** Late D7

**Période
Peri-implantation**



EV apposed to the reacting uterus

*** Early D8



EV implanted on reacted uterus

Micro-échographie et prélèvement ou injection dans la cavité blastocœlique



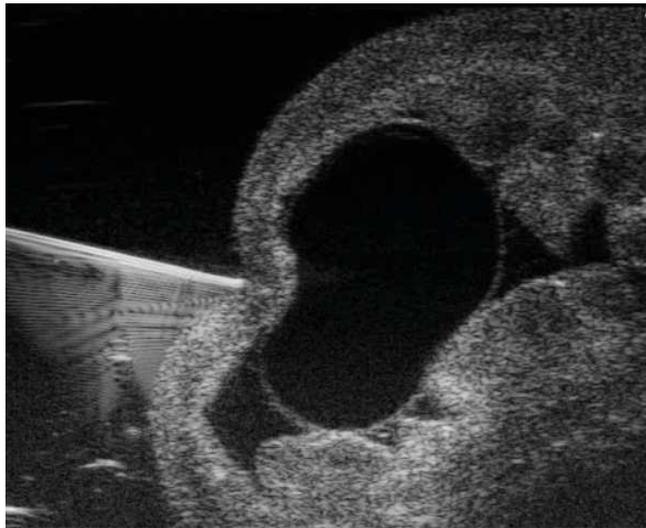
Prélèvement du liquide blastocœlique

20 μ L



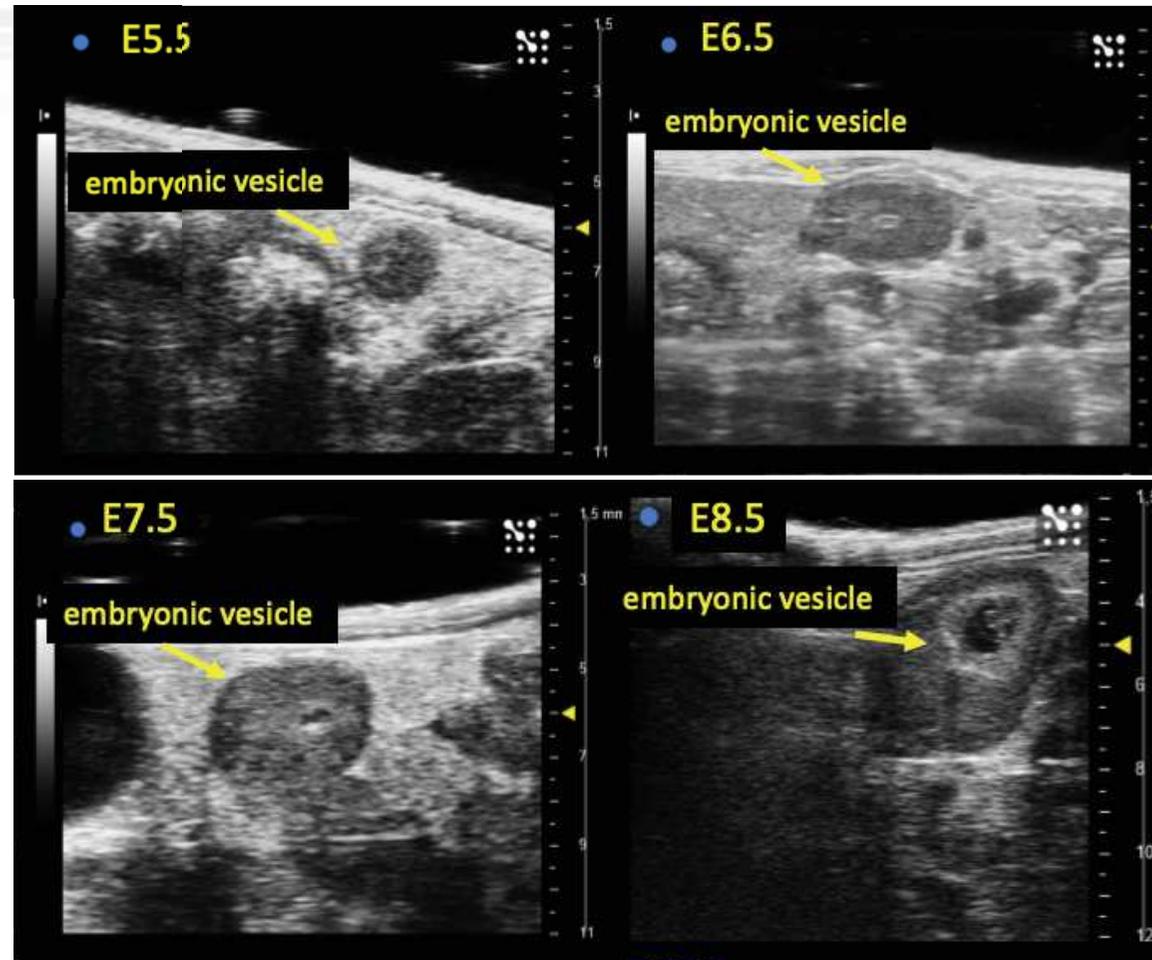
***In vivo* injection**

cellules, traceur & vecteurs adénoviraux ou rétroviraux



Micro-échographie et développement embryonnaire chez la souris

-> 50MHz sonde, 30 μ m résolution, 1-5cm profondeur





DEVELOPPEMENT FOETO-PLACENTAIRE

Suivi du développement foeto-placentaire chez la lapine



30-31

Jours de gestation

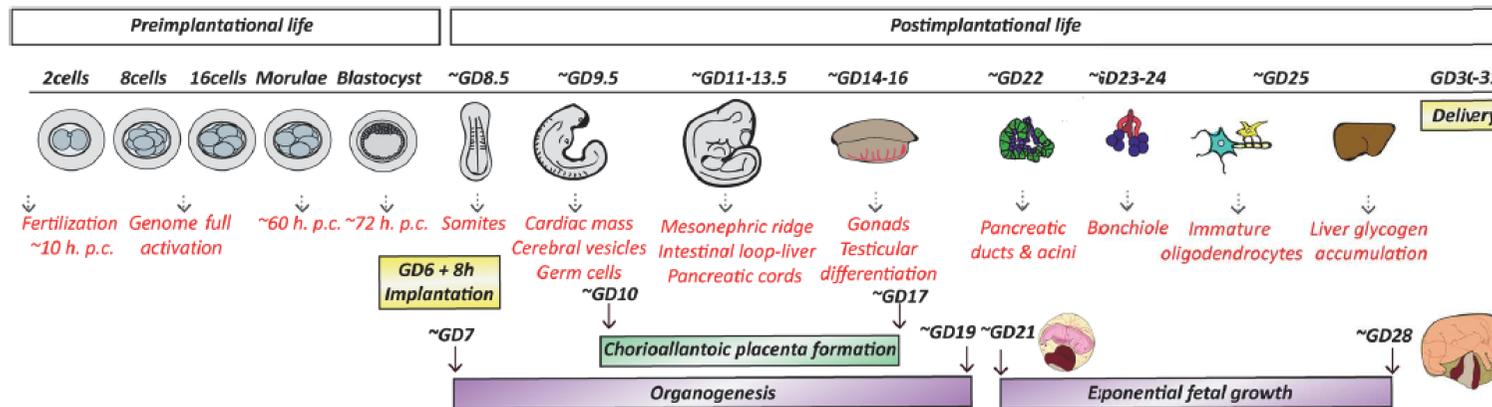
5 jours
6 jours
7 jours
8 jours

11 jours

14 jours

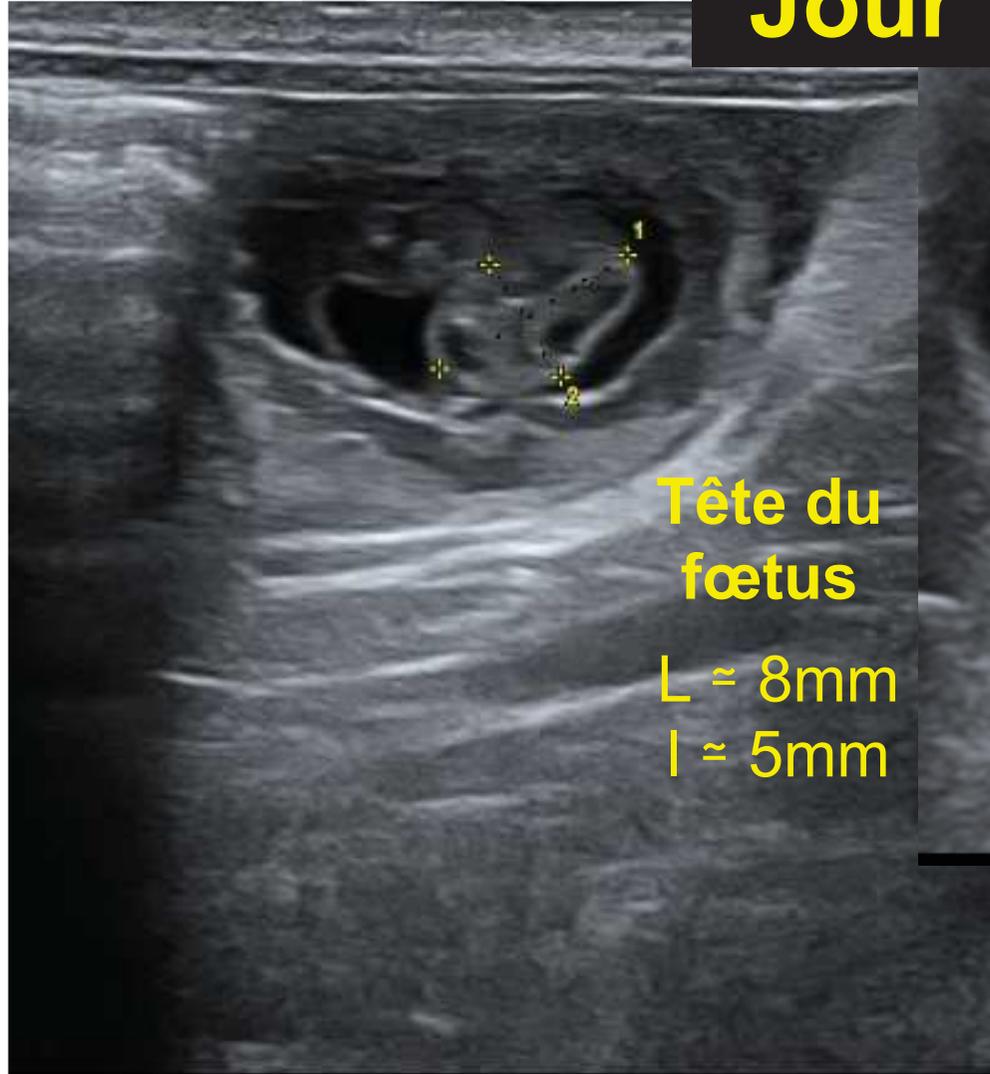
21 jours

28 jours



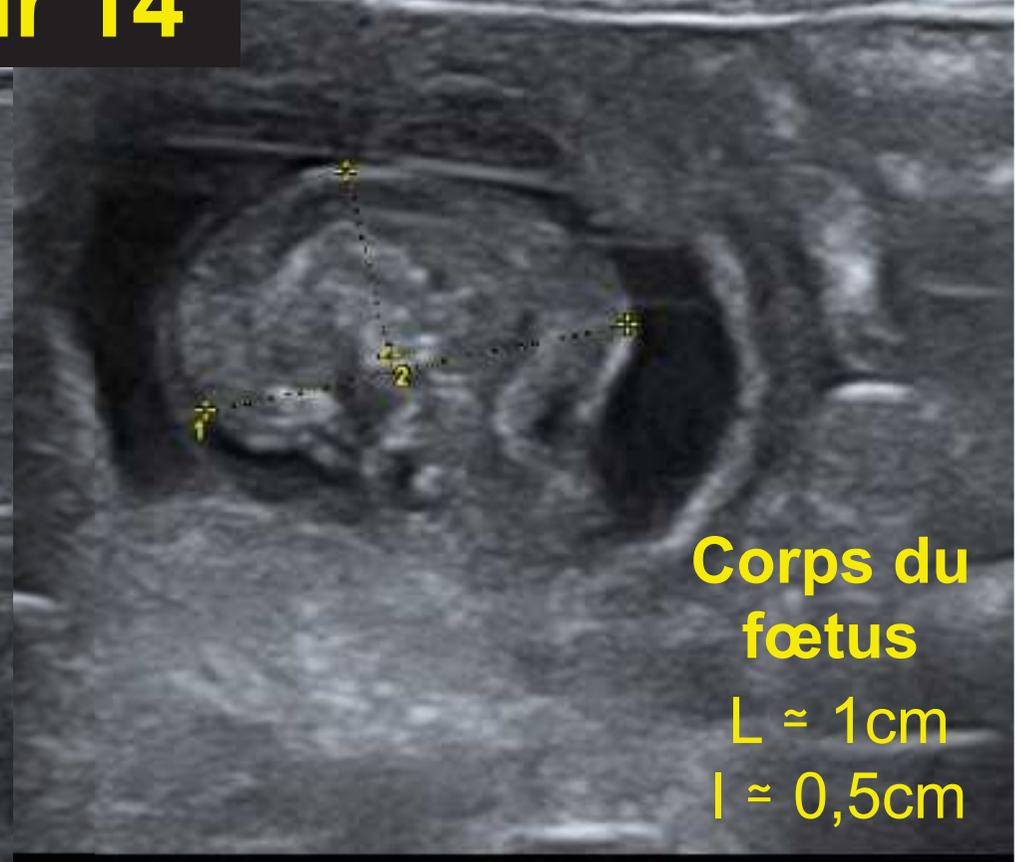
(Lopez-Tello et al. 2019)

Jour 14



**Tête du
fœtus**

L ≈ 8mm
I ≈ 5mm



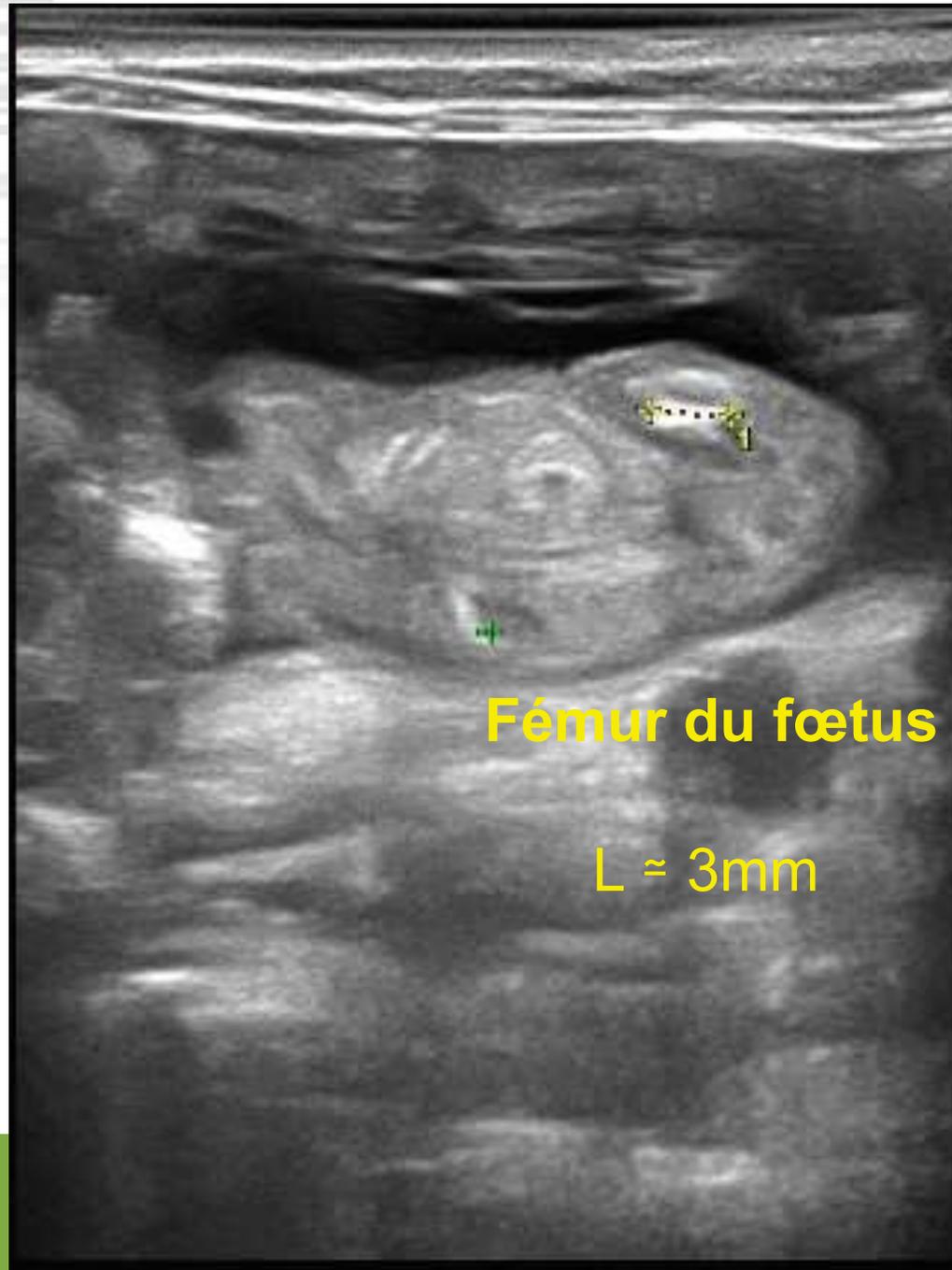
**Corps du
fœtus**

L ≈ 1cm
I ≈ 0,5cm

Jour 21



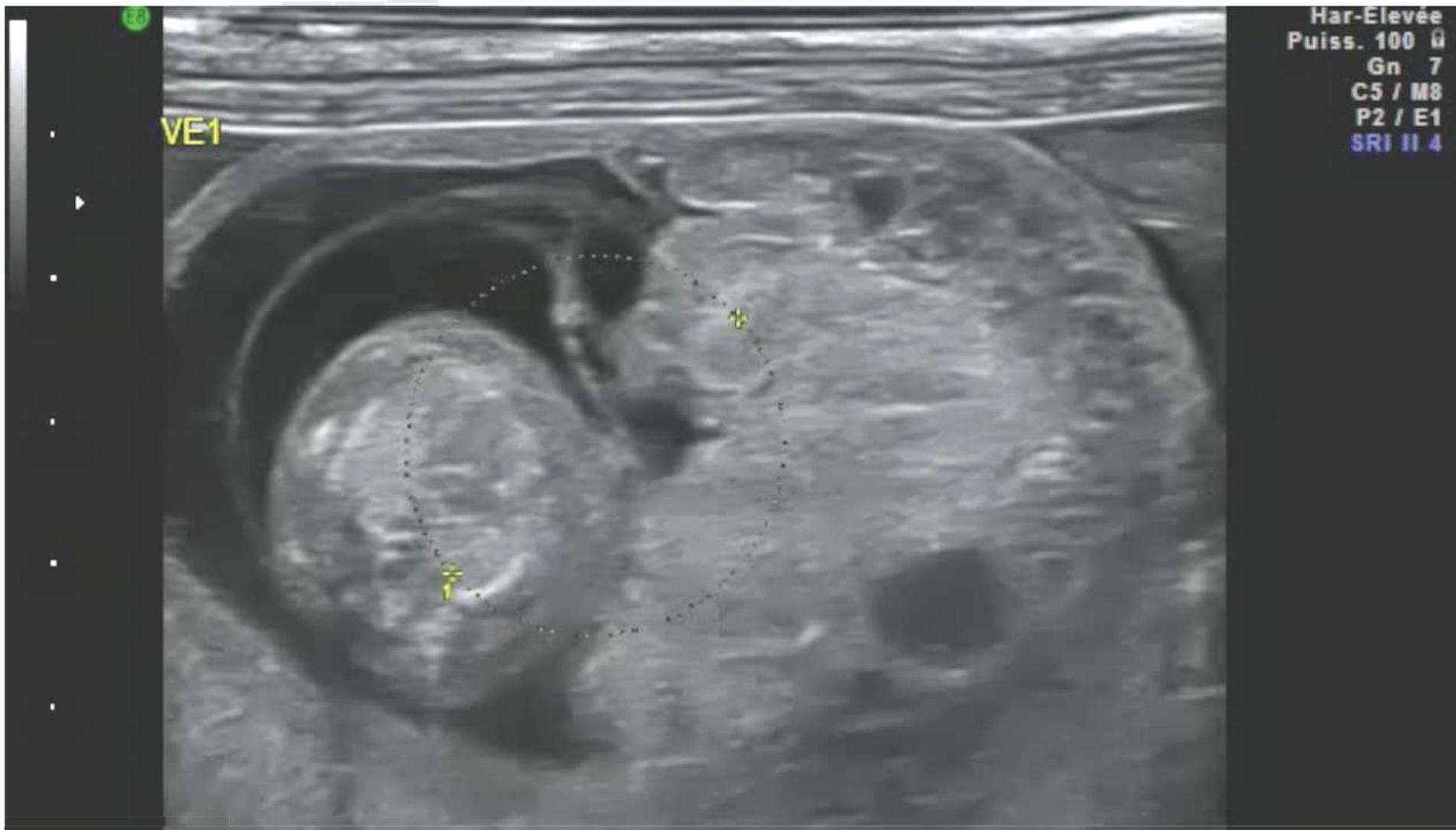
Jour 21



Fémur du fœtus

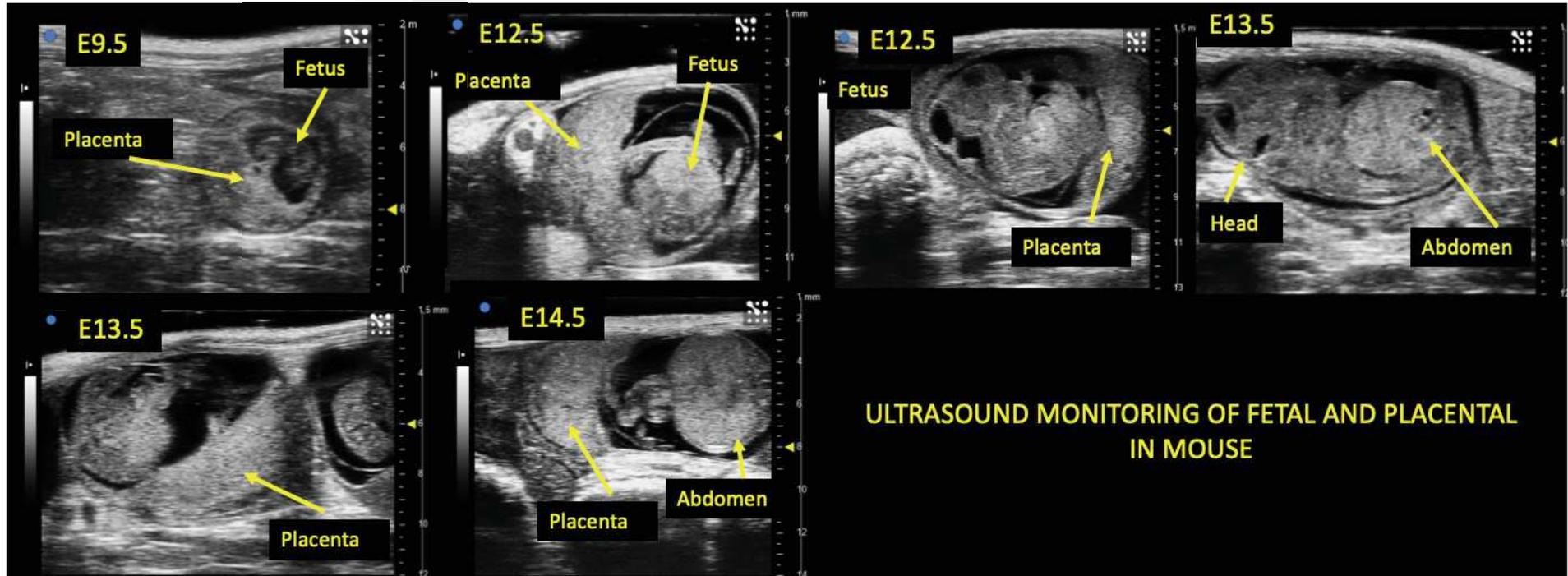
L ≈ 3mm

Jour 21

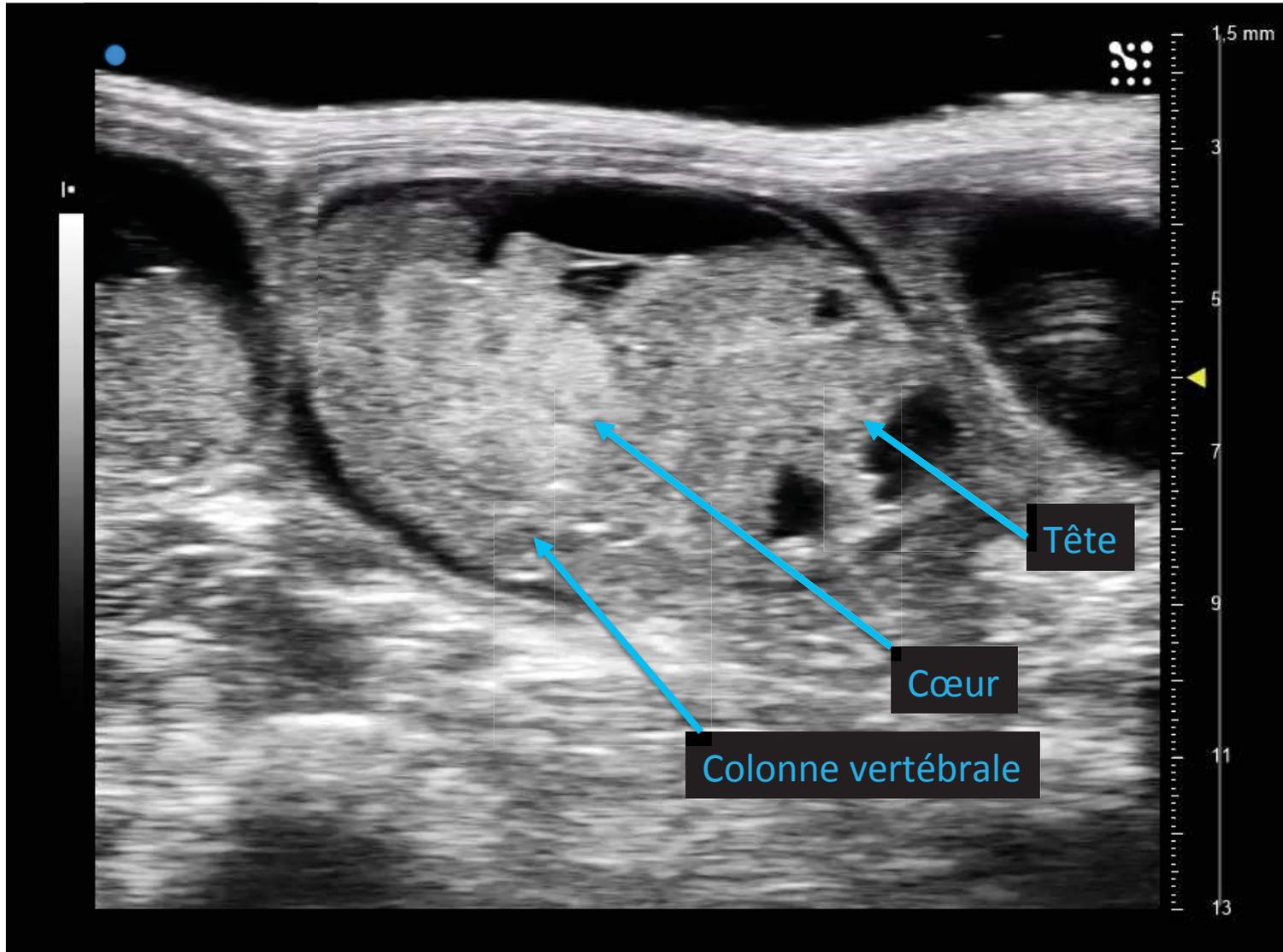


Micro-échographie et suivi de gestation chez la souris

-> 50MHz sonde, 30 μ m résolution, 1-5cm profondeur



Développement embryonnaire chez la souris : E12.5



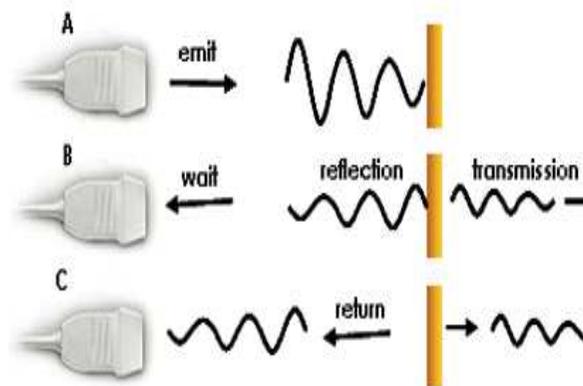
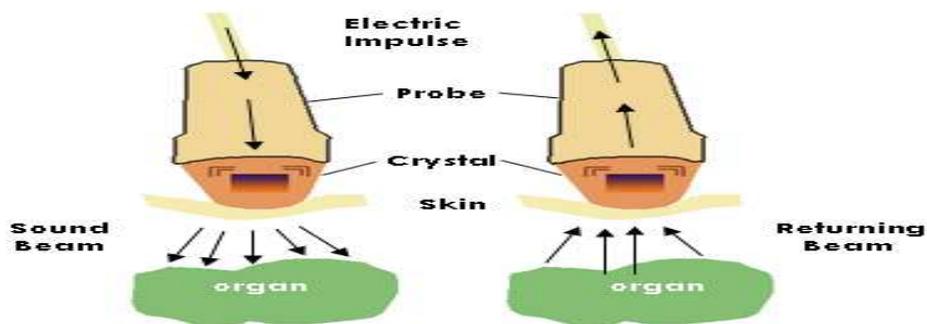


ETUDE DES FLUX SANGUINS AU COURS DU DEVELOPPEMENT FOETO-PLACENTAIRE

Technologie Ultrasons

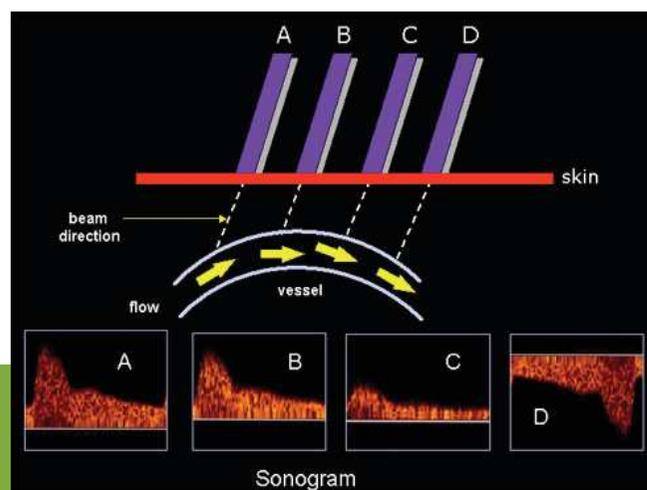
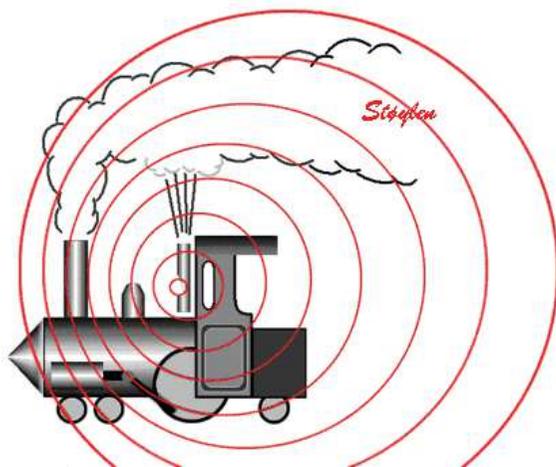
Technique

Ultrasons



Doppler

Examen non invasif
des flux sanguins

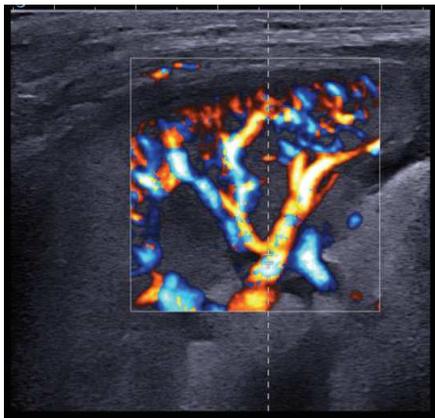


.030

Imagerie Doppler via deux modes ultrasonores différents

Doppler couleur

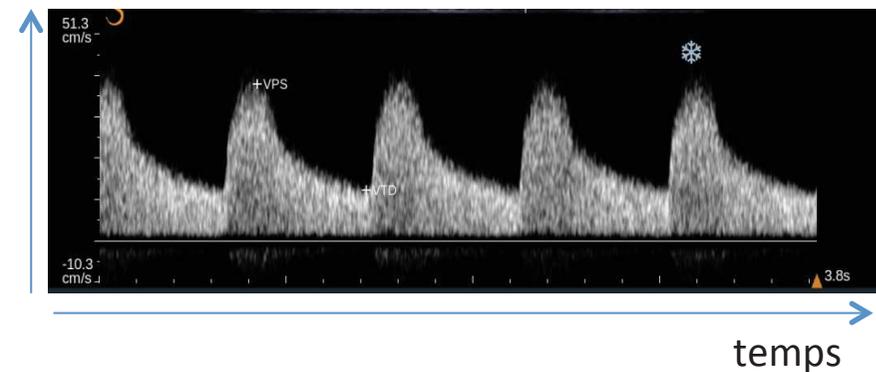
- Imagerie en temps réel des flux
- Affiche la vitesse moyenne par pixel dans une représentation codée en couleur
- Détection du flux dans la région d'intérêt



Doppler pulsé spectral

- Analyse de la vitesse des flux via une analyse du spectre en temps réel par utilisation d'une Transformée de Fourier rapide
- Acquisition longue donc -> spécifique de la zone ciblée

Vélocités



Imagerie

ET

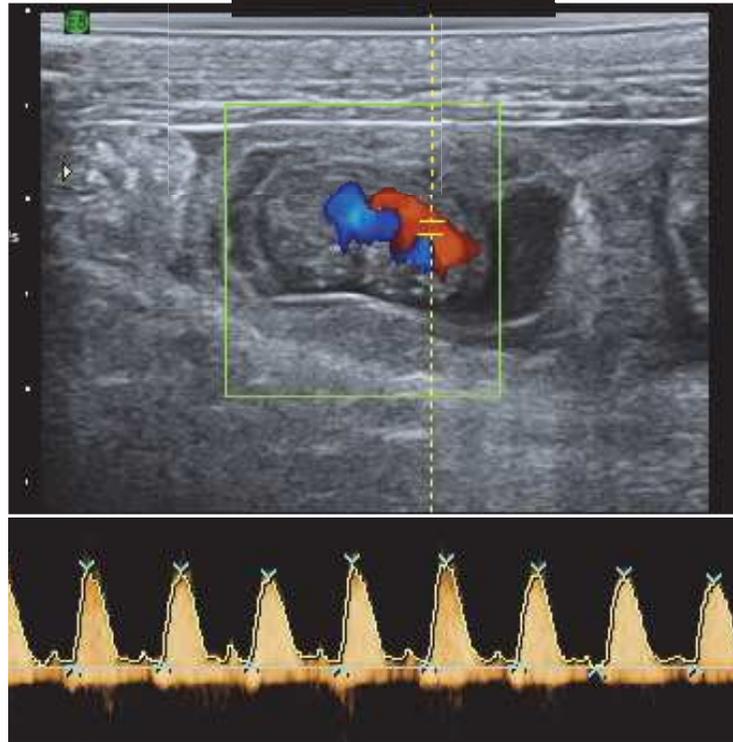
Quantification

.031

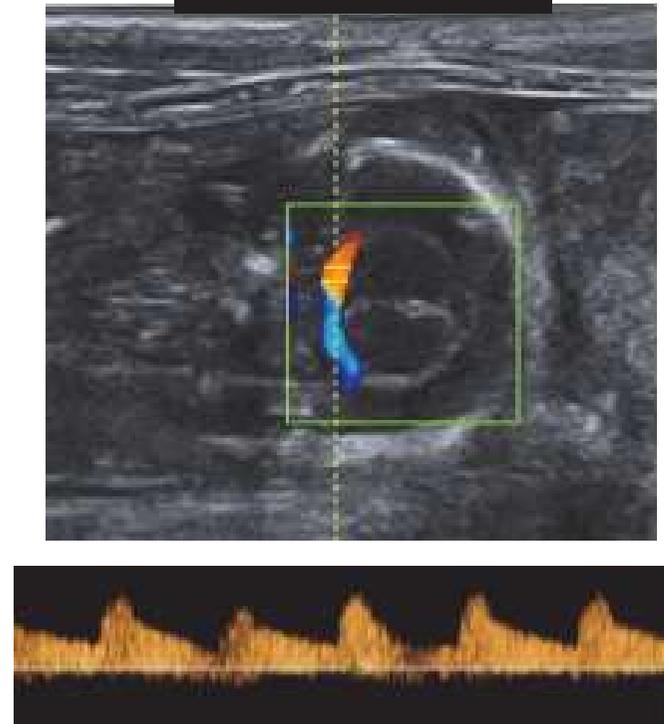
Mesure des flux sanguins par Doppler 2D



Doppler
Artère
Ombilicale

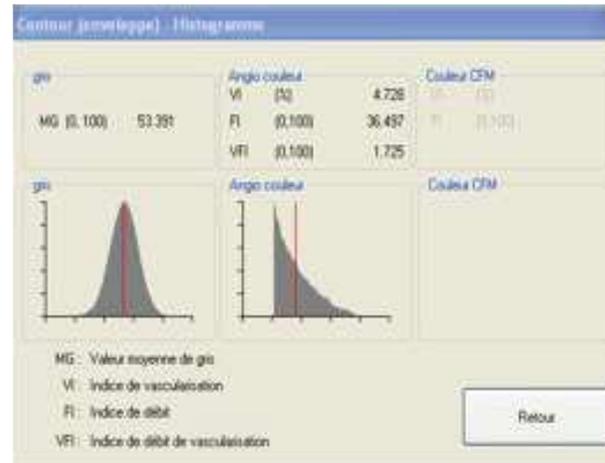
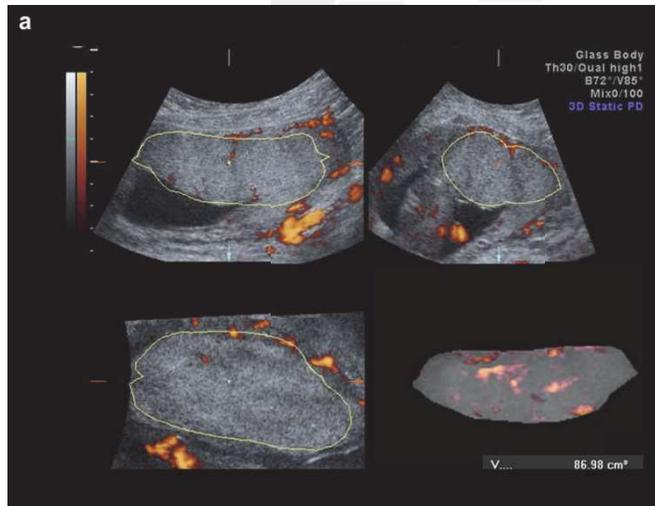


Doppler
Artère Cérébrale
Foetal



->Vitesse systolique, vitesse diastolique, indice de résistance, indice de pulsalité

Quantification de la vascularisation placentaire par Doppler puissance 3D



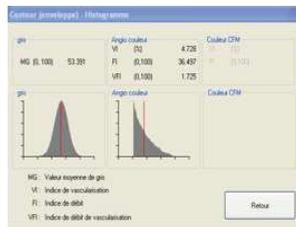
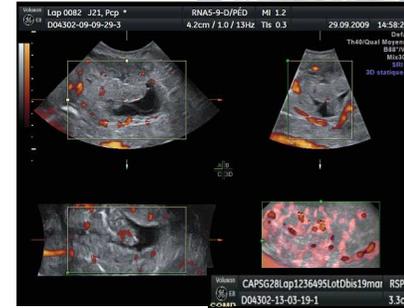
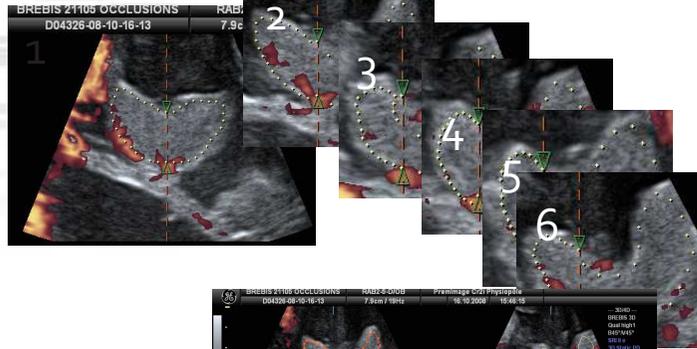
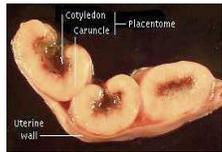
quantification

Logiciel calcule le nombre de voxels de couleur et le nombre de voxels en niveau de gris

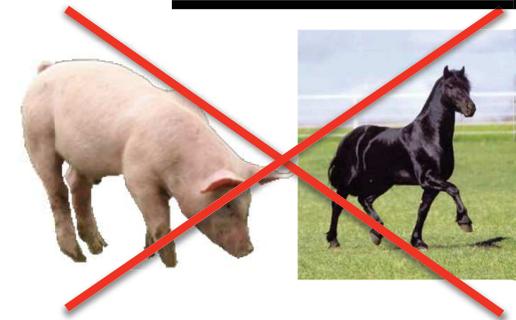
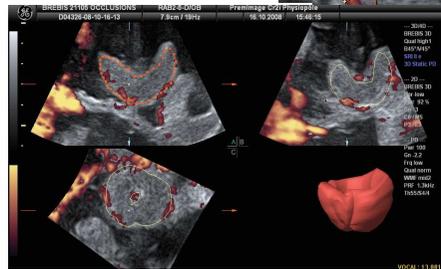
VI: vascular index (% de voxels colorés qui reflète la densité des vaisseaux dans un volume étudié)

FI: flow index (intensité des voxels, intensité des flux)

VFI: vascular flow index (perfusion du tissu)

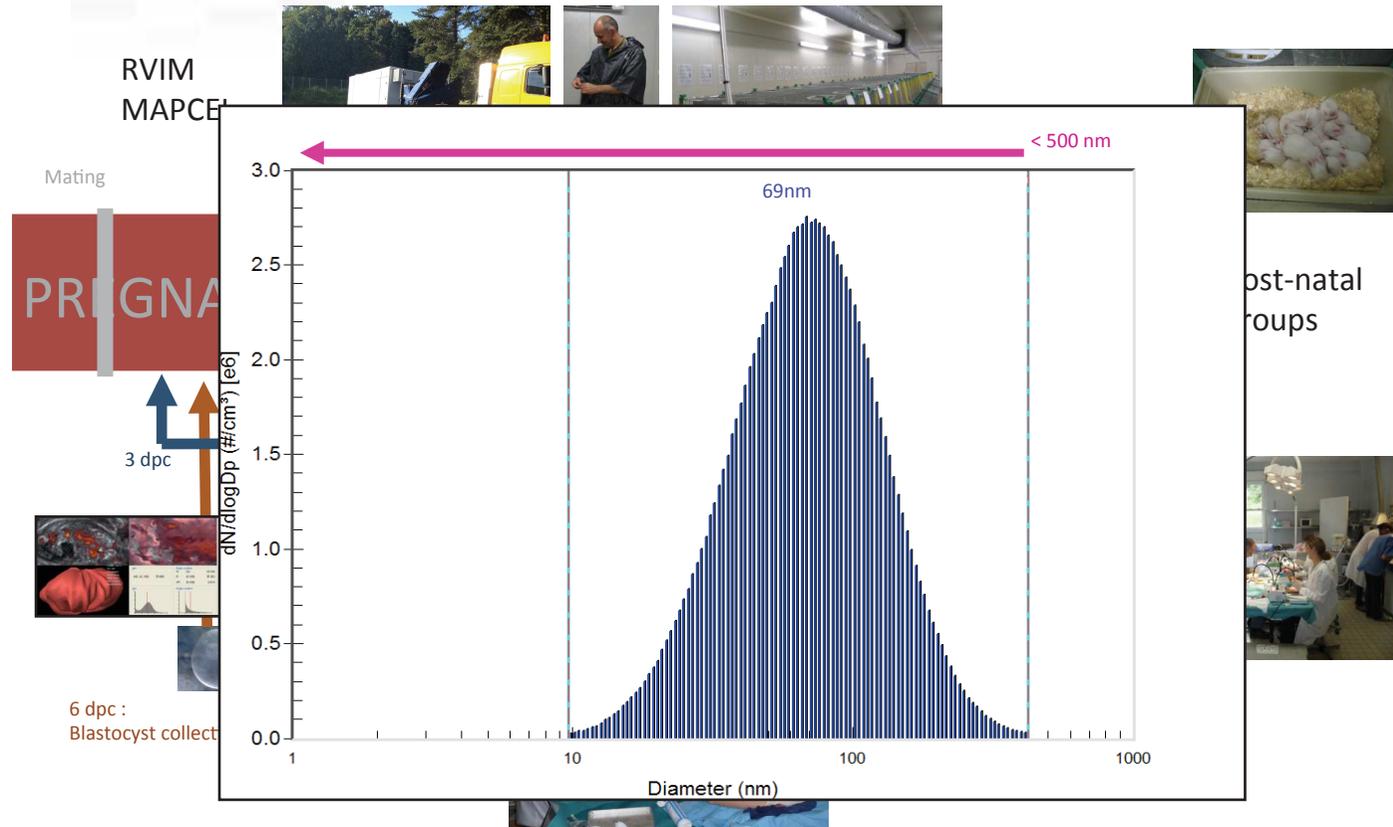


VOCAL
TM



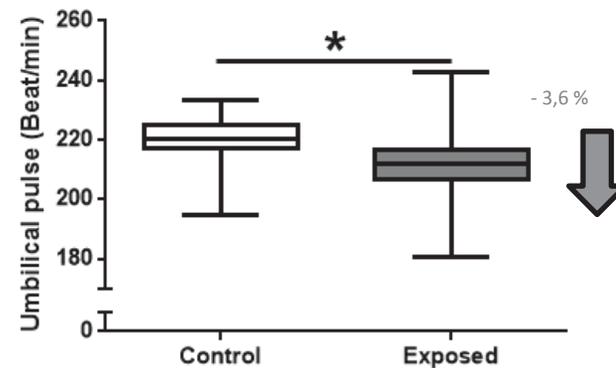
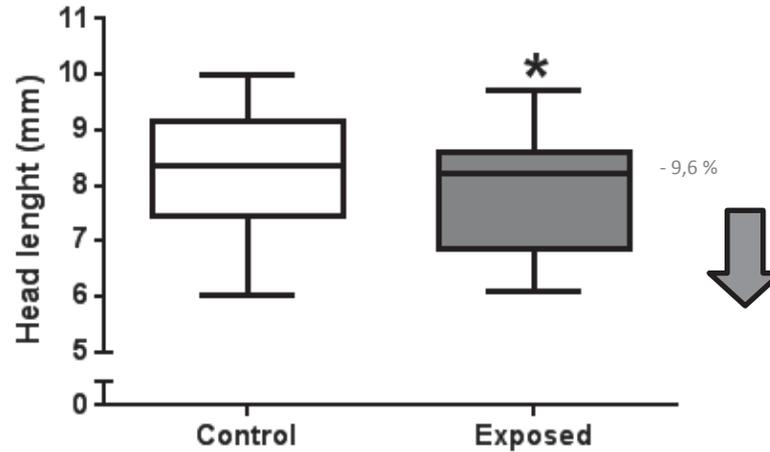
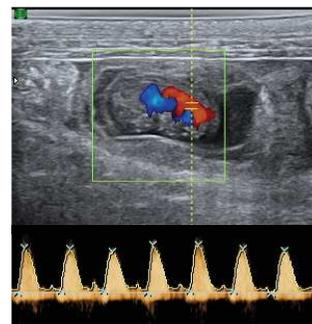
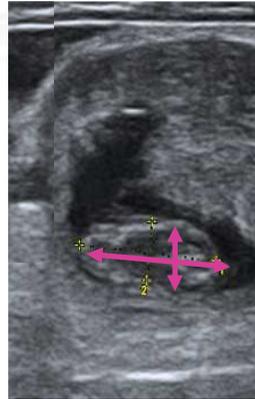
(Lecarpentier et al. Placenta 2012; Le Cleac'h et al. RFD 2012)

Exemple: Exposition par inhalation aux gaz d'échappement de moteur diesel chez la lapine, au cours de la gestation, et effets sur la descendance



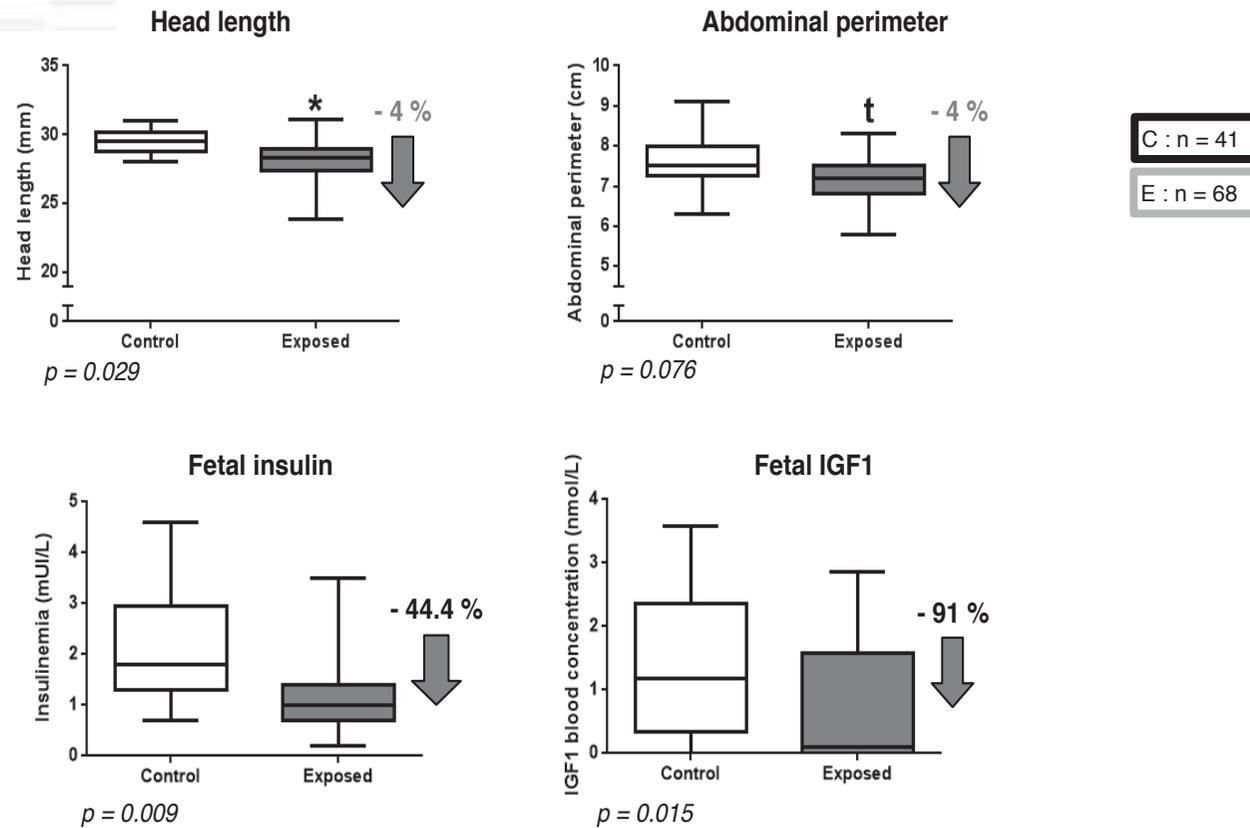
Exemple: Exposition par inhalation aux gaz d'échappement de moteur diesel au cours de la gestation chez la lapine à J14

C: n = 36
E: n = 65



Signes de souffrance fœtale (Valentino et al., 2016)

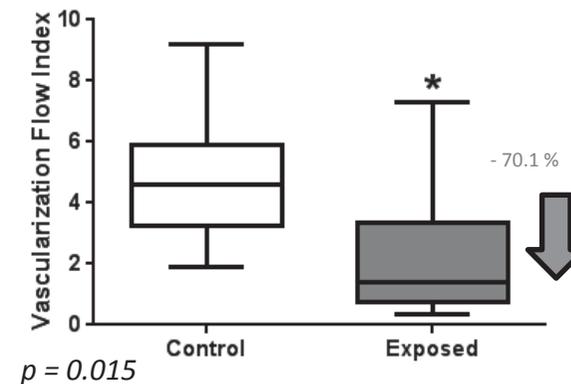
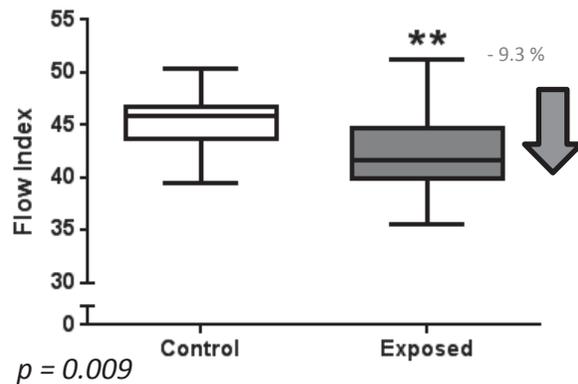
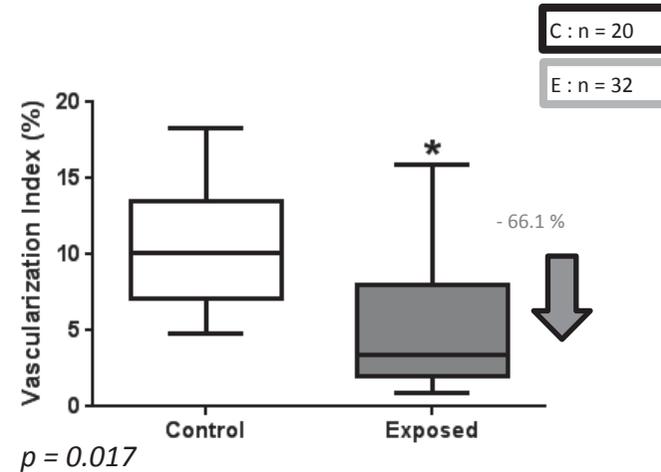
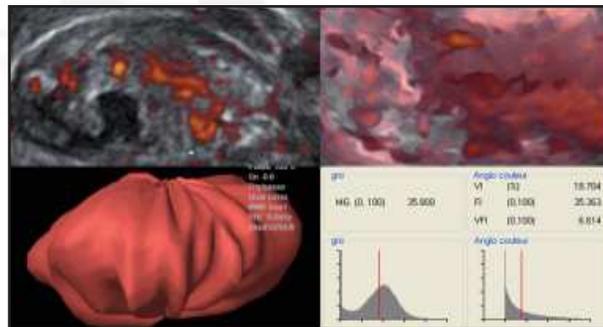
Exemple: Exposition par inhalation aux gaz d'échappement de moteur diesel au cours de la gestation chez la lapine J28



Retard de croissance

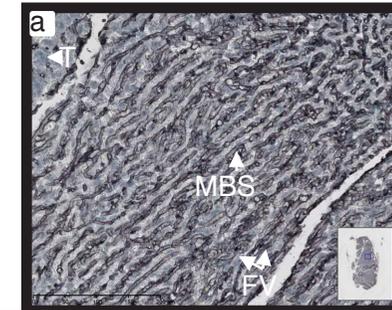
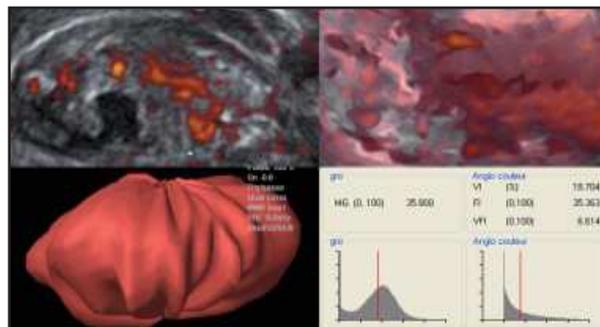
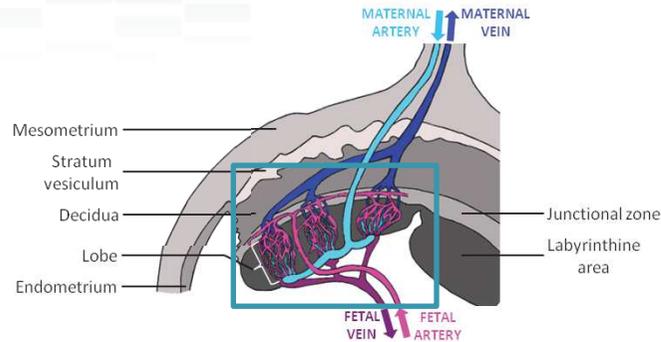
(Valentino et al., 2016)

Exemple: Exposition par inhalation aux gaz d'échappement de moteur diesel au cours de la gestation chez la lapine J28

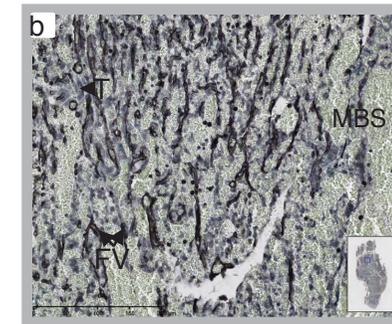


Reduction du flux sanguin placentaire

Exemple: Exposition par inhalation aux gaz d'échappement de moteur diesel au cours de la gestation chez la lapine



- ↘ trophoblast volume fraction
- ↘ fetal vessels volume fraction
- ↗ maternal blood space

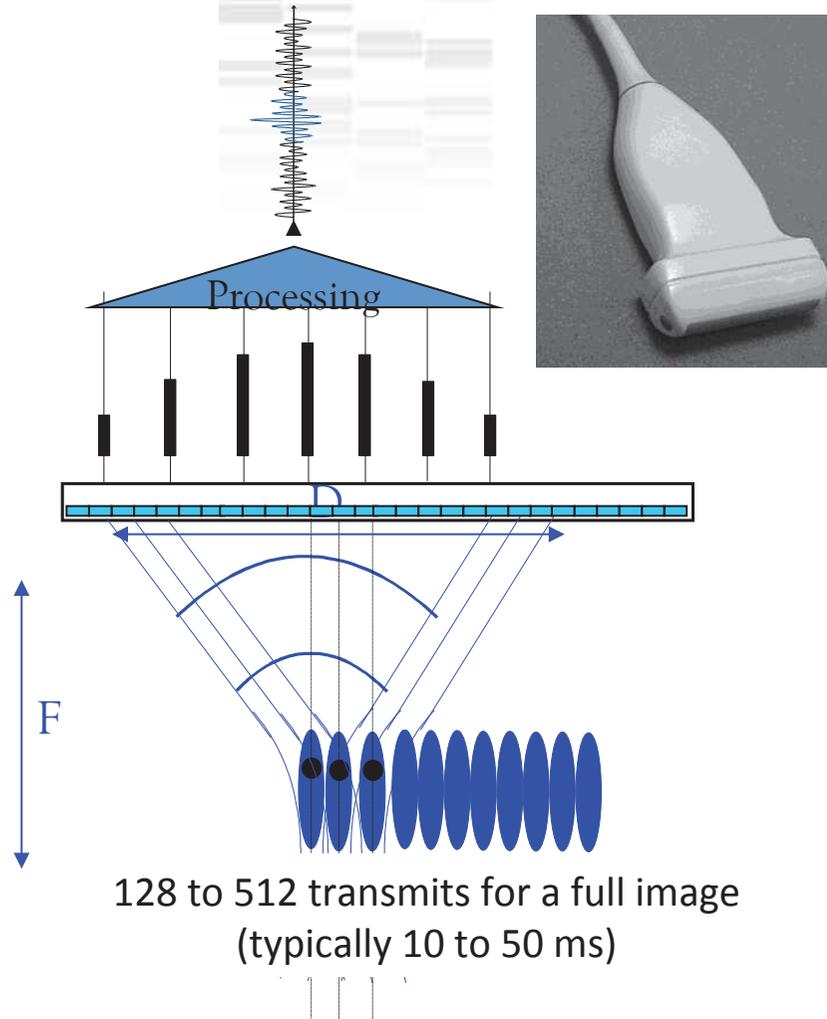


T: Trophoblast;
FV: Fetal Vessels;
MBS: Maternal Blood Space

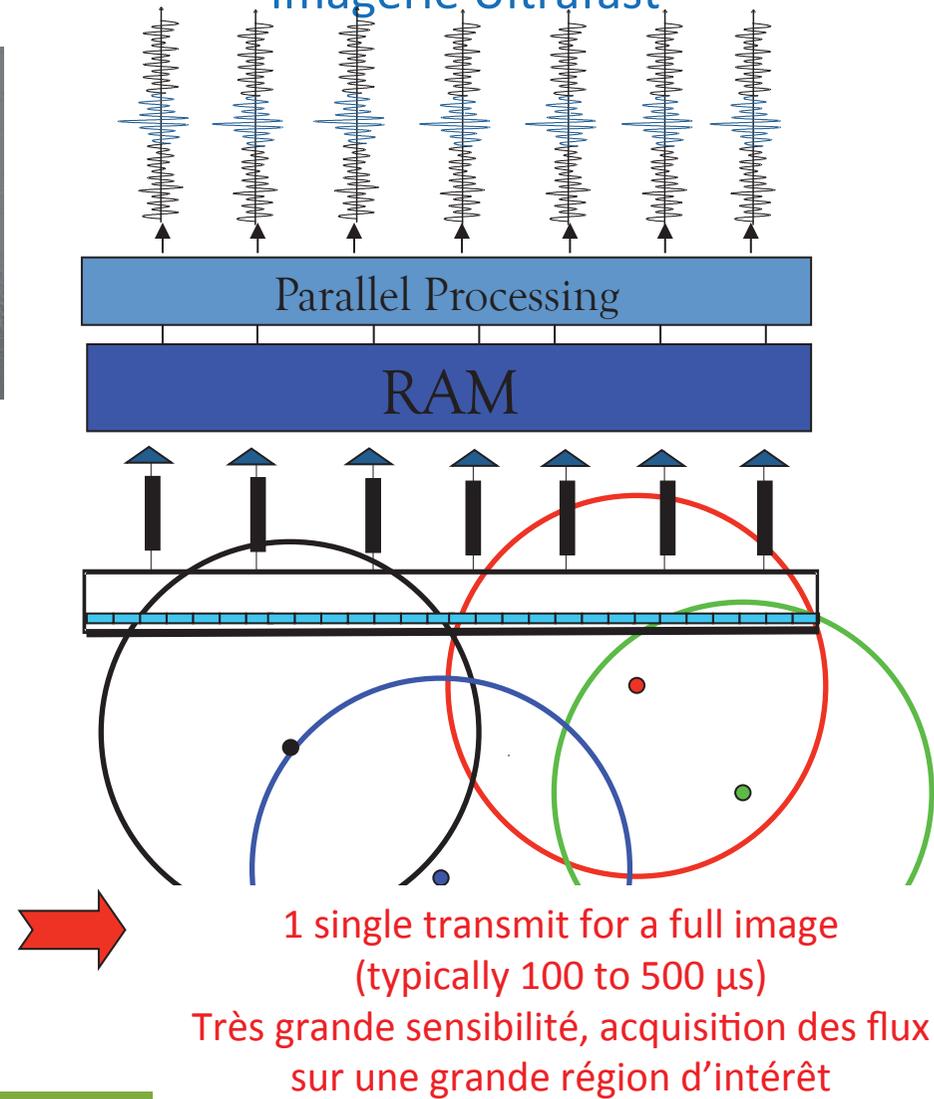
Confirmation *ex-vivo* via une réduction du volume des vaisseaux foetaux placentaires

UltraFast Doppler

Imagerie conventionnelle

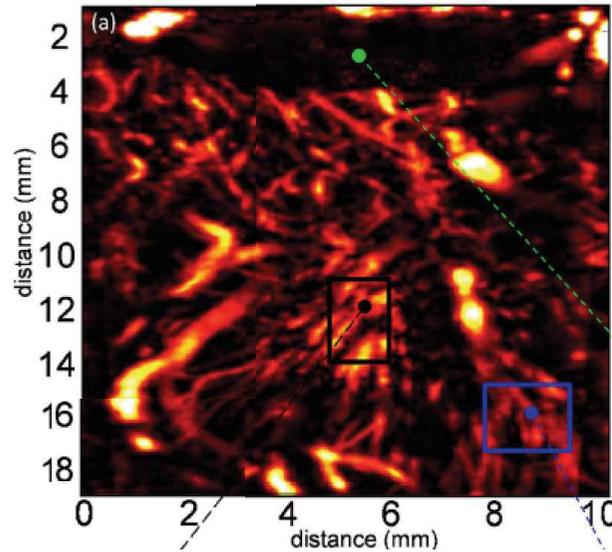


Imagerie Ultrafast

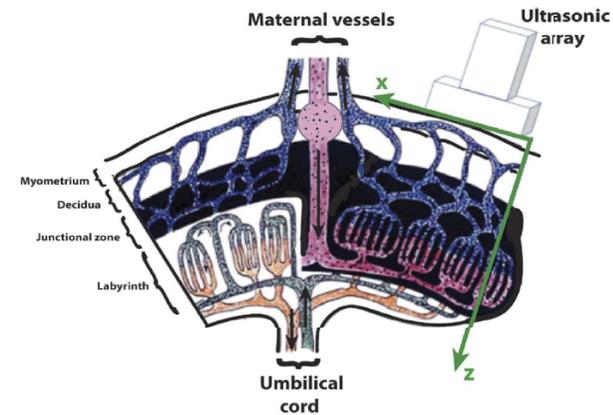
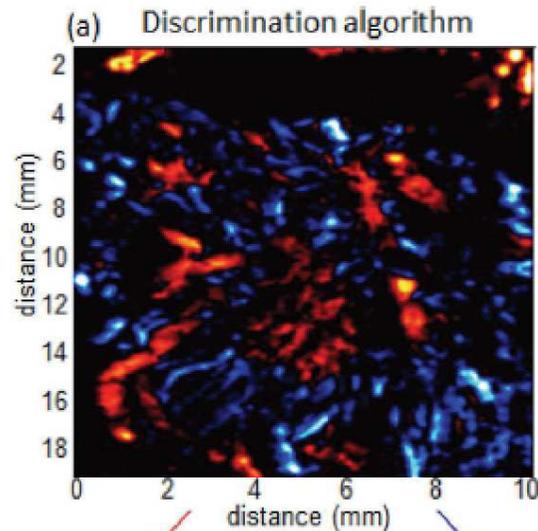
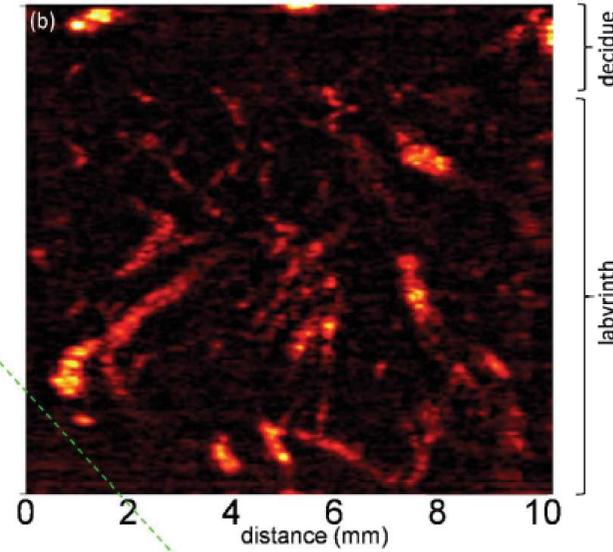


Comparaison Doppler UltraFast et Doppler 2D

Imagerie Ultrafast



Imagerie Doppler 2D

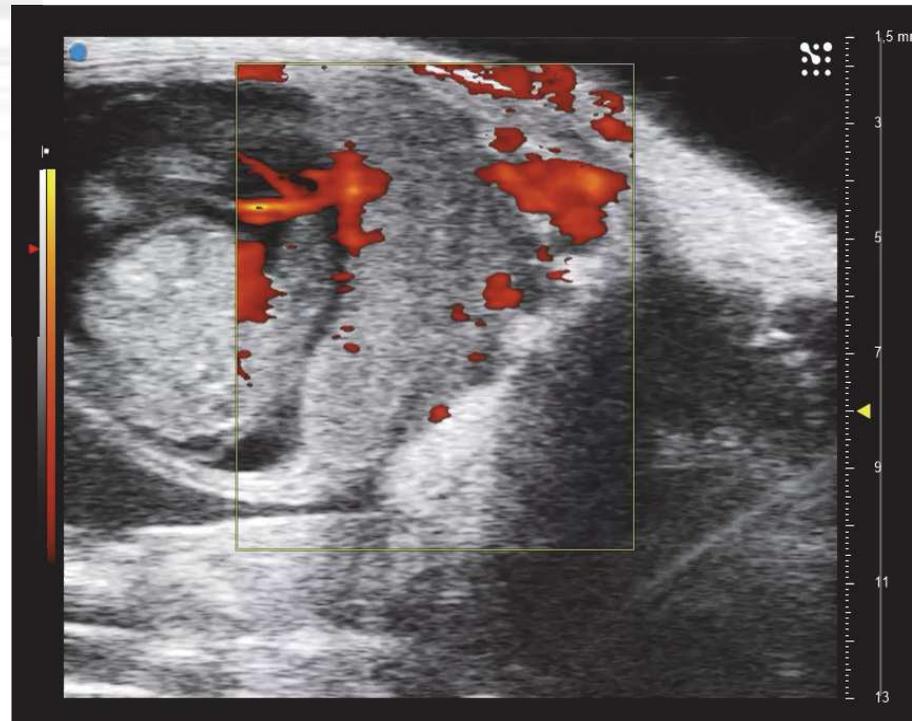


(Osmanski et al. 2015)

.041

Micro-échographie et flux sanguins chez la souris

E 12,5



-> Possibilité de faire du Doppler 2D, Doppler puissance 3D, voire de l'imagerie photoacoustique (LAZR-X, saturation en oxygène)

Christophe Richard

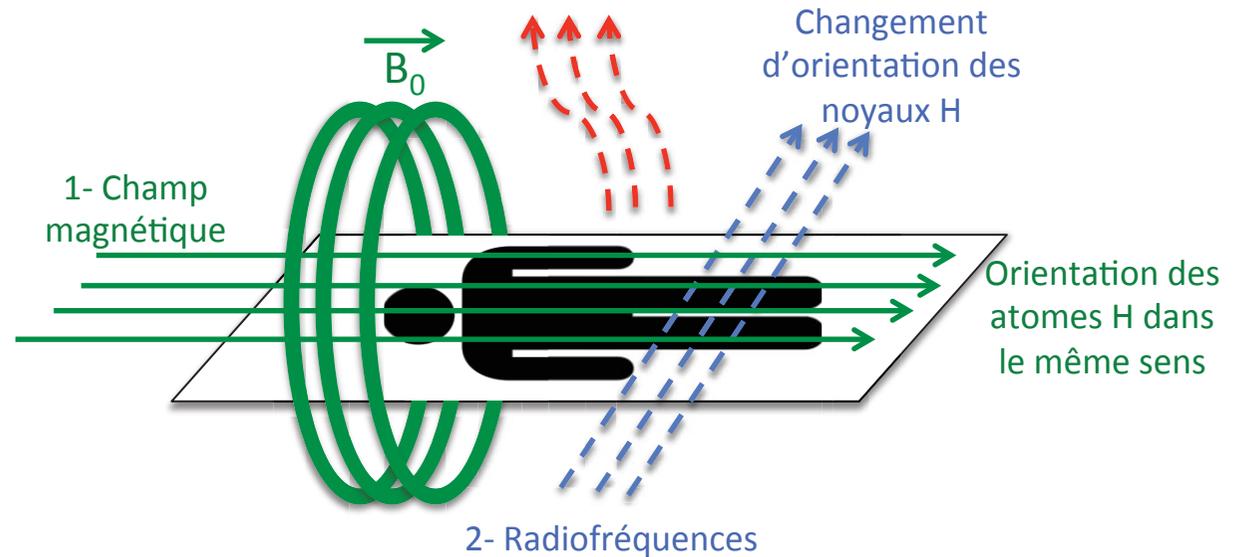


PHENOTYPAGE POST-NATAL

Imagerie par Résonance Magnétique nucléaire



- A-Induit un bref courant électrique spécifique de la région du corps
- B-Détection via les capteurs
- C-Production d'une image



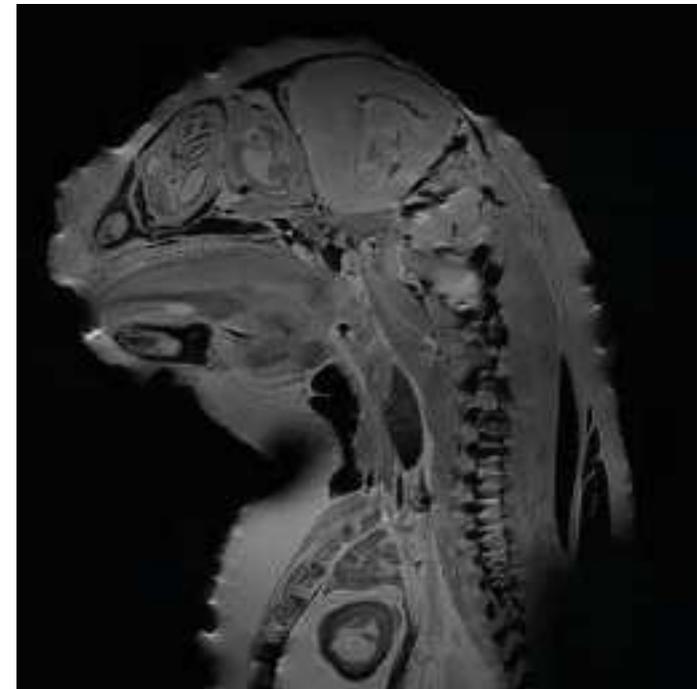
Les produits de contraste le plus souvent utilisés sont des dérivés du gadolinium qui ont des propriétés magnétiques affectant les temps de relaxation des protons.

Résonance Magnétique nucléaire

Objectif

Evaluer le développement des tissus à l'échelle histologique

Scan of neonatal rabbit head



(Morel, Beaumont, et al. unpublished data)

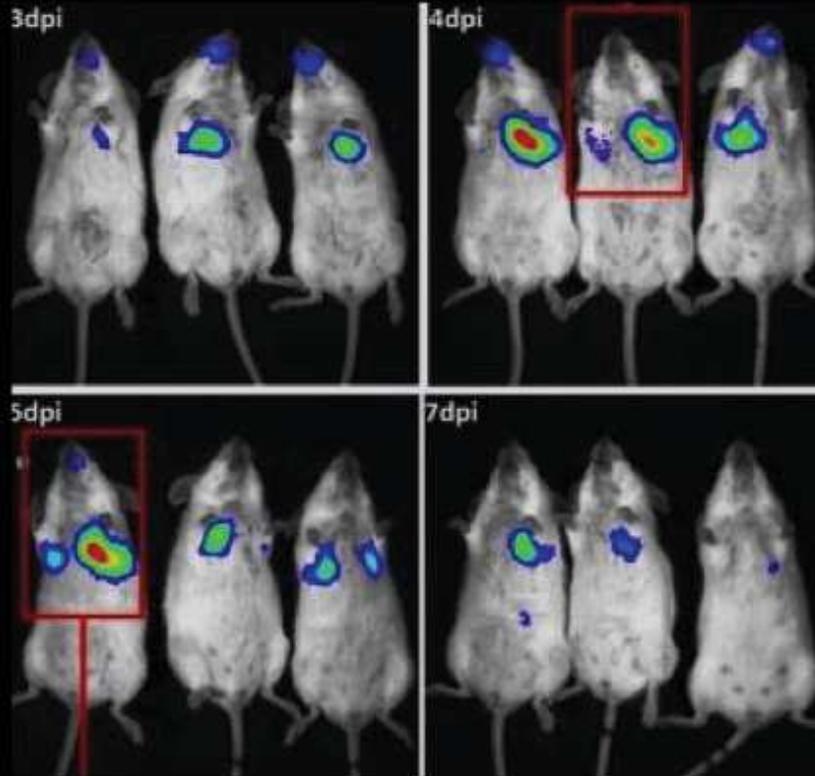
IVIS



Système d'imagerie *in vivo* en temps réel
basée sur la détection des photons émis par la luciférase
(bioluminescence)

VIM

Différents modèles animaux
Poisson, souris, lapin, poulet

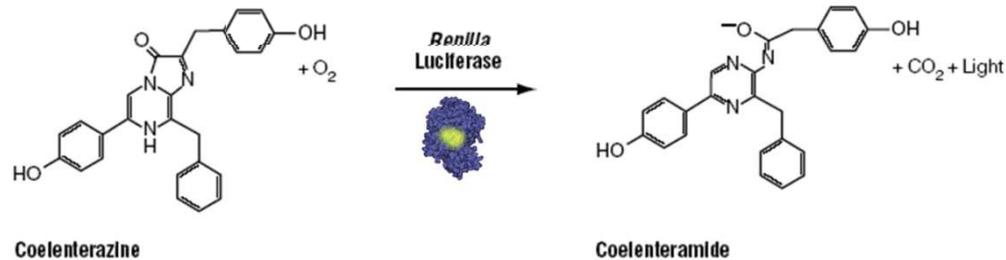


Nombreuses Applications

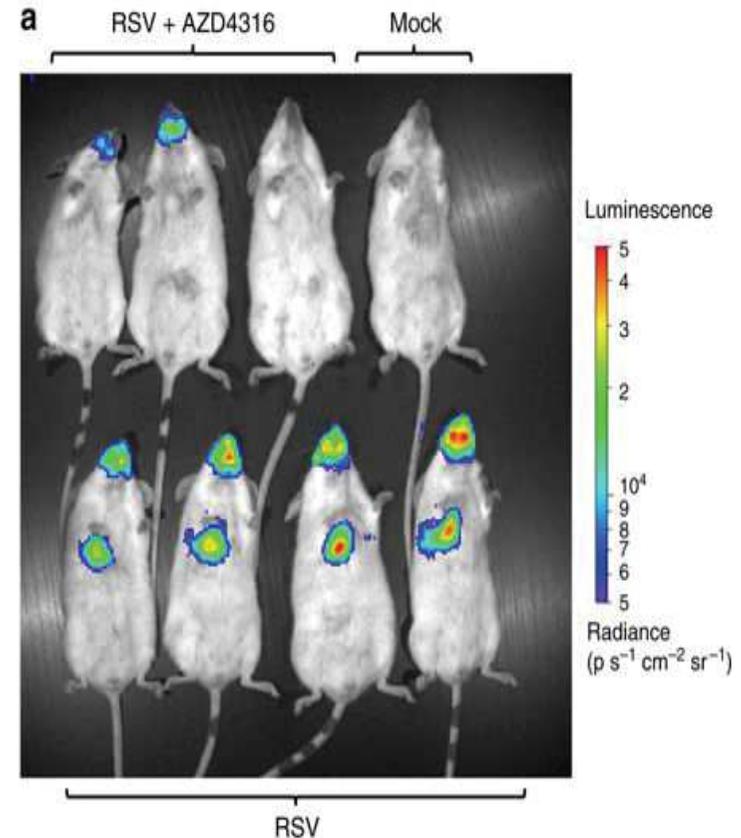
Test :
d'antiviraux,
d'antibiotiques
de vaccins,
Etude des
interactions
hôte
pathogènes,
cancérologie

IVIS

Système d'imagerie *in vivo* en temps réel basé sur la détection des photons émis par la luciférase (bioluminescence)



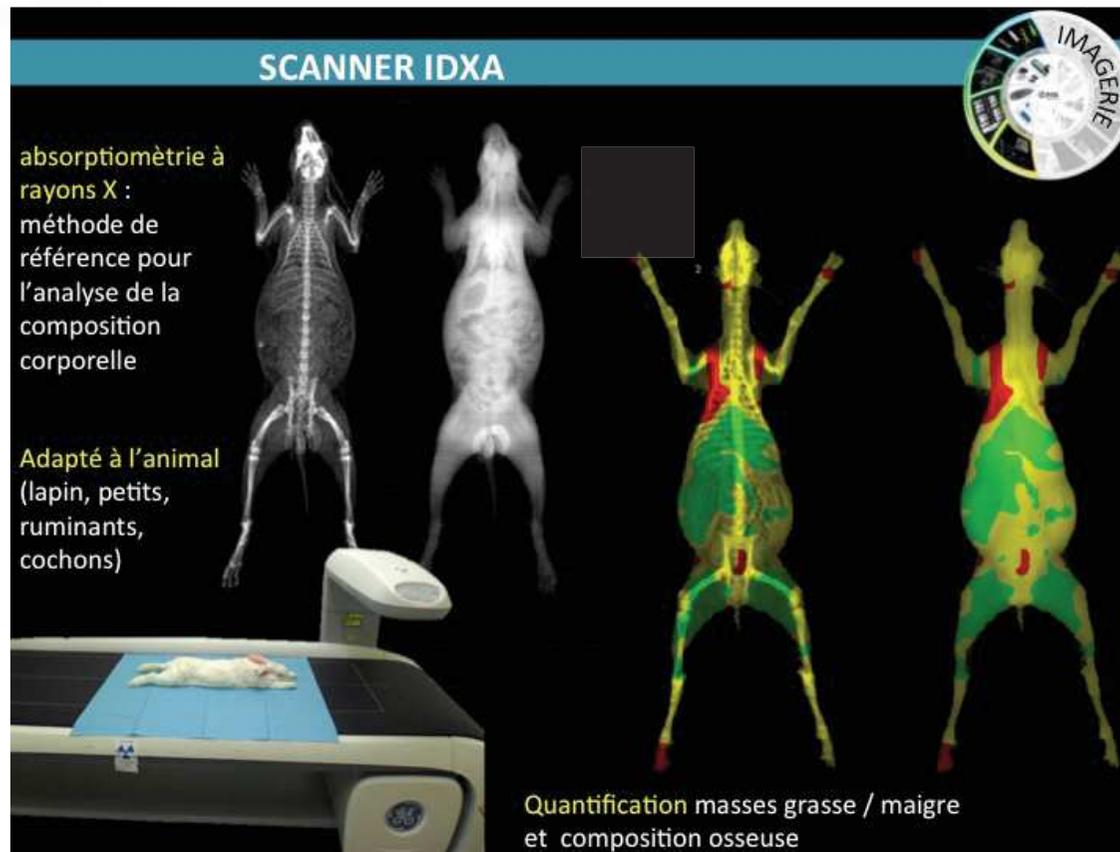
Criblage de molécules thérapeutiques



Souris infectées avec le RSV-LUC. Les points colorés signalent l'expression de la luciférase et ainsi le niveau de répllication du virus : on remarque ainsi que la molécule AZD4316 bloque efficacement la répllication virale (Rameix-Welti et al. Nat Com 2014).

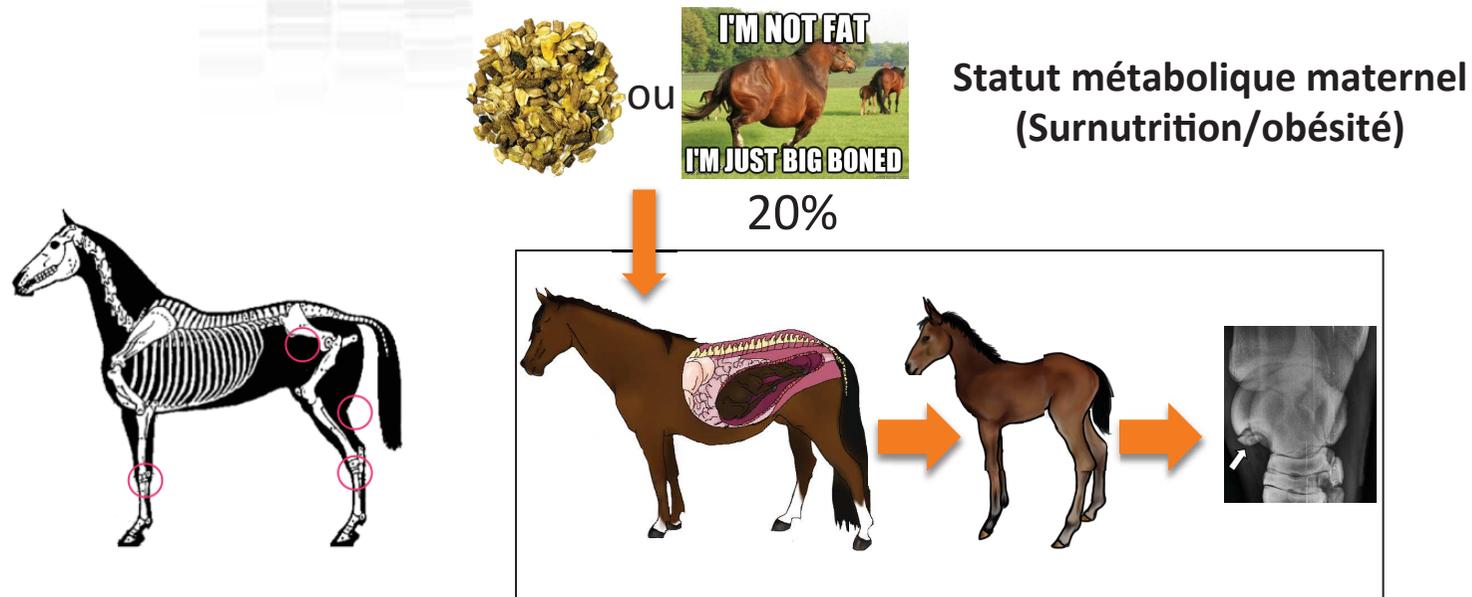
Absorptiométrie biphotonique à rayons X

Principe: consiste à balayer l'ensemble du corps avec un faisceau de rayons X à deux niveaux d'énergie. Le rapport des atténuations de ces deux rayonnements est fonction de la composition de la matière traversée (nature et épaisseur).



X-Ray

Etudier les effets des pratiques d'élevage sur la pathologie osseuse (ostéochondrose)



Perturbation de la fonction placentaire, du métabolisme et de la prévalence des lésions d'OC jusqu'à 2 ans



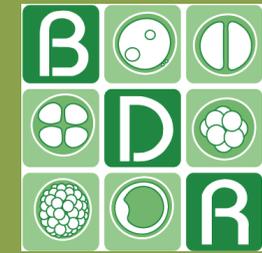
Juments/poulains: résistance à l'insuline + inflammation systémique
Augmentation des lésions d'OC jusqu'à 2 ans

(Robles et al., 2017)



CONCLUSION

- Nombreuses techniques d'imagerie
- Suivi du développement embryonnaire, foeto-placentaire et post-natal
- Etude anatomique, hémodynamique, biodistribution
- Expérimentateur qualifié (reproductibilité des mesures)
- Coût élevé (achat et maintenance)



Merci à...

Christophe RICHARD, Valérie GELIN, Eve MOURIER, Gilles RENAULT,

LEC **MERCI POUR VOTRE ATTENTION** arine
BEAUMONT...



