

Caractérisation de la croissance fœtale *in utero* par échographie chez la lapine

P. CHAVATTE-PALMER¹, P. LAIGRE², E. SIMONOFF¹,
M. CHALLAH¹, P. CHESNE¹, J.P. RENARD¹

¹UMR INRA-CNRS-ENVA 1198, Biologie du Développement et Reproduction, 78352 Jouy en Josas cedex
²UE331, Domaine de Bressonvilliers, 91630 Leudeville, France

Résumé. Dans le cadre de recherches sur le déroulement de la gestation chez la lapine, il est devenu important de savoir mesurer la croissance fœtale *in utero* par imagerie médicale. Dans cette étude, 42 lapines néo-zélandaises saillies naturellement (N=12) ou ayant reçu des embryons produits *in vivo* (2, 4 ou 6 par lapine) ont été échographiées par voie transabdominale avec une sonde de 7,5 Mhz tous les 2 à 3 jours à partir de J7 post-coït. La taille de la vésicule, du placenta, du corps et de la tête ont ainsi été déterminés en fonction du temps et du nombre de fœtus présents. En fin de gestation, les fœtus issus de transferts d'un nombre limité d'embryons étaient significativement plus grands que ceux issus de saillie naturelle.

Summary. *In utero* characterisation of foetal growth by ultrasound scanning in the rabbit. In the objective of developing research on pregnancy development in rabbits, it has become important to be able to measure foetal growth *in utero* using medical imaging. In this study, 42 NewZealand does bred naturally (N=12) or transferred with *in vivo* produced embryos (2, 4 or 6 embryos/doe) have been scanned with a 7.5 Mhz transabdominal probe from Day 7 post-coitum to measure foetal and placental growth. Vesicle, placental, embryo and head size have thus been determined according to number of foetuses and time. In late gestation, foetuses that were transferred in limited numbers to the uterus of does were significantly larger than their natural breeding counterparts.

Introduction

Des études épidémiologiques conduites chez l'homme démontrent que des pathologies prévalentes dans certaines populations humaines comme l'hypertension ou la résistance à l'insuline, trouvent leur origine pour partie dans des dérégulations de l'alimentation du fœtus à des périodes critiques de son développement (Barker *et al.* 2002), y compris pendant la période périconceptionnelle (Kwong *et al.* 2000; Fleming *et al.* 2004). L'alimentation maternelle n'affecte donc pas seulement les caractéristiques pondérales du fœtus à la naissance, elle contribue aussi à fixer le niveau des risques alimentaires que pourra tolérer le jeune pendant sa vie adulte.

Afin d'étudier les mécanismes impliqués dans ces phénomènes, des modèles animaux sont développés. Plusieurs laboratoires dans le monde s'attachent à cet objectif et font appel principalement au rat ou au mouton comme modèles d'études, bien que certaines équipes commencent à utiliser le lapin (Denton *et al.* 2003). Cependant, la pauvreté de la base de données échographiques utilisables pour évaluer la croissance fœtale *in utero* chez le lapin est un obstacle à l'étude des perturbations fœtales induites expérimentalement. L'objectif de cette étude est d'établir une méthode échographique de suivi et d'obtenir des données physiologiques sur la croissance fœtale chez le lapin pour avoir une base de comparaison pour des gestations de fœtus issus de saillie naturelle ou issus de transfert d'embryon (transfert d'un nombre très limité d'embryons par lapine).

1. Animaux, matériels et méthodes

Quarante-deux lapines primipares de race Néo-Zélandaise, âgées de 8 à 16 mois et dans les mêmes conditions de logement et d'alimentation ont été utilisées. Les lapines sont passées en lapinerie de jours longs (8h --> 16h) environ une semaine avant l'accouplement.

Pour les groupes 1 à 3, les lapines donneuses réceptives (sans superovulation) sont accouplées puis abattues et les embryons collectés 19h *post coitum*. Les lapines receveuses sont synchronisées par injection de 0,8µg de Buséreline (0,2ml/IM) (Receptal®, Intervet, Beaucauzé, France) au moment où les donneuses sont accouplées. Les embryons recueillis dans du milieu M199 (VWR International, Fontenay sous Bois, France) tamponné à l'Hepes sont transférés moins d'une heure après collecte sous anesthésie générale chez la receveuse. Trois groupes de receveuses ont été constitués :

- Groupe 1 (N=6): un embryon dans chaque corne utérine
- Groupe 2 (N=18): 2 embryons dans chaque corne utérine
- Groupe 3 (N=6): 3 embryons dans chaque corne utérine
- Le Groupe 4 (N=12) était constitué de lapines saillies naturellement.

Les lapines sont examinées tous les 2-3 à partir de 7 jours avec un échographe Vetson Color (Kontron Médical, France) équipé d'une sonde linéaire de 7,5 Mhz (plage de fréquence de 4 à 12 Mhz) et d'un

doppler couleur. Elles sont immobilisées dans une boîte de contention en plexiglas fabriquée à cet usage, dans laquelle elles restent calmes sans anesthésie (Figure 1). L'examen commence par la droite et finit vers la gauche, en orientant la sonde linéaire dans la plan sagittal. A la première échographie, une approche globale est tout d'abord réalisée pour

prendre connaissance du nombre exact d'embryons présents après transfert, sachant que le nombre implanté est connu. Lors de saillie naturelle, cette même démarche a été effectuée pour connaître approximativement le nombre d'embryons, mais seulement 6 fœtus ont été mesurés pour essayer d'éviter la répétition des mesures sur un seul fœtus.

Figure 1 : Positionnement de la lapine dans la boîte de contention pour examen échographique (1: boîte vide, 2: blocage de la lapine, 3: position finale pour l'examen)



Les structures identifiables (vésicule, fœtus, placenta) sont mesurées. Le rythme cardiaque est mesuré grâce à la fonction doppler pulsé au niveau du cœur.

L'analyse statistique a été effectuée par analyse de variance et covariance par la procédure mixte avec mesures répétées du logiciel de statistiques SAS (SAS Institute, Cary, USA). Après vérification qu'il n'y avait pas de différence significative entre les mesures effectuées indépendamment sur les mêmes animaux par les deux opérateurs, le groupe (nombre d'embryons transférés) et le stade de gestation ont été utilisés comme variables fixes. L'analyse des mesures répétées par animal prend en compte les effets aléatoires.

2. Résultats

2.1. Observation des structures dans le temps et validation entre opérateurs

La figure 2 illustre les observations fœtales et placentaires qui peuvent être effectuées de façon systématique à chaque examen en fonction du stade de gestation. D'autres structures, comme l'ombilic, la

largeur de la gouttière neurale, le diamètre aortique, l'espace inter-costal (entre 3 côtes), les reins et les membres ont pu être observées ponctuellement.

2.2. Evolution dans le temps

Les mesures montrent une croissance linéaire de la plupart des paramètres mesurés. A titre d'exemple, la Figure 3 représente la longueur de la vésicule en fonction du stade de gestation, tous groupes confondus.

2.3. Différences entre groupes.

Dans les stades précoces, il n'existe que peu de différences entre les groupes. En revanche, en fin de gestation, la taille des éléments anatomiques mesurés est significativement différente entre les groupes, suggérant que l'absence d'encombrement utérin dans les groupes 1, 2 et 3 est à l'origine d'une augmentation de la taille fœtale. A titre d'exemple, l'évolution de la taille de la tête et celle de l'épaisseur des deux ventricules cardiaques ont été illustrées dans les figures 4 et 5.

Figure 2 : Mesures réalisées systématiquement sur chaque fœtus en fonction du stade de gestation (jours)

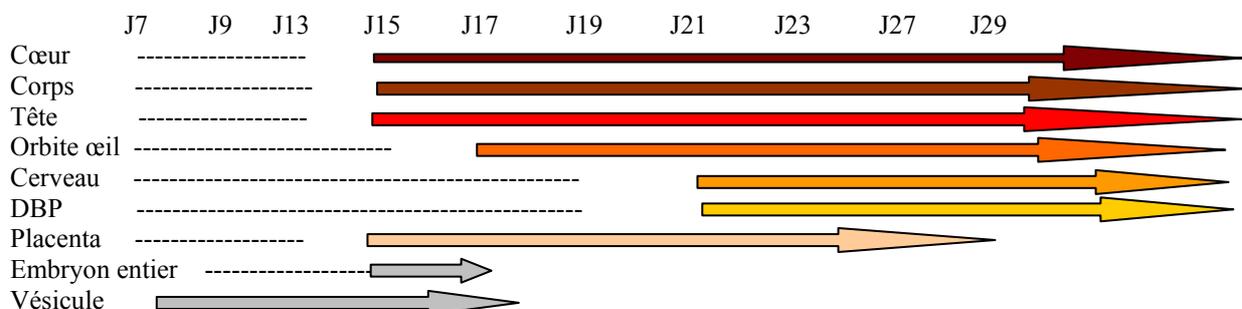


Figure 3 : A. Image échographique d'une vésicule embryonnaire à 9 jours de gestation. B. Longueur de la vésicule embryonnaire en fonction du stade de gestation

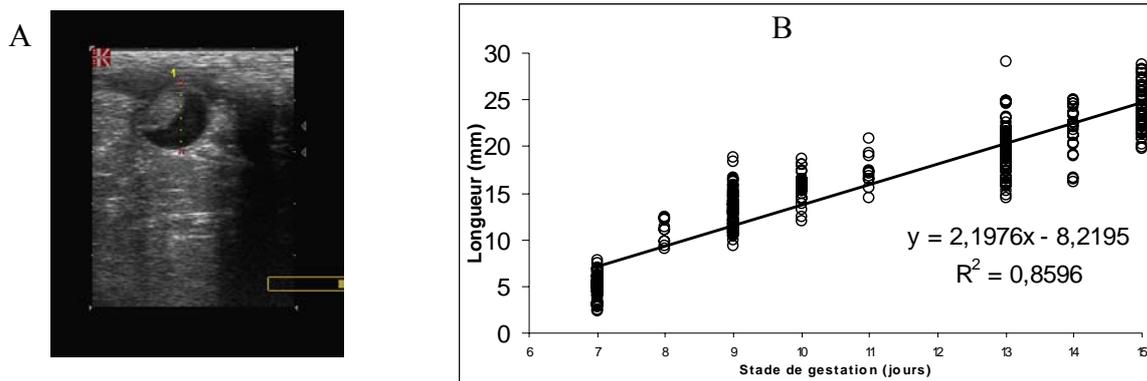


Figure 4 : A. Image de la tête d'un fœtus à 29 jours de gestation. B. Longueur moyenne de la tête (\pm écart-type) en fonction du groupe (■ Groupe 1, ■ Groupe 2, ■ Groupe 3 et □ Groupe 4) et du stade de gestation. Il y a une différence significative entre groupes ($P < 0,001$).

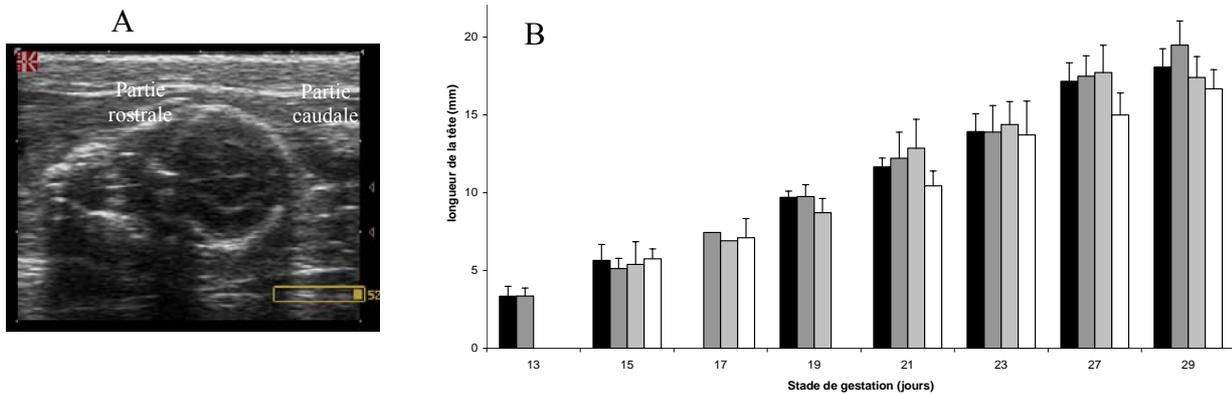
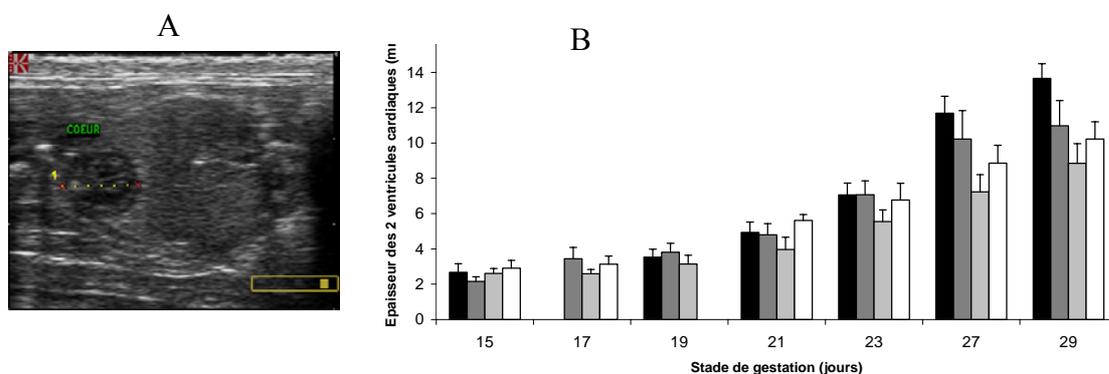


Figure 5 : A. Coupe transversale du thorax d'un fœtus à 27 jours de gestation. On observe clairement les deux ventricules et les deux oreillettes B. Longueur moyenne de la tête (\pm écart-type) en fonction du groupe (■ Groupe 1, ■ Groupe 2, ■ Groupe 3 et □ Groupe 4) et du stade de gestation. Il y a une différence significative entre groupes ($P < 0,001$).



3. Discussion et conclusion

Les données obtenues dans cette étude montrent qu'il est possible de faire un diagnostic de gestation par échographie dès 7 jours de gestation chez la lapine et que le dénombrement des fœtus est possible à partir de 9 jours dans le cas où l'on a peu de fœtus (≤ 6). De plus, ce travail a permis de mettre en place un outil pour le suivi de la croissance fœtale *in utero* chez la lapine. La plupart des études précédemment publiées sur l'échographie de la lapine ou de la hase gestante ayant été menées dans le but principal de confirmer ou d'infirmer la gestation (ce qui a peu d'intérêt en élevage étant donnée la précision du diagnostic de gestation par palpation abdominale) ou de déterminer le nombre de fœtus (Cubberley 1982; Ypsilantis et Saratsis 1999; Griffin *et al.* 2003), ces données donnent la possibilité d'effectuer un suivi précis du développement fœtal chez la lapine dans des conditions expérimentales.

Références

- BARKER, D. J. P., J. G. ERIKSSON, T. FORSEN, C. OSMOND 2002. Fetal origins of adult disease: strength of effects and biological basis. *International Journal of Epidemiology* 31, 1235-1239.
- CUBBERLEY, A. 1982. Importance of ultrasound determination of pregnancy in the rabbit. *Am J Vet Res* 43, 1802-1803.
- DENTON, K. M., R. L. FLOWER, K. M. STEVENSON, W. P. ANDERSON 2003. Adult rabbit offspring of mothers with secondary hypertension have increased blood pressure. *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology* 30, A34-A34.
- FLEMING, T. P., W. Y. KWONG, R. PORTER, E. URSELL, I. FESENKO, A. WILKINS, D. J. MILLER, A. J. WATKINS, J. J. ECKERT 2004. The embryo and its future. *Biol Reprod* 71, 1046-54.
- GRIFFIN, P. C., L. BIENEN, C. M. GILLIN, S. L. MILLS 2003. Estimating pregnancy rates and litter size in snowshoes hares using ultrasound. *Wildlife Society Bulletin* 31, 1066-1072.
- KWONG, W., A. WILD, P. ROBERTS, A. WILLIS, T. FLEMING 2000. Maternal undernutrition during the preimplantation period of rat development causes blastocyst abnormalities and programming of postnatal hypertension. *Development* 127, 4195-4202.
- YPSILANTIS, P., P. SARATISIS 1999. Early pregnancy diagnosis in the rabbit by real time ultrasonography. *World Rabbit Science* 7, 95-99.