



HAL
open science

Applications thérapeutiques des ultrasons focalisés de haute intensité à l'unité placentaire

Jonathan Caloone

► **To cite this version:**

Jonathan Caloone. Applications thérapeutiques des ultrasons focalisés de haute intensité à l'unité placentaire. Ingénierie biomédicale. Université de Lyon, 2017. Français. NNT : 2017LYSE1324 . tel-01795786

HAL Id: tel-01795786

<https://theses.hal.science/tel-01795786v1>

Submitted on 18 May 2018

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.

N°d'ordre NNT : xxx



THESE de DOCTORAT DE L'UNIVERSITE DE LYON
Opérée au sein de
l'Université Claude Bernard Lyon 1

Ecole Doctorale N° 205
Ecole Doctorale Interdisciplinaire Sciences-Santé

Spécialité de doctorat :
Discipline : Ingénierie Biomédicale et Pharmaceutique

Soutenue publiquement le 5.12.2017, par :
Jonathan Caloone

Applications thérapeutiques des ultrasons
focalisés de haute intensité à l'unité
placentaire

Devant le jury composé de :

Patat Frédéric, PU-PH, CHU de Tours, rapporteur
Quesson Bruno, DR, Unité Inserm 1045, rapporteur
Chauleur Celine, PU-PH, CHU de Saint Etienne, examinatrice
Frouin Frédérique, DR, Unité Inserm 1023, examinatrice
Roman Sabine, MCU-PH, Unité Inserm 1032, examinatrice
Rudigoz René-Charles, PU-PH, CHU Lyon Nord, examinateur
Huissoud Cyril, PU-PH, CHU Lyon Nord, co-directeur de thèse
Melodelima David, DR, Unité Inserm 1032, directeur de thèse

UNIVERSITE CLAUDE BERNARD - LYON 1

Président de l'Université

Président du Conseil Académique

Vice-président du Conseil d'Administration

Vice-président du Conseil Formation et Vie Universitaire

Vice-président de la Commission Recherche

Directrice Générale des Services

M. le Professeur Frédéric FLEURY

M. le Professeur Hamda BEN HADID

M. le Professeur Didier REVEL

M. le Professeur Philippe CHEVALIER

M. Fabrice VALLÉE

Mme Dominique MARCHAND

COMPOSANTES SANTE

Faculté de Médecine Lyon Est – Claude Bernard

Faculté de Médecine et de Maïeutique Lyon Sud – Charles Mérieux

Faculté d'Odontologie

Institut des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques

Institut des Sciences et Techniques de la Réadaptation

Département de formation et Centre de Recherche en Biologie Humaine

Directeur : M. le Professeur G.RODE

Directeur : Mme la Professeure C. BURILLON

Directeur : M. le Professeur D. BOURGEOIS

Directeur : Mme la Professeure C. VINCIGUERRA

Directeur : M. X. PERROT

Directeur : Mme la Professeure A-M. SCHOTT

COMPOSANTES ET DEPARTEMENTS DE SCIENCES ET TECHNOLOGIE

Faculté des Sciences et Technologies

Département Biologie

Département Chimie Biochimie

Département GEP

Département Informatique

Département Mathématiques

Département Mécanique

Département Physique

UFR Sciences et Techniques des Activités Physiques et Sportives

Observatoire des Sciences de l'Univers de Lyon

Polytech Lyon

Ecole Supérieure de Chimie Physique Electronique

Institut Universitaire de Technologie de Lyon 1

Ecole Supérieure du Professorat et de l'Education

Institut de Science Financière et d'Assurances

Directeur : M. F. DE MARCHI

Directeur : M. le Professeur F. THEVENARD

Directeur : Mme C. FELIX

Directeur : M. Hassan HAMMOURI

Directeur : M. le Professeur S. AKKOUCHE

Directeur : M. le Professeur G. TOMANOV

Directeur : M. le Professeur H. BEN HADID

Directeur : M. le Professeur J-C PLENET

Directeur : M. Y.VANPOULLE

Directeur : M. B. GUIDERDONI

Directeur : M. le Professeur E.PERRIN

Directeur : M. G. PIGNAULT

Directeur : M. le Professeur C. VITON

Directeur : M. le Professeur A. MOUGNIOTTE

Directeur : M. N. LEBOISNE

Applications thérapeutiques des ultrasons focalisés de haute Intensité à l'unité placentaire

Résumé

Objectifs : Développer un traitement HIFU (*High-Intensity Focused Ultrasound*) des anomalies placentaires au moyen d'un transducteur torique. Les essais ont été menés à partir d'un modèle *ex-vivo*, puis la faisabilité, l'efficacité et l'innocuité du traitement a été évaluée sur un modèle de guenons gestantes. Les premières applications thérapeutiques envisagées à l'échelle humaine, concernent le traitement du syndrome transfuseur-transfusé (STT) et les accrétions placentaires pour lesquelles un protocole d'essai clinique a été établi.

Matériels et méthodes : Un transducteur torique fonctionnant à 3 MHz et muni d'une cellule d'imagerie échographique intégrée fonctionnant à 7,5 MHz ont été utilisés. Des simulations numériques de séquences de traitement HIFU ont été menées à partir d'une étude préliminaire sur la caractérisation acoustique du tissu placentaire humain. Ces séquences ont été testées au cours d'une étude *ex-vivo* sur des placentas humains. Deux modèles *ex-vivo* ont été conçus. Dans un premier temps, un modèle de traitement extracorporel. Dans un second temps, des traitements HIFU ont été réalisés à des distances variables du transducteur, par modification de la taille du ballonnet, afin de simuler un traitement per-césarienne. Le transducteur était placé au contact de la face fœtale du placenta afin de simuler la séreuse utérine. A partir des résultats issus de ces essais *ex-vivo*, un protocole *in-vivo* sur des guenons gestantes a été mené afin de valider la faisabilité, l'efficacité et l'innocuité de la réalisation de lésions HIFU dans le placenta de guenons gestantes de manière totalement non-invasive. La qualité du monitoring échographique était évaluée au cours des trois études, et corrélée à l'analyse macroscopique. Une étude histologique a également été menée.

Résultats : L'atténuation placentaire a été mesurée à partir de 12 échantillons placentaires humains pour un âge gestationnel compris entre 17 et 40 semaines d'aménorrhées (SA). L'atténuation augmentait en fonction de l'âge gestationnel et était compris entre 0,072 et 0,098 Np.cm⁻¹.MHz⁻¹. Lors d'un premier essai *ex-vivo*, 33 échantillons placentaires humains ont été inclus et soumis à une séquence HIFU, le temps d'insonification était de 55 secondes, la puissance acoustique utilisée était de 90 Watts. Au total, vingt-cinq lésions élémentaires étaient produites pour un diamètre et une profondeur moyens respectifs de 7,1 ± 3,2 et de 8,0 ± 3,1 millimètres. Huit lésions HIFU ont également été produites à partir de la juxtaposition de 6 tirs, pour un diamètre et une profondeur moyenne respectifs de 23,0 ± 5,0 et 11,0 ± 4,7 millimètres. Aucune lésion située en amont de la lésion produite n'a été observée pour une épaisseur de paroi abdominale similaire à celle d'une guenon gestante (10,8 ± 1,7 millimètres). Dans un second temps, 8 placentas humains pour un âge gestationnel compris entre 39 et 40 SA, ont été soumis à une séquence de traitement HIFU sans interposition de paroi abdominale. Le temps d'exposition était de 75 secondes pour une puissance acoustique de 90 Watts. Les lésions placentaires ont été produites à 2 (n=4), 6 (n=4), 7 (n=4) et 8 (n=7) millimètres de la surface du placenta. Au total, 19 lésions placentaires ont été produites, pour un diamètre et une profondeur moyenne respectifs de 14,6 ± 2,1 et de 14,1 ± 2,3 millimètres. Au cours de l'étude *in-vivo*, 8 guenons ont été incluses pour un âge gestationnel moyen de 72 ± 4 jours. Les puissances acoustiques utilisées étaient de 65, 80, 110 et 120 Watts pour un temps de traitement de 30, 15, 20 et 20 secondes respectivement. Au total 6 lésions placentaires ont été produites à l'issue de 13 insonifications pour des diamètres moyens de 6,4 ± 0,5 mm, 7,8 ± 0,7 mm et une profondeur moyenne de 3,8 ± 1,5 mm. Aucune variation significative des constantes maternelles et fœtales n'a été observée. Toutes les lésions placentaires étaient observées sous la forme d'une image hyperéchogène circonscrite, et corrélées aux mesures macroscopiques. La qualité du monitoring échographique était

meilleure au cours de l'étude *in-vivo*. L'étude histologique démontrait la présence d'une lésion de nécrose de coagulation bien délimitée.

Conclusion : L'étude *ex-vivo* démontre que le transducteur HIFU de géométrie torique est capable de générer des lésions placentaires reproductibles, que ce soit avec le modèle de simulation clinique extracorporelle ou per-césarienne. L'étude *in-vivo* démontre qu'il est possible de produire des lésions placentaires par HIFU de manière complètement non-invasive, sans léser les tissus maternels et fœtaux. A partir des résultats préliminaires de l'étude *ex-vivo*, une étude à l'échelle clinique à court terme sera entreprise afin d'évaluer la faisabilité, l'efficacité et l'innocuité d'un traitement adjuvant par HIFU pour le traitement per-césarienne des placentas accretas. Le protocole a d'ores et déjà été rédigé. Les résultats issus de l'étude *in-vivo* sont encourageants mais doivent être complétés pour démontrer l'application des HIFU pour le traitement du STT. Une étude *in-vivo*, incluant un plus grand nombre de femmes gestantes sera entreprise, afin de consolider ces résultats préliminaires et d'évaluer la faisabilité d'une bipartition placentaire, par juxtaposition des lésions élémentaires.

Mots clés : sonde torique, modèle *ex-vivo*, reproductibilité, modèle *in-vivo*, innocuité, lésion placentaire, syndrome transfuseur-transfusé, placenta accreta

LabTau, Laboratoire d'Applications Thérapeutiques des Ultrasons, Unité Inserm 1032
151 cours Albert Thomas
69424 Lyon Cedex 03, France

Therapeutic applications of high- intensity focused ultrasound to the placental unit

Abstract

Objectives: To develop a High-intensity Focused Ultrasound (HIFU) treatment for placental abnormalities. Trials were first conducted using an *ex-vivo* model. Then the safety, feasibility and efficacy were demonstrated using a pregnant monkey model. The first therapeutic applications for human concern the treatment of the twin-to-twin transfusion syndrome (TTTS) and placenta accreta, for which, a clinical trial has already been established.

Materials and Methods: A toroidal HIFU transducer, with an integrated ultrasound imaging probe was used. Numerical simulations have allowed identifying HIFU treatment parameters based on a preliminary experiment measuring the acoustic attenuation of human placentae. These HIFU parameters were tested during an *ex-vivo* study on human placentae. Two models were used. First, an extracorporis model of treatment was developed. Second, a percesarean model was developed. HIFU lesions were performed at different distances from the transducer, by adjusting the quantity of water between the transducer and tissues. The transducer was placed in contact with the fetal side of the placenta in order to simulate the uterine serosa. Using the results of these studies, an *in-vivo* study was conducted in a pregnant monkey model. The aim was to evaluate the feasibility, the efficacy and the harmlessness of the HIFU treatment applied to the placenta non-invasively. The ultrasound monitoring was assessed during these three studies, and was correlated to the macroscopic examination. A histological study was also performed.

Results: The placental attenuation was measured using 12 placental samples for a gestational age from 17 to 40 weeks of gestation (WG). The attenuation coefficient increased according to the gestational age, and was ranged from 0,072 to 0,098 Np.cm-1.MHz-1. During the first experimental ex-vivo study, 33 human placental samples were included and treated with HIFU. The treatment parameters were an exposure time of 55 seconds and an acoustic power of 90 Watts. Twenty-five HIFU singles lesions were created with an average diameter and depth of 7.1 ± 3.2 and 8.0 ± 3.1 millimeters, respectively. Eight HIFU lesions were also created by juxtaposing 6 single HIFU lesions. The average diameter and depth of these juxtaposed lesions were 23.0 ± 5.0 and 11.0 ± 4.7 millimeters, respectively. No secondary lesion was observed in overlying abdominal tissues. The thickness of these intervening tissues was similar to a pregnant monkey (10.8 ± 1.7 millimeters). In a second set of experiments, 8 human placentae for a gestational age ranging between 39 and 40 weeks were treated without intervening tissues. The time of exposure was 75 seconds and the acoustic power was 90 Watts. The placental lesions were created at 2 (n=4), 6 (n=4), 7 (n=4) and 8 (n=7) millimeters from the surface of the placenta. In total, 19 placental lesions were created with an average diameter and depth of 14.6 ± 2.1 and 14.1 ± 2.3 millimeters, respectively. Eight pregnant monkeys were included in the in-vivo experiments. The average gestational age was 72 ± 4 days. The placenta was treated non-invasively with acoustic powers of 65, 80, 110 and 120 Watts for a time of exposure of 30, 15, 20 and 20 seconds, respectively. In total, 6 placental lesions were created from 13 insonifications. The average diameters and depths of these lesions were 7.8 ± 0.7 and 3.8 ± 1.5 mm, respectively. No significant variation in maternal or fetal parameters was observed. All placental lesions appear hyperechoic in sonograms and well correlated with the macroscopic measurements. The ultrasound monitoring was better in-vivo when compared with ex-vivo results. The histological examination demonstrated a well delimited lesion of coagulation in all cases

Conclusions: The ex-vivo studies demonstrated that the toroidal HIFU transducer can create reproducible placental lesions under extracorporis or per-cesarean conditions. The in-vivo study demonstrated that it is possible to create placental lesions non-invasively using the same HIFU device, without damages to maternal and fetal tissues. Using these preliminary results a first in man clinical trial will be undertaken at short term in order to assess the feasibility, the efficacy and the harmlessness of an adjuvant HIFU treatment of placenta accreta during cesarean. The protocol has been written. The results from the in-vivo study are encouraging for treating TTTS. However it is needed to confirm the feasibility to create dichorionization and to observe maternal and fetal outcomes over a longer period.

Key words: *toroidal transducer, ex-vivo model, reproducibility, in-vivo model, harmlessness, placental lesion, twin-to-twin transfusion syndrome, placenta accreta*

Remerciements

Nous remercions les membres du Jury, qui ont jugé notre travail :

Au Professeur René-Charles Rudigoz,

Nous vous remercions d'avoir œuvré à notre formation clinique tout au long de ces années. Tel un vrai « patron », avec bienveillance et justesse, vous nous avez montré le chemin et enseigné le goût du travail bien fait. Nous garderons en nous votre bon sens clinique, tout au long de notre parcours professionnel. Soyez assurés de notre profond respect et de notre sincère gratitude.

Au Professeur Frédérique Patat,

Nous vous remercions d'avoir accepté de juger ce travail. Votre parcours de polytechnicien et de clinicien suscite le respect ; puisse ce travail être à la hauteur du niveau qui est le vôtre. Nous nous réjouissons de notre future collaboration au cours du projet clinique des placentas accretas et sommes assurés que cette dernière sera très enrichissante. Soyez assuré de notre sincère gratitude.

Au Docteur Bruno Quesson,

Nous vous remercions d'avoir accepté de juger ce travail. Vos travaux témoignent de l'importance du lien entre les chercheurs et les médecins, puisse ce travail vous rappeler ce lien. Soyez assuré de notre sincère gratitude.

Aux Docteurs Frédérique Frouin et Sabine Roman,

Nous vous remercions d'avoir accepté de juger ce travail. Les thèmes abordés seront peut-être éloignés de vos thématiques habituels mais nous en sommes convaincus, les discussions n'en seront que plus riche. Nous avons apprécié votre disponibilité pour la soutenance. Soyez assuré de notre sincère gratitude.

Au Professeur Celine Chauleur,

Vous avez accepté de juger ce travail. Nous en sommes reconnaissants. Puisse ce travail aboutir à la collaboration de nos maternités respectives sur ce thème, voire sur d'autres...Soyez assuré de notre sincère gratitude.

Au Professeur Cyril Huissoud,

Vous avez attiré en moi cette curiosité pour le diagnostic anténatal. Votre intelligence suscite l'admiration de vos élèves. Parfois insaisissable, il n'est pas toujours aisé de capter votre attention ni même de vous suivre...L'incertitude n'a que peu de place, vous avez le sens affûté du détail, et même brillant. Vous apparaissez dans notre esprit comme l'alter égo du Docteur David Melodelima, en version médicale. Vous m'avez accompagné avec bienveillance et parfois tolérance, contrôler un électron n'est pas aisé...Infiniment merci, cher Maître.

Au Docteur David Melodelima,

Vous avez dirigé ce travail tout au long de ces années avec enthousiasme et humanisme. Nous retiendrons votre sens de la rigueur, du travail bien fait. Nous garderons également en mémoire avec beaucoup de plaisirs ces conversations, ces expériences... Que ce soit sur l'expérimentation, la rédaction des articles, ou du projet de recherche, vous avez toujours répondu présent. Un réel compagnonnage sur le versant « scientifique » ! Soyez assuré de mon profond respect et de ma sincère gratitude, cher Maître.

Au Docteur Jean-Yves Chapelon, de nous avoir accueilli au sein de son unité de recherche. Toutes ces années passées à titre personnel ont été très enrichissantes, à la fois sur le plan scientifique et humain.

A toutes celles et ceux qui ont contribué à ce travail, nos pensées vont aux membres des laboratoires INSERM 1032 et 846. Vous animez et même sublimes la recherche. Ce travail n'aurait pu aboutir sans vous. Nous en sommes infiniment reconnaissants.

A toutes celles et ceux qui ont contribué à notre formation clinique, avec une pensée particulière et affectueuse pour les docteurs Fanny Roumieu, Hélène Misme, Axel Fichez, Olivier Tariel, Pierre de Saint Hilaire.

Aux co-chefs et internes qui nous ont accompagnés tout au long de notre parcours, a Elise, Catherine, Bilitis, Amélie, et bien d'autres encore... Que de bons souvenirs.

A mes amis d'ici et d'ailleurs, Dominique, Loïc, Romain, Lockman, Carine, Gregory, Isabelle, Nicolas et sa petite famille, Aude et Arnaud, Lucie. Ces moments sont rares mais si précieux. A Simon dont l'absence pèse et ce malgré les années...

A mes parents qui ont fait de moi ce que je suis, je vous dois tout.

A mes grands-parents, pour votre soutien et votre amour,

A mes sœurs, je vous porte dans mon cœur tel un grand frère éloigné.

A mes beaux-parents, pour leur soutien...

A mes oncles et tantes, avec une pensée particulière pour Bernadette Hennache, qui a incarné toutes ces années l'universitaire humble et humaine, avec un gout exalté pour la pédagogie.

A mes beaux-frères et belles-sœurs, a Océane et Philippe et leurs deux petites merveilles, Soline et Isaure, Nous gardons en mémoire ce triste jour où tu es parti Philippe, tu vis au travers de tes filles et de nos pensées, a Vianney.

A Bertille, pour ton soutien indéfectible de tous les jours... Aux jours heureux et difficiles passés et à venir, parce que nous sommes forts, à ces rares mais précieux moments, à cet amour que je te porte sincèrement et profondément, je n'ai jamais douté en nous... Je t'aime passionnément...

A nos enfants, Clarence, Malo, Basile, vous remplissez notre vie de bonheur, puissiez-vous être fier de votre père comme je le suis pour vous. Avec tout l'amour qu'un père puisse nourrir pour ses enfants.

A Albane, Apolline et Arthus...

*Si tu aimes les soirs de pluie
Mon enfant, mon enfant
Les ruelles de l'Italie
Et les pas des passants
L'éternelle litanie
Des feuilles mortes dans le vent
Qui poussent un dernier cri
Crie, mon enfant*

*Si tu aimes les éclaircies
Mon enfant, mon enfant
Prendre un bain de minuit
Dans le grand océan
Si tu aimes la mauvaise vie
Ton reflet dans l'étang
Si tu veux tes amis
Près de toi, tout le temps*

*Si tu pries quand la nuit tombe
Mon enfant, mon enfant
Si tu ne fleuris pas les tombes
Mais chéris les absents
Si tu as peur de la bombe
Et du ciel trop grand
Si tu parles à ton ombre
De temps en temps*

*Si tu aimes la marée basse
Mon enfant, mon enfant
Le soleil sur la terrasse
Et la lune sous le vent
Si l'on perd souvent ta trace
Dès qu'arrive le printemps
Si la vie te dépasse
Passe, mon enfant*

*Ça n'est pas ta faute
C'est ton héritage
Et ce sera pire encore
Quand tu auras mon âge
Ça n'est pas ta faute
C'est ta chair, ton sang
Il va falloir faire avec
Ou, plutôt sans*

*Si tu oublies les prénoms
Les adresses et les âges
Mais presque jamais le son
D'une voix, un visage
Si tu aimes ce qui est bon
Si tu vois des mirages
Si tu préfères Paris
Quand vient l'orage*

*Si tu aimes les goûts amers
Et les hivers tout blancs
Si tu aimes les derniers verres
Et les mystères troublants
Si tu aimes sentir la terre
Et jaillir le volcan
Si tu as peur du vide
Vide, mon enfant*

*Si tu aimes partir avant
Mon enfant, mon enfant
Avant que l'autre s'éveille
Avant qu'il te laisse en plan
Si tu as peur du sommeil
Et que passe le temps
Si tu aimes l'automne vermeil
Merveille, rouge sang*

*Si tu as peur de la foule
Mais supportes les gens
Si tes idéaux s'écroulent
Le soir de tes vingt ans
Et si tout se déroule
Jamais comme dans tes plans
Si tu n'es qu'une pierre qui roule
Roule, mon enfant*

Mon enfant

*Benjamin Biolay,
Ton héritage*

Table des Matières

I - Etat de l'Art

1. Contexte médical	p 15
1.1 Le syndrome transfuseur-transfusé	p 15
<u>1.1 Introduction</u>	p 15
<u>1.2 Critères diagnostiques</u>	p 17
<u>1.3 Prise en charge thérapeutique</u>	p 20
<u>1.4 Discussion</u>	p 22
<u>1.5 Conclusion</u>	p 25
1.2. Les accrétions placentaires : le fardeau obstétrical du XXIème siècle	p 26
<u>1.1 Introduction</u>	p 26
<u>1.2 Aspects épidémiologiques : une incidence en nette augmentation</u>	p 27
<u>1.3 Aspects diagnostiques</u>	p 28
<u>1.4 Prise en charge médicale pour l'accouchement</u>	p 30
<u>1.4.1 Prise en charge non conservatrice</u>	p 31
<u>1.4.2 Prise en charge conservatrice</u>	p 32
<u>1.5 Les traitements adjuvants</u>	p 35
<u>1.6 Discussion</u>	p 35
2. Ultrasons Focalisés de Haute intensité	p 36
<u>2.1 Introduction</u>	p 36
<u>2.2 Transducteurs à visé thérapeutique</u>	p 37
<u>2.3 Interaction des ultrasons avec les tissus biologiques</u>	p 39
<u>2.3.1 Atténuation tissulaire, effets thermiques et seuil de destruction tissulaire</u>	p 39
<u>2.3.1 Effets de cavitation et effets mécaniques</u>	p 41
<u>2.4 Aspect histologique des lésions induites</u>	p 42

<u>2.4.1 Microscopique</u>	p 42
<u>2.4.2 Macroscopique</u>	p 43
<u>2.5 Monitoring échographiques des lésions induites par HIFU</u>	p 44
<u>2.6 La sonde de traitement torique M-Focus 2</u>	p 46
3. Applications thérapeutiques des HIFU en médecine fœtale	p 50
4. Applications thérapeutiques des HIFU pour le placenta accreta	p 51
5. Justificatif de l'étude : place des HIFU pour la pathologie placentaire ?	p 52
<u>5.1 Apport des HIFU pour la prise en charge thérapeutique du STT</u>	p 52
<u>5.2 Apport des HIFU pour la prise en charge thérapeutique du placenta accreta</u>	p 53

II - Articles publiés

1. High-intensity focused ultrasound applied to the placenta using a toroidal transducer: a preliminary ex-vivo study, *accepté dans l'Ultrasound in Obstetrics and Gynecology*

<u>Title</u>	p 54
<u>Abstract</u>	p 55
<u>Introduction</u>	p 55
<u>Methods</u>	p 56
<u>Results</u>	p 58
<u>Discussion</u>	p 59
<u>References</u>	p 61

2. Non-invasive high-intensity focused ultrasound treatment of the placental unit: a preliminary in-vivo study using a monkey model of pregnancy, *accepté dans l'Ultrasound in Obstetrics and Gynecology*

<u>Title</u>	p 62
<u>Abstract</u>	p 63
<u>Introduction</u>	p 63
<u>Subjects and Methods</u>	p 64

<i>Results</i>	p 66
<i>Discussion</i>	p 66
<i>References</i>	p 69
3. High-intensity focused ultrasound as an adjuvant treatment for placenta accreta: a preliminary ex-vivo study, <i>accepté dans l'Ultrasound in Medicine and Biology</i>	
<i>Title, abstract</i>	p 70
<i>Introduction</i>	p 71
<i>Materials and Methods</i>	p 72
<i>Results</i>	p 73
<i>Discussion</i>	p 75
<i>References</i>	p 81
<i>Figures</i>	p 86
III-Conclusion et perspectives	p 91
IV-Références	p 103

I - Etat de l'Art

1. Contexte médical

1.1 Le syndrome transfuseur-transfusé

1.1 Introduction

Le syndrome transfuseur-transfusé (STT) est une complication spécifique des grossesses gémellaires monochoriales biamniotiques, dont la prévalence est évaluée selon les auteurs entre 10 et 20 % (1,2). Les premières études permettant d'étayer l'étiologie de ce syndrome sont relativement récentes. La physiopathologie du STT est complexe, et la compréhension du mécanisme originel découle des premières constatations anatomopathologiques centrées sur l'angioarchitecture placentaire (3-5). Ces auteurs ont comparé le système vasculaire placentaire par l'utilisation de colorants injectés directement dans les cordons ombilicaux. Ces études ont démontré que l'étiologie du STT reposait à la fois, sur la présence d'anastomoses artério-veineuses (AAV) et d'un faible nombre d'anastomoses artério-artérielles (AAA). Les anastomoses vasculaires correspondent à une communication entre deux vaisseaux. Elles sont quasi constantes dans les grossesses gémellaires (6). Selon leur nature, trois formes différentes peuvent être distinguées: les anastomoses veino-veineuses (AVV), artério-artérielles (AAA), et artério-veineuses (AAV). Les AVV ou AAA sont localisées en superficie du placenta. Par définition, les vaisseaux communicants sont de même nature. Elles n'ont aucun impact sur l'hémodynamique cardio-circulatoire des deux jumeaux, mais elles assurent un rôle de soupape en cas de perturbations de l'hémodynamique inter-fœtale. L'étude anatomopathologique de la vascularisation placentaire dans le cadre du STT est caractérisée par une diminution significative du nombre d'AAA. D'un point de vue physiologique, elles sont reconnues comme protectrices car elles autorisent une redistribution du débit sanguin de manière équitable entre les deux jumeaux. Par opposition, les AAV sont profondes et responsables d'une direction unidirectionnelle du

flux sanguin (Figure 1). La présence d'AAV se traduit sur le plan physiologique par un déséquilibre hémodynamique entre les deux fœtus. L'un des jumeaux est dit donneur tandis que l'autre jumeau est dit receveur (Figure 2). Le jumeau receveur est polyglobulique et hypervolémique, alors que le jumeau donneur est anémique et hypovolémique.

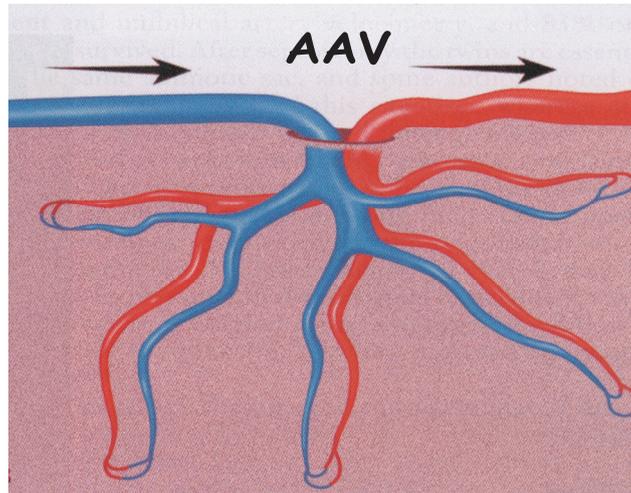


Figure 1 : Représentation schématique des communications vasculaires issues d'une anastomose artérioveineuse. Les communications sont réalisées en profondeur par opposition aux anastomoses artério-artérielles ou veino-veineuses.

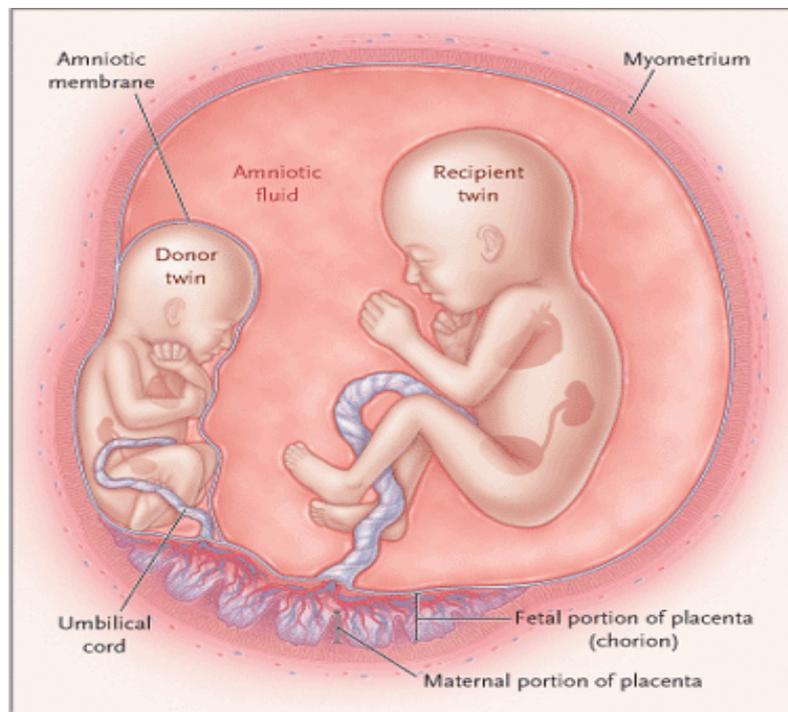


Figure 2 : Illustration du STT. L'un des jumeaux est dit « receveur » tandis que l'autre jumeau est dit donneur.

Les perturbations hémodynamiques aboutissent à une altération des fonctions neuroendocriniennes, responsable d'un cercle vicieux (7-9). Ainsi, la sécrétion d'érythropoïétine et l'activation du système rénine-angiotensine chez le donneur sont responsables d'une vasoconstriction. La sécrétion du facteur natriurétique est responsable d'une augmentation de la diurèse fœtale chez le jumeau donneur.

Les complications fœtales qui découlent de ce syndrome sont nombreuses, et potentiellement létales, telles que la rupture prématurée des membranes, l'accouchement prématuré, la chorioamniotite, l'insuffisance cardiaque du receveur, l'anémie et l'hypoxie du donneur, la mort fœtale d'un ou des deux jumeaux. Ainsi, la mortalité anténatale est estimée entre 70 et 100% en l'absence de prise en charge thérapeutique, et la morbidité neurologique parmi les survivants est évaluée entre 30 et 50 % des cas (10,11). En ce sens, le STT représente une urgence diagnostic et thérapeutique.

1.2 Critères diagnostiques

Le diagnostic et la sévérité du STT reposent sur des critères échographiques. L'identification des AAV et AAA est possible en mode B, Doppler et spectral. L'analyse Doppler et spectrale objective, lorsque la fenêtre d'échantillonnage est placée en regard d'une AAV, un flux unidirectionnel. Les études centrées sur la localisation des AAV par échographie sont peu nombreuses, essentiellement faites de cas (12,13). A partir de 18 grossesses gémellaires monochoriales biamniotiques, Sau *et al.* ont démontré que les AAV étaient identifiées en échographique dans 24 % des cas, et l'identification des AAV était réalisée seulement en présence d'un placenta antérieur (13). Le faible nombre d'AAV, leurs complexités, la paroi maternelle et la localisation postérieure du placenta constituent les principaux facteurs limitant du diagnostic échographique.

Plus généralement, le diagnostic est porté sur la visualisation directe des conséquences hémodynamiques. Celui-ci est porté sur la visualisation d'une discordance de liquide amniotique entre les deux jumeaux (figure 3 et 4). Ce critère est nécessaire et suffisant lorsqu'il est observé dans le cadre d'une grossesse gémellaire monochoriale biamniotique. L'hydramnios *i.e* - excès de liquide amniotique, est établi lorsque la plus grande citerne est supérieure à 8 cm avant 20 semaines d'aménorrhée (SA) et supérieure à 10 au-delà de 20 SA. L'oligoamnios *i.e* - quantité de liquide amniotique faible, est quant à lui établi lorsque la plus grande citerne du co-jumeau est inférieure à 2 cm et ce quel que soit le terme de la grossesse. Cette discordance de liquide peut être associée à une discordance de taille des vessies, augmentée de volume chez le receveur, ou de petite taille chez le donneur.



Figure 3 : Signe échographique du STT chez une patiente de 17 SA + 2 jours. L'un des jumeaux présente un oligoamnios (fœtus situé le plus haut sur l'image). Il s'agit du donneur. L'oligoamnios donne un aspect de fœtus plaqué contre la membrane interamniotique (flèche). La vessie n'est pas visualisée. Par opposition, le jumeau dit receveur est en hydramnios (étoile).

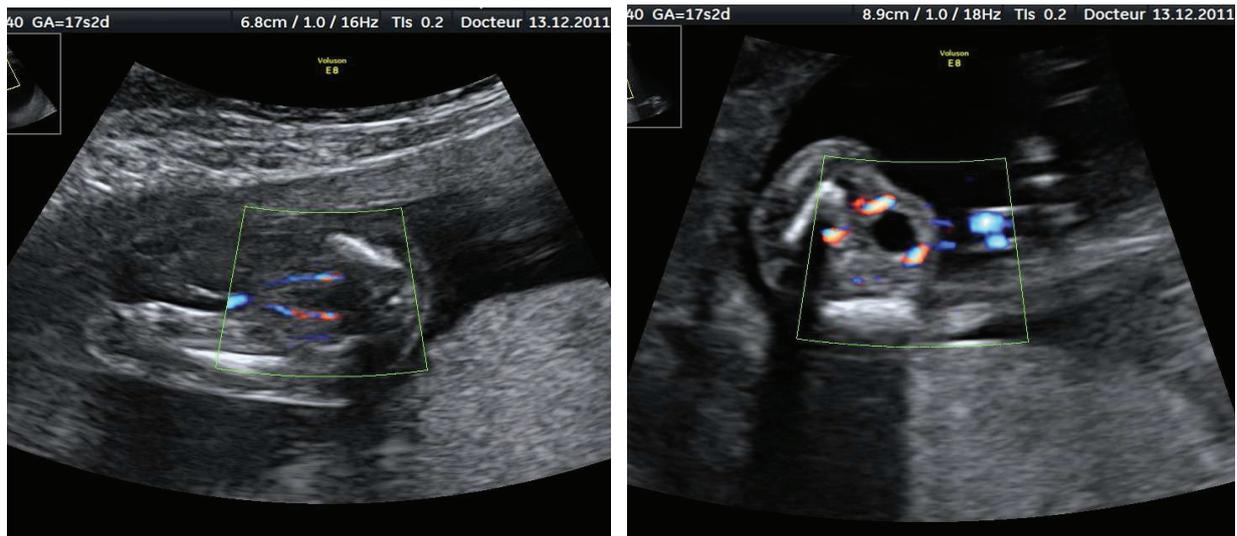


Figure 4 : Discordance de vessie entre deux jumeaux au cours du STT. La vessie est visualisée sous la forme d'une image arrondie anéchogène, entourée de part et d'autre par deux artères ombilicales (Doppler Couleur). La vessie du donneur est à peine visible (cliché de gauche) tandis que la vessie du receveur est clairement identifiée.

La discordance de liquide amniotique et de vessie traduit le déséquilibre hémodynamique entre les deux jumeaux. Chez le jumeau receveur, l'hypervolémie entraîne une augmentation de la diurèse fœtale responsable d'un hydramnios. Par opposition, l'hypovolémie chez le donneur induit une diminution de la diurèse fœtale, responsable d'un oligoamnios. Le terme du diagnostic habituellement décrit se situe entre 16 et 26 SA.

La classification, proposée par Quintero *et al.*, et désormais largement employée par la communauté médicale, évalue la sévérité du STT (14). De manière chronologique, 5 stades sont à distinguer :

- stade I : séquence oligoamnios (flèche de liquide amniotique inférieur à 2 chez le donneur)/ hydramnios (flèche de liquide amniotique supérieur à 8 chez le donneur)
- stade II : absence de vessie chez le donneur
- stade III : anomalies Doppler
- stade IV : anasarque fœtale
- stade V : mort fœtale d'un ou des deux jumeaux

Quintero *et al.* ont démontré que la présence d'une anomalie Doppler de l'artère cérébrale moyenne, de l'artère ombilicale, et/ou du ductus veinosis chez l'un des jumeaux était un facteur pronostic péjoratif du devenir foétale (14).

1.3 Prise en charge thérapeutique

La thérapie foétale est en plein essor et le traitement du STT constitue l'un des tous premiers exemples de cette avancée thérapeutique (15,16). Après anesthésie locale, péridurale ou générale, un trocart est introduit sous contrôle échographique dans la cavité amniotique du receveur. La coagulation est réalisée par une fibre laser sous contrôle d'un fœtoscope rigide ou souple (Figure 5). La procédure est complétée en fin d'intervention par un amniodrainage de la poche du receveur.

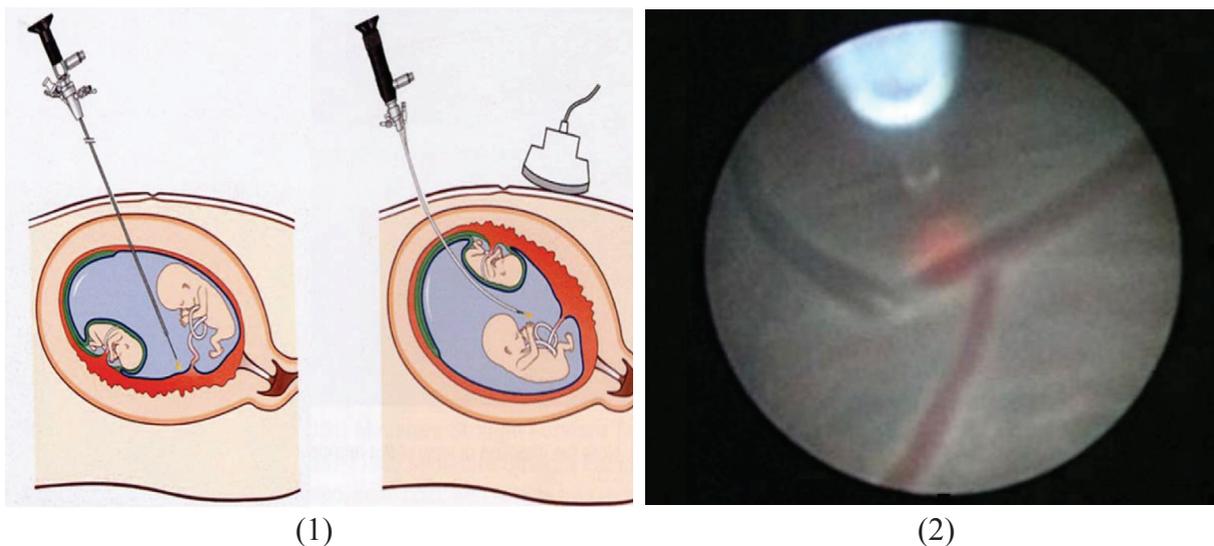


Figure 5 : Illustration de la technique de photocoagulation laser par fœtoscopie (1), vue fœtoscopique d'une AAV (2) (Y. Ville *et al.* 1998) (29).

Plusieurs procédures ont été décrites. Initialement, la coagulation des anastomoses étaient non sélective, tous les vaisseaux visibles le long de la membrane interamniotique étaient coagulés (17). Cette technique a été abandonnée en raison de la privation des apports que ce soit pour le donneur ou le receveur. Désormais, la coagulation est dite sélective, les anastomoses sont ciblées puis coagulées le long de la ligne équatoriale placentaire (18). Plus

récemment, Quintero *et al.* ont proposé une coagulation sélective séquentielle consistant à coaguler par ordre successif les AAV puis les anastomoses veino-artérielles (AVA) puis les anastomoses superficielles (19). Cette technique permettrait d'améliorer le pronostic du donneur, mais les résultats restent à ce jour controversés. Plus récemment, la technique de bipartisation ou de dichorionisation, dite technique de « Solomon » a été proposée. Elle consiste à coaguler les anastomoses et de les relier entre eux via une ligne de coagulation le long de la plaque chorale (20-22) (Figure 6). Cette technique permettrait de réduire les risques de récurrence du STT et la survenue du syndrome anémie-polycythémie (TAPS).

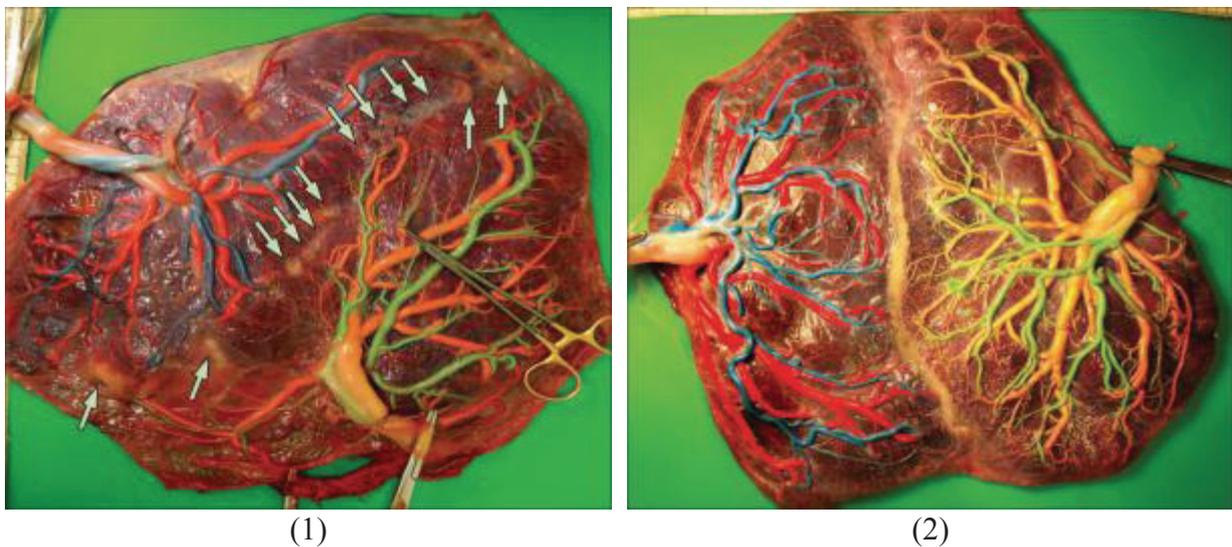


Figure 6 : Coagulation placentaire selon la technique dite sélective (1) et selon la technique de « Solomon » (2), après injection de colorants dans les cordons ombilicaux, d'après Slaghekke *et al.*(22)

La durée médiane du geste varie selon les auteurs entre 26 et 115 minutes (23-25). Les saignements intra-amniotiques, reportés selon Yamamoto *et al.* dans 8% des cas rendent le geste opératoire difficile (24). Sa survenue est cependant imprévisible. En regard de l'amniodrainage, technique thérapeutique initialement proposée, la fœtoscopie avec photocoagulation laser permet une augmentation du taux de survie. Le tableau 1 expose les résultats des taux de survie dans les suites d'une fœtoscopie avec photocoagulation.

Etude	Taux de survie global (%)	Taux de survie d'un jumeau (%)	Taux de survie de deux jumeaux (%)
Wiengertner et al. 2011 (25) (N = 100)	68,5	52	33
Quintero et al. 1998 (26) (N = 71)	83,1	43,7	39,4
Yamamoto et al. 2005 (24) (N = 174)	71	38	35
Cincotta et al. 2009 (27) (N = 100)	86	19	66
Hecher et al. 2000 (28) (N = 200)	81	30	50
Ville et al. 1998 (29) (N = 138)	73	36	38
Robyr et al. 2006 (30) (N = 151)	82	39	44

Le taux de survie global correspond au nombre total d'enfants vivants par rapport au nombre total de fœtus. Le taux de survie d'un jumeau correspond à la naissance d'un enfant vivant parmi les deux jumeaux. Le taux de survie des deux jumeaux correspond au nombre de jumeaux vivants (25-30).

Tableau 1: Résultats de la photocoagulation laser du taux de survie global, de l'un ou des deux jumeaux.

1.3 Discussion

Le traitement du STT repose la photocoagulation in utero des AAV. L'évaluation bénéfiques/risques reste cependant controversée selon les stades. Par opposition des résultats de Quintero *et al.* (2003), puis de Senat *et al.* (2004), l'étude de Crombleholme *et al.* (2007) démontre l'absence de différence significative du taux de survie quel que soit la technique utilisée (31-33). Ils suggèrent cependant un intérêt probable de la photocoagulation laser lorsque le receveur présente une cardiomyopathie (33). 70% des stades I se stabiliseraient ou

régresseraient selon O'Donoghue *et al.*, ce qui réduirait l'intérêt de la photocoagulation pour des stades précoces (34). Plus récemment, une étude américaine multicentrique a étudié le devenir des stades I en fonction de la prise en charge. Dans le groupe expectative, les stades I se stabilisaient ou régresaient dans 30% des cas. En revanche, 60 % d'entre eux évoluaient vers des stades plus avancés (35). Dans le groupe traité par fœtoscopie ou par amniodrainage, la perte fœtale était cependant significativement plus faible comparativement au groupe expectative. En raison des disparités et de l'absence d'études randomisées de grande ampleur, il n'existe pas à l'heure actuelle, de consensus international sur les indications de la photocoagulation laser in utero.

La RPM, la fausse couche, la chorioamniotite, l'induction d'une grossesse amniotique, la séquence anémie-polycythémie sont les principales complications observées au décours de la fœtoscopie. La RPM est la complication la plus fréquemment reportée, elle peut survenir dans les suites immédiates ou à distance, et la relation entre la RPM et l'effraction de la cavité amniotique est clairement établie. L'incidence de la RPM a été reportée selon les auteurs entre 12 à 28 % des cas (23-25, 30, 36). Le tableau 2 expose l'incidence de la RPM dans les suites de la photocoagulation laser par fœtoscopie. La probabilité d'accouchement avant 28 SA est reportée entre 30 et 40% (30). La prématurité est source d'une morbidité et d'une mortalité néonatale (détresse respiratoire, insuffisance respiratoire chronique, lésions neurologiques, entérocolite). Une étude prospective récente a étudié le devenir de 145 nouveaux nés dans les suites d'une photocoagulation laser par fœtoscopie (27). En regard d'un taux de survie global de 75,5 %, le taux de mortalité néonatale était de 11%. Selon cette même étude, la survenue d'une détresse respiratoire, d'une leucomalacie péri-ventriculaire, et d'une insuffisance respiratoire chronique étaient respectivement de 62,3 %, 8,4%, et de 5,4 %. Cette observation souligne la présence de complications néonatales non négligeables, et ce malgré la naissance d'un ou de deux jumeaux vivants.

Etudes	RPM*	Terme moyen de l'accouchent ^a
Habli et al (23)(1999)	39 (26)	30,1
Yamamoto et al (24) (2005)	49 (28)	33,3
Weingertner et al.(25) (2011)	17 (17)	32,6
Cruz-Martinez et al. (36) (2004)	87 (21)	32,7
Robyr et al. (30) (2006)	25 (17)	31

N (%) : nombre de cas, pourcentage, RPM : taux de rupture prématurée des membranes, ^a : terme exprimé en semaines d'aménorrhée (23-25, 30, 36).*

Tableau 2 : Taux de rupture prématurée reportée dans les suites d'une fœtoscopie selon la littérature.

Un geste incomplet ou une reperméabilisation des anastomoses seraient responsables d'une récurrence pour une prévalence estimée entre 2 et 14 % des cas (23,30,37). L'analyse anatomo-pathologique des placentas dans les suites d'une fœtoscopie montre la présence d'anastomoses résiduelles dans 32 % des cas (37). En raison des récurrences, un second geste est parfois nécessaire et induit un sur-risque de survenue des complications.

Le STT peut se compliquer d'une forme chronique, appelée le syndrome anémie-polycythémie (Twin anémia-polycythemia syndrome ou TAPS), qui survient spontanément ou plus majoritairement dans les suites d'une chirurgie laser. La prévalence de cette séquence dans les suites d'une photocoagulation laser est décrite selon les auteurs entre 11 et 13% (30, 37, 38), tandis que sa survenue spontanée est estimée entre 5 et 6 % (30, 37-40). Les analyses anatomopathologiques placentaires ont mis en évidence la présence d'AAV de petites tailles, associée à une diminution des AAA (40-42). Ces AAV sont superficielles et localisées en regard de l'équateur vasculaire. Leur mode de survenue reste encore indéterminée. Une nouvelle technique dite de « Solomon » consiste à réaliser une bipartition placentaire,

l'objectif étant d'obtenir deux entités placentaires distinctes, convertissant ainsi une grossesse gémellaire monochoriale en bichoriale (20,21). La technique repose sur une coagulation placentaire superficielle le long d'une ligne équatoriale vasculaire virtuelle. Cette stratégie permettrait de coaguler les AAV, de réduire le nombre d'anastomoses résiduelles tout en raccourcissant la durée opératoire. Ruano *et al.* ont analysé le devenir en fonction de la technique de coagulation, à partir de 102 fœtoscopie pour STT (20). Le groupe traité par la technique de « Solomon » présentait un taux de survie à la naissance et en période néonatale plus élevé en comparaison du groupe traité par coagulation sélective. Aucun cas de récurrence de STT ou de TAPS n'était apparu dans ce groupe. Plus récemment, à partir d'une étude prospective, randomisée et multicentrique de plus grande ampleur, Slaghekke *et al.* ont inclus 274 patientes. 139 patientes ont bénéficié de la technique de coagulation dite de « Solomon » et 135 patientes ont bénéficié de la technique de coagulation dite sélective. La récurrence du STT et la survenue de la séquence TAPS étaient significativement plus faibles dans le groupe « Solomon » comparativement au groupe coagulation sélective, respectivement de 1 vs 7 % (OR 0.21 , IC95 % [0.04-.098] et de 3 vs 16%, OR 0.16 ; IC 95 % [0.05-0.49]) (22).

1.4 Conclusion

Le statut du fœtus s'est modifié au cours des trente dernières années. Il ne s'agit plus d'un simple objet d'étude mais bien d'un véritable patient pour lequel la prise en charge thérapeutique occupe une place de plus en plus importante, et ce malgré les contraintes éthiques et techniques. Le traitement du STT est une des illustrations, mais d'autres applications de la chirurgie fœtale se sont développées telles que le traitement de la hernie de coupole, la myeloméningocèle (43,44). Cette modification de statut est l'aboutissement des progrès de la médecine, source d'une attente et d'une demande des parents. La photocoagulation laser par fœtoscopie s'est désormais imposée comme la technique de

référence du STT. Il n'existe pas à l'heure actuelle de recommandations internationales sur les modalités de prise en charge, telles que le terme optimal, la technique de coagulation. Le Collège National des Obstétriciens et Gynécologues Français (CNGOF) recommande une prise en charge thérapeutique en dessous de 26 SA (45). Nous avons vu au cours de ce chapitre que les bénéfices de la thérapie in utero étaient ternies par les complications fœtales, qu'elles soient induites par l'effraction de la cavité amniotique (RPM, accouchement prématuré, chorioamniotite, fausse couche tardive, septostomie) ou par la réalisation d'une coagulation vasculaire (TAPS). Ces complications sont responsables d'une morbidité et d'une mortalité néonatale non négligeable. L'absence de stratégie thérapeutique non invasive et le pronostic fœtale sombre du STT autorise cependant la pratique de ce geste invasif, et ce malgré les complications inhérentes, car c'est la seule technique qui permette la naissance d'au moins un enfant vivant dans 60 à 80 % des cas.

1.2. Les accrétions placentaires : le fardeau obstétrical du XXIème siècle

1.1 Introduction

Le placenta accreta est une invasion anormalement profonde du placenta au niveau du site d'implantation. Normalement, l'invasion placentaire est confinée à la muqueuse utérine ; en cas de placenta accreta, l'invasion placentaire atteint le muscle sous-jacent (myomètre) qu'elle peut même perforer. Le terme de placenta "percreta" fait référence à l'atteinte de la séreuse utérine voire des organes adjacents et notamment de la vessie. C'est le stade le plus préoccupant du placenta accreta. Le placenta accreta résulte d'une altération de la décidue, c'est-à-dire de la muqueuse utérine qui s'est modifiée en vue de l'implantation embryonnaire (45). La conjonction de deux facteurs principaux favorise la survenue des accrétions placentaires : les cicatrices utérines (antécédent de césariennes surtout) et le placenta prævia

c'est-à-dire un placenta qui est situé trop bas, sur le segment inférieur de l'utérus, zone habituelle de l'incision utérine lors des césariennes.

Le placenta accreta est souvent diagnostiqué au décours de l'accouchement après un échec de délivrance avec un placenta qui ne se décolle pas de l'utérus. Toute manœuvre destinée à retirer le placenta peut entraîner une hémorragie de la délivrance grave, une hystérectomie d'hémostase, voire le décès maternel. Ainsi, les anomalies de l'insertion placentaire sont responsables de 35 % à 38 % des hystérectomies du peripartum dans les études en population récentes (46,47). Les autres complications décrites sont les complications de l'hémorragie sévère d'une part comme la défaillance multiviscérale associée aux troubles de la coagulation, et, d'autre part, l'atteinte anatomique des organes adjacents envahis comme la vessie. Cela est particulièrement vrai pour le placenta percreta dont la morbidité per et post-opératoire est élevée et dont il a été rapporté qu'il était une cause de décès maternel dans 7 % des cas (48). Actuellement, les techniques d'imagerie et notamment l'échographie réalisée par une équipe entraînée, peut permettre un diagnostic anténatal du placenta accreta.

1.2 Aspects épidémiologiques : une incidence en nette augmentation

L'incidence du placenta accreta est en augmentation et a été multipliée par 10 en 50 ans. Cette augmentation paraît principalement liée à l'augmentation du taux de césarienne. Miller *et al.* rapportent à partir de données hospitalières Californiennes une incidence de 1 cas sur 2510 naissances entre 1985 et 1994 (49). D'autres travaux depuis ont rapporté des prévalences qui varient selon les taux de césarienne des pays concernés de 1/300 à 1/2000 (50-54). On peut estimer en France que le nombre de placentas accretas est de 400/an.

Les facteurs de risque majeurs de placenta accreta sont le placenta prævia associé aux antécédents de césarienne. Les autres facteurs de risques sont l'âge maternel supérieur à 35

ans, la multiparité, la fécondation in vitro, un antécédent de chirurgie utérine avec effraction de l'endomètre et un curetage. Miller *et al.* ont montré qu'un placenta accreta survenait dans 55 cas sur 590 (9,3%) chez des femmes présentant un placenta prævia comparé à 7 sur 155 080 femmes (0,00004%), en l'absence de placenta prævia (RR 2065 ; IC95% [944 - 4516]) (49). De plus, en cas de placenta prævia implanté au niveau d'une cicatrice de césarienne, un diagnostic de placenta accreta était porté chez 36 femmes sur 124 (29%) contre 4 cas sur 62 (6,5%) en l'absence d'utérus cicatriciel (RR 4,5 ; IC95% [1,7-12,1]). Parmi les femmes qui avaient un placenta prævia, un âge maternel de plus de 35 ans et un antécédent de césarienne étaient également des facteurs de risque indépendants de placenta accreta. Finalement en cas de placenta prævia, le risque de placenta accreta allait de moins de 2% si l'âge était inférieur à 35 ans et qu'il n'y avait pas d'antécédent de césarienne à 39 % chez les femmes qui avaient deux césariennes ou plus. Ces facteurs de risque ont également été identifiés dans l'étude en population réalisée au Royaume Uni : l'âge (OR 3,5 ; [IC95% 1,5-8]), l'utérus cicatriciel (OR 14 ; IC95% [5,3-37]), l'antécédent de chirurgie utérine (OR 3,4 ; IC95% [1,3-8,9]), la fécondation in vitro (ORa 32 ; IC95% [2,0- 509]) et enfin le placenta prævia diagnostiqué avant l'accouchement (ORa 32,1 ; IC95% [2,0-509]) augmentaient le risque de placenta accreta en comparaison à des femmes sans aucun de ces facteurs de risque (55).

1.3 Aspects diagnostiques

Le placenta accreta pose en pratique clinique deux difficultés principales portant sur leur diagnostic (dépistage anténatal), et la prise en charge maternelle qui doit réduire au maximum les risques et les complications. Le dépistage prénatal du placenta accreta est crucial car il permet d'organiser une prise en charge optimale et multidisciplinaire reposant sur la programmation de l'intervention comprenant la présence des obstétriciens, des anesthésistes et des radiologues habitués à la radiologie interventionnelle. D'autre part, en cas

de placenta percreta, l'atteinte d'organes de voisinage peut nécessiter la participation d'urologues ou de chirurgiens viscéraux. La prise en charge périnatale se fait souvent avant terme, ce qui nécessite dans ce cas l'implication de l'équipe pédiatrique.

Filtzpatrick *et al.* ont évalué l'intérêt du diagnostic prénatal dans une étude nationale en population au Royaume Uni. Lorsque le diagnostic était suspecté (n=66, 50%), le risque hémorragique était diminué avec un taux de transfusion pour hémorragie péri-partum (HPP) inférieur (29 versus 94%, p=0,01) (55). Il est possible que la réduction du risque hémorragique soit en particulier liée au fait que l'anticipation du diagnostic permette d'éviter des manœuvres de délivrance forcée (tentation d'extirper le placenta en totalité). En effet l'absence de manœuvre de délivrance placentaire forcée était associée à un risque hémorragique moindre avec 50% versus 86% de femmes transfusées (p=0,01) (niveau de preuve (NP) 2) (55). Un autre travail retrouve une morbidité de la césarienne-hystérectomie pour placenta accreta similaire (56). Les auteurs ont comparé 62 cas de césarienne-hystérectomie réalisés sans tentative de délivrance artificielle à 37 cas découverts en perpartum dans une étude monocentrique réalisée en Californie. Ils montrent une réduction du risque hémorragique lorsque le diagnostic est fait avant la césarienne (unités de concentrés globulaires : 4,7% +/-2,2 versus 6,9%, p=0,02). Dans cette étude, les patientes qui ont bénéficié du diagnostic avant l'accouchement présentent tout de même un taux important de complications (23% de plaies de vessie et 8% de plaies urétérales). Le risque de complications urétérales fait adopter par certains la pose de sondes urétérales préopératoires.

Le diagnostic de placenta accreta est en général suspecté devant des facteurs de risques et exploré par l'échographie et l'IRM. Le diagnostic est souvent difficile et nécessite le recours à des équipes expérimentées. Les principaux signes évocateurs du diagnostic sont la présence d'un placenta praevia recouvrant la cicatrice utérine, la disparition du liseré hypoéchogène dit de sécurité entre le placenta et le myomètre, l'interruption de la zone

hyperéchogène à l'interface de la séreuse et de la vessie, la présence d'un aspect pseudotumoral du placenta en regard de la séreuse utérine, l'existence de lacunes intra placentaires et une hyper-vascularisation placentaire ou vésicale en mode Doppler (couleur ou énergie). L'IRM permet de mieux apprécier l'extension aux organes de voisinage et à la vessie en cas de placenta percreta. Une cystoscopie peut permettre de confirmer l'atteinte vésicale.

1.4 Prise en charge médicale pour l'accouchement

L'attitude consensuelle face au placenta accreta est de ne pas tenter une délivrance forcée, qui peut provoquer une hémorragie cataclysmique (57- 59).

Deux types de chirurgie sont possibles :

- la césarienne associée à une hystérectomie d'emblée (césarienne-hystérectomie), le placenta étant laissé en place lors de l'hystérectomie,

ou

- la césarienne associée à un traitement conservateur consistant en l'abandon du placenta dans la cavité utérine sans hystérectomie. Dans ce cas, l'utérus et la paroi abdominale maternelle sont fermés en laissant le placenta dans l'utérus.

Quelle que soit la méthode utilisée, le plateau technique doit être suffisant. Les équipes anesthésique et chirurgicale doivent être expérimentées face à la difficulté potentielle de l'intervention. Le centre hospitalier doit être équipé d'une banque du sang, d'un plateau de radiologie interventionnelle et d'une réanimation maternelle. La prise en charge varie selon les pays. Ainsi, la césarienne-hystérectomie est recommandée aux Etats-Unis alors que l'attitude conservatrice est désormais largement adoptée au sein des pays Européens (59).

1.4.1 Prise en charge non conservatrice

En l'absence de désir ultérieur de grossesse, une hystérectomie réalisée lors de la césarienne est possible si les facteurs de risque et l'imagerie sont très évocateurs du diagnostic. Dans ce cas, le placenta est laissé en place après l'extraction du nouveau-né par une incision utérine de préférence, réalisée à distance du lit placentaire. La chirurgie est souvent très hémorragique et difficile, voire délabrante en cas de placenta percreta. Plusieurs séries hospitalières rétrospectives ont évalué la morbidité maternelle après césarienne-hystérectomie (57,60-62). Eller *et al.* ont retrouvé dans une série de 76 cas de césarienne-hystérectomie pour placenta accreta un taux de transfusion (≥ 4 culots globulaires) de 42 %, de cystotomie de 29 %, de plaies urétérales de 7 %, de complications infectieuses de 33 %, et de morbidité majeure de 59 % (61).

Parmi les mesures complémentaires proposées en cas de césarienne-hystérectomie pour diminuer le risque hémorragique, figurent l'embolisation peropératoire et la mise en place de ballonnets intravasculaires préopératoires. Après embolisation des artères utérines réalisées après l'extraction fœtale, et avant l'hystérectomie, Angtsmann *et al.* ont observé une diminution significative des pertes sanguines, du nombre de patientes transfusées et du nombre de culots globulaires transfusés dans une série portant sur 26 femmes (63). La mise en place de ballonnets intravasculaires a également été étudiée. Une série portant sur 11 patientes retrouve des résultats encourageants avec une diminution des saignements (64). Bodner *et al.* ont décrit dans une étude rétrospective 28 patientes traitées consécutivement pour un placenta accreta qu'ils ont divisées en deux groupes : avec (n=6) et sans occlusion temporaire via un ballonnet intravasculaire (n=22) (65). Ils n'ont pas pu montrer qu'une occlusion temporaire ou une embolisation avant l'hystérectomie permettait de réduire le risque hémorragique. Shrivastava *et al.* ne trouvent pas non plus de résultats significatifs sur 69 femmes prises en

charge pour un placenta accreta par une césarienne-hystérectomie, que ce soit pour les pertes sanguines ($p=0.79$), le nombre de transfusion ($p=0.6$), le temps opératoire ($p=0.85$) (66).

1.4.2 Prise en charge conservatrice

L'hystérectomie entraîne une stérilité définitive. De plus, sa réalisation dans un contexte de placenta accreta/percreta, peut s'accompagner d'une morbidité élevée et comporter un risque vital maternel. Pour tenter de minimiser ces complications, particulièrement quand un désir de grossesse ultérieur est exprimé par la patiente, ou en cas de placenta percreta, une alternative thérapeutique conservatrice peut être proposée (66,67).

L'étude de Kayem *et al.* a d'abord comparé une stratégie extirpative systématique du placenta au traitement conservateur consistant à laisser le placenta en place. Cette étude reposait sur la comparaison des résultats entre deux périodes différentes : au cours de la première, la délivrance était toujours tentée et au cours de la deuxième, le placenta était laissé en place (66,67). L'étude montre une diminution du risque hémorragique et du taux d'hystérectomie en cas de placenta laissé en place. Dans le groupe placenta laissé en place, le taux d'hystérectomie, le nombre de culots globulaires et les troubles majeurs de la coagulation étaient significativement plus faibles ($p<0.02$). Lorsque le placenta est laissé en place, la patiente est confrontée à une augmentation du risque infectieux. Cette prise en charge conservatrice a également été décrite par de nombreux « case reports », qui permettaient de souligner en particulier le risque de complications hémorragiques et infectieuses (68). Deux autres séries françaises ont décrit les cas de placenta accreta pris en charge par un traitement conservateur. Bretelle *et al.* obtiennent, avec cette prise en charge chez 26 femmes, un taux d'hystérectomies de 19% (69). Sentilhes *et al.* ont repris dans une étude nationale 167 cas de placentas accretas rapportés par 40 centres universitaires et traités de manière conservatrice (70). Le taux d'hystérectomie était de 22% et celui de la morbidité maternelle sévère de 6%.

La vacuité utérine était obtenue spontanément dans 75% des cas après un délai médian de 13,5 semaines (4 - 60 semaines). Une résection hystéroscopique et/ou un curetage ont dû être réalisés pour obtenir une vacuité utérine dans 25% des cas avec un délai médian de 20 semaines (2 - 45 semaines) (70).

Une description du traitement conservateur a été proposée :

- Quand le placenta accreta est fortement suspecté avant l'accouchement devant l'existence de facteurs de risques et d'une imagerie en faveur du diagnostic, la prise en charge inclut alors les étapes suivantes : (i) La position du placenta est déterminée avec précision par échographie ; (ii) Une césarienne est programmée comportant une incision cutanée médiane élargie en sus ombilical si cela est nécessaire ; (iii) L'abord utérin se fait par une incision médiane à distance du lit placentaire ; (iv) Après l'extraction de l'enfant, une tentative prudente de délivrance du placenta est réalisée en cas de doute sur le placenta accreta, son échec permettant de confirmer le diagnostic ; (v) Dans ce cas, le cordon est sectionné au ras de l'insertion placentaire et la cavité utérine est refermée (Figure 7) ; (vi) Pour tenter de diminuer le risque infectieux, une antibiothérapie post-opératoire (amoxicilline et acide clavulanique) pendant dix jours à titre prophylactique peut être administrée.
- Le suivi ultérieur de ces patientes est ensuite réalisé de manière hebdomadaire jusqu'à la résorption complète du placenta. Il comprend un examen clinique, une échographie pelvienne et un bilan biologique à la recherche d'une infection débutante (prélèvement vaginal et Protéine C réactive).

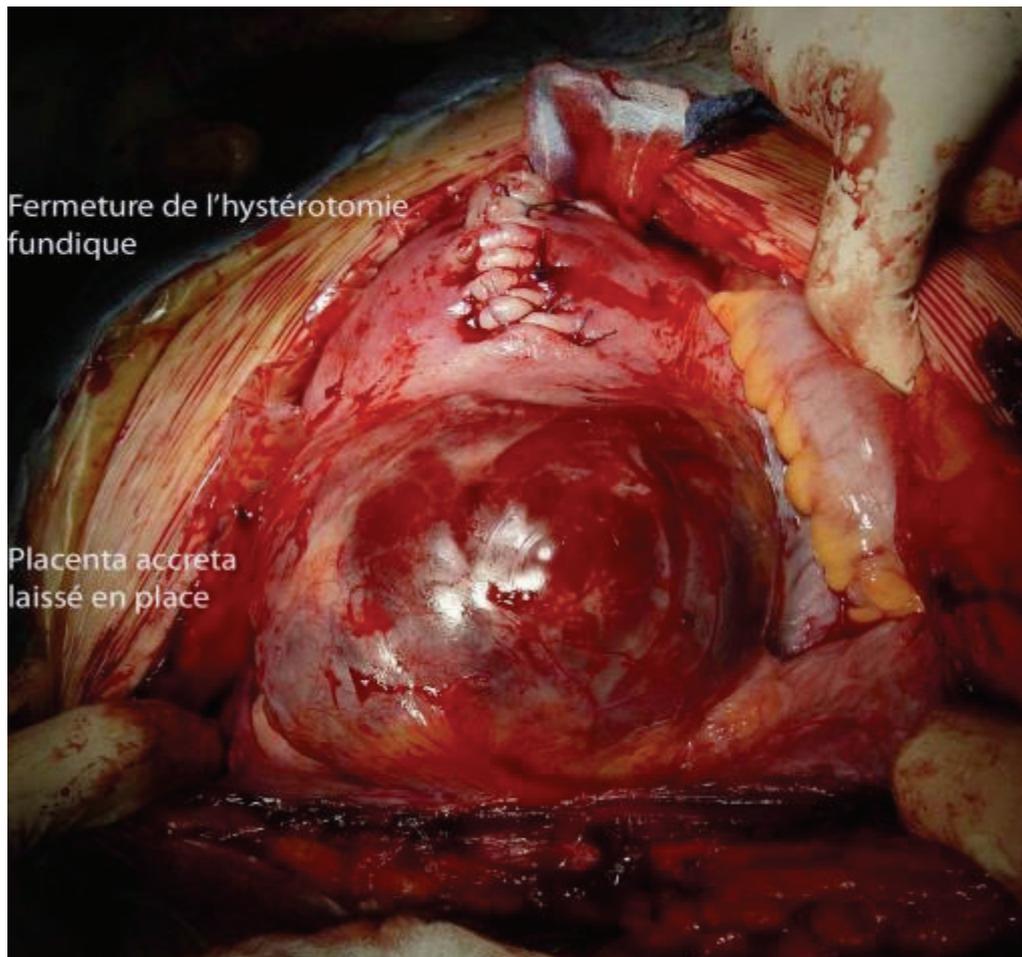


Figure 7: Placenta accreta laissé en place (Traitement conservateur).

L'inconvénient du traitement conservateur réside dans la lourdeur de la surveillance et des complications associées à ce traitement. Les principales complications sont les hémorragies (41% de transfusion) et les infections (28%) (70). L'involution du placenta est observée une fois sur deux et nécessite souvent un geste chirurgical complémentaire soit par laparotomie soit par hystéroscopie. Près de la moitié des patientes ont finalement une hystérectomie. Des grossesses ont été décrites après traitement conservateur (70). Dans notre service sur 12 cas traités à l'hôpital de la Croix Rouse, une patiente a eu une grossesse normale après traitement conservateur et la moitié ont pu bénéficier d'une hystérectomie sans complication notable.

1.5 Les traitements adjuvants

Le méthotrexate, l'embolisation des artères utérines et la sulprostone sont les trois traitements adjuvants décrits dans les cas ayant eu un traitement conservateur (71-75). L'objectif principal de ces traitements est d'accélérer l'involution placentaire et de diminuer le risque hémorragique.

L'impact du méthotrexate sur la résorption placentaire n'a pas été évalué dans le cadre d'études comparatives. La résorption du placenta dans les cas décrits est variable, allant de l'expulsion du placenta au septième jour à la résorption progressive sur une période de six mois (71-75). L'activité mitotique des cellules placentaires est réduite en fin de grossesse, et ne plaide pas en la faveur de l'efficacité du méthotrexate et donc de son utilisation. Enfin, le seul cas de décès maternel observé dans l'étude de Sentilhes *et al.* est survenu entre autres à cause d'une aplasie médullaire post-méthotrexate (70).

De même, il existe peu d'études décrivant l'évolution placentaire après embolisation des artères utérines (76-78). L'objectif est de prévenir la survenue secondaire d'une hémorragie, de diminuer le risque de pertes sanguines et d'accélérer la déliquescence placentaire par nécrose. Cependant, l'embolisation artérielle n'est pas un geste anodin et des complications ont été décrites telles que la nécrose utérine, l'ischémie du plexus lombaire, l'hémopéritoine par dissection d'une artère épigastrique et des ischémies des membres inférieur d'origine embolique (47,71,78-81)

1.6 Discussion

Les accrétions placentaires, de par leur prévalence grandissante et la complexité de leur prise en charge constituent un réel problème de médecine périnatale. Il n'existe pas à l'heure actuelle de consensus internationale sur les modalités de prise en charge, aboutissant à

une prise en charge disparate selon les pays. L'attitude conservatrice, cependant, trouve écho outre atlantique. Au-delà de l'hypothétique préservation de la fertilité, les risques d'hémorragie cataclysmique peropératoire, de comorbidités et de mortalité maternelle parfois gravissime semble être moindre, par opposition de la prise en charge non conservatrice. La prise en charge conservatrice reste cependant contraignante, de par le suivi, et la réussite reste limitée de par les risques hémorragiques et infectieux, et d'autre part, de reprises chirurgicales dont l'origine est attribuée à l'involution placentaire parfois longue. L'involution placentaire complète est ainsi, un paramètre primordial, et il n'existe pas à l'heure actuelle de traitement complémentaire permettant d'accélérer ce processus. L'accélération du processus de déliquescence permettrait pourtant, de réduire les risques inhérents à une telle prise en charge.

2. Les Ultrasons Focalisés de Haute Intensité

2.1 Introduction

Le principe des ultrasons focalisés de haute intensité (High Intensity Focused Ultrasound en anglais ou HIFU) repose sur l'émission d'ondes ultrasonores de haute intensité par un transducteur piézo-électrique. La focalisation ultrasonore aboutit à l'élévation ciblée de la température (25 à 60°C) au sein du tissu biologique (Figure 8). La focalisation est réalisée par la forme concave du transducteur ou par focalisation électronique lorsque le transducteur est subdivisé en plusieurs émetteurs. Une nécrose de coagulation tissulaire est obtenue en quelques secondes de manière irréversible par l'élévation de température et par effet de cavitation, uniquement dans la zone focale. L'innocuité du traitement est démontrée pour les tissus situés en amont ou en aval de la zone focale (82).

Bien que suggéré dès les années 40, la thérapie ultrasonore n'a connu un essor important qu'après le développement et l'amélioration des systèmes de guidage par imagerie, en particulier l'imagerie échographique. Le traitement du cancer de la prostate par HIFU est l'une des premières applications étudiées (83,84) et a abouti en 2000 à la commercialisation de l'Ablatherm® et du Sonablate® qui sont deux machines équivalentes ayant permis de traiter plus de 100 000 patients. Le développement conséquent qui a eu lieu sur la technologie HIFU autorise désormais des voies d'applications diverses (endocavitaire, extracorporelle ou *in situ*) et le traitement de la plupart des organes y compris du cerveau (85). Ainsi, les applications thérapeutiques ne cessent de se développer et peuvent ainsi concerner le traitement des tremblements essentiels (85), du fibrome utérin (86,87), les tumeurs du sein (88,89) ou les tumeurs hépatiques (90,91).

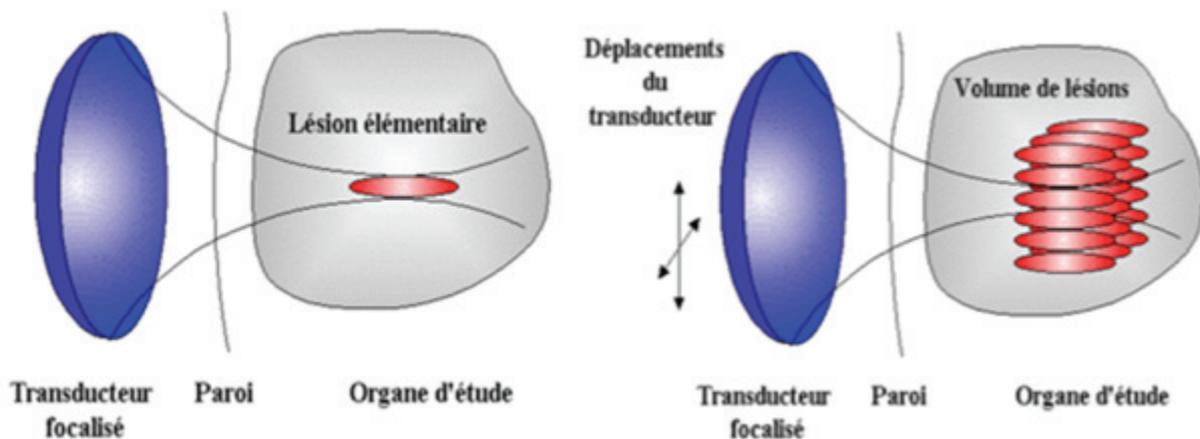


Figure 8 : Lésion élémentaire et juxtaposition des lésions par une sonde HIFU sphérique.

2.2 Les transducteurs à visée thérapeutique

Les ultrasons sont générés par un élément piézo-électrique. L'application d'un champ électrique sur un matériau piézo-électrique génère une déformation du matériau qui se transmet de proche en proche sous la forme d'une onde mécanique dans le milieu de propagation. Si le champ électrique est sinusoïdal à des fréquences supérieures à 20 kHz, la

vibration du transducteur génère une onde ultrasonore. Selon l'application ciblée, plusieurs transducteurs doivent être distingués. Les transducteurs peuvent être focalisés, divergents ou plans, qu'ils soient mono ou multiéléments.

Les HIFU sont produits à partir de transducteurs focalisés. Les transducteurs focalisés émettent des ultrasons dont l'intensité est de l'ordre du millier de Watt/cm² au point focal. L'effet de focalisation rend le traitement précis et non dangereux pour les structures de voisinage. Les dimensions de la lésion dépendront de l'intensité et de la géométrie du transducteur mais sont typiquement de forme ellipsoïdale, de l'ordre de 1-3 mm de diamètre par 10 à 15 mm de longueur. Les dimensions de la lésion sont données selon l'équation de Fry et Dunn (1962), Eq. 1 :

$$D_x = D_y = k_t \lambda z^2 / 2a \quad \text{et} \quad D_z = k_a D_y \quad \text{Eq.1}$$

Où D_x , D_y , D_z sont les dimensions de la zone focale (m), a le rayon du transducteur (m), z la distance entre le bord du transducteur et le point focal géométrique du transducteur (m), k_t et k_a des coefficients qui dépendent l'angle d'ouverture du transducteur.

Afin de recouvrir l'intégralité du volume à traiter, ce volume initial est juxtaposé de proche en proche par un déplacement mécanique du transducteur, ou si celui-ci est subdivisé en plusieurs éléments de petite taille, par un déplacement électronique de la zone focale. La géométrie du transducteur focalisé est généralement de type concave. La température au sein du tissu biologique avoisine les 100°C en quelques secondes, rendant le traitement indépendant de la perfusion.

Les transducteurs divergents ou plans sont caractérisés par une puissance acoustique de quelques dizaines de Watt/cm². Les transducteurs divergents sont de forme cylindrique tandis que les transducteurs plans sont de forme rectangulaire. Les voies d'applications développées sont interstitielles ou intraluminales. Elles concernent le traitement de des

tumeurs œsophagiennes (92), de la voie biliaire principale (93), de certains troubles de l'arythmie cardiaque (94) ou des tumeurs bénignes de la prostate (95).

2.3 Interaction des ultrasons avec les tissus biologique

2.3.1 Atténuation tissulaire, effets thermiques et seuil de destruction tissulaire

Lorsque l'onde ultrasonore traverse un tissu biologique, les forces de frictions qui s'opposent au mouvement d'oscillation lors de la propagation des ondes ultrasonores, crée une absorption d'énergie et une élévation de température par effet de frottement. Cette absorption dépend de la nature des tissus traversés et de la fréquence des ultrasons, selon l'équation 2 :

$$\alpha = af^b \quad \text{Eq. 2}$$

Où α est le coefficient d'atténuation exprimé en $\text{dB.cm}^{-1}.\text{MHz}^{-1}$, f la fréquence, a et b sont des coefficients qui dépendent de la nature tissulaire. Le tableau 3 dessous les coefficients d'absorption pour différents tissus biologiques.

Milieu	a ($\text{dB.cm}^{-1}.\text{MHz}^{-1}$)	b (1)
Eau	0,0022	1
Foie	0,45	1,05
graisse	0,6	0,4
muscle	0,57	1
sang	0,16	1,23

Tableau 3 : coefficients d'atténuation des principaux tissus biologiques

La résultante de l'atténuation tissulaire est une augmentation de la température locale. La quantité de chaleur évacuée par diffusion thermique est fonction de la conductivité thermique intrinsèque du milieu et de la perfusion. L'évolution de la température du milieu soumis à une onde ultrasonore est énoncée par l'équation 3 :

$$k\nabla^2 T - \omega_a \cdot c_a \cdot (T - T_a) - Q = \rho_m \cdot c_m \cdot \partial T / \partial t \quad \text{Eq. 3}$$

Où T est la température des tissus (°C), k le coefficient de conductivité thermique ($\text{W}\cdot\text{m}^{-1}\cdot\text{°C}^{-1}$), ρ_m est la densité du milieu ($\text{kg}\cdot\text{m}^{-3}$), c_m est la chaleur spécifique du milieu ($\text{J}\cdot\text{Kg}^{-1}\cdot\text{°C}^{-1}$), Q la quantité de chaleur par unité de temps et de volume apportée au milieu ($\text{W}\cdot\text{m}^{-3}$), ω_a le taux de perfusion local ($\text{Kg}\cdot\text{m}^{-3}\cdot\text{s}^{-1}$), c_a la chaleur spécifique du sang ($\text{J}\cdot\text{Kg}^{-1}\cdot\text{°C}^{-1}$) et T_a la température vasculaire (°C).

Le temps équivalent à 43°C est un concept qui décrit les dommages causés dans un tissu après un chauffage. Elle permet de comparer des dommages créés par différentes températures appliquées pendant différents intervalles de temps en calculant le temps qu'une température de référence devrait être appliquée pour produire les mêmes dommages. 43°C est choisie comme température de référence. Le temps équivalent à 43°C est défini par la relation :

$$t_{43} = \sum_{t=0} R^{(43-T)} \Delta t \quad \text{Eq. 4}$$

où $R = 0,5$ si $T > 43^\circ\text{C}$ et $R = 0,25$ si $T < 43^\circ\text{C}$

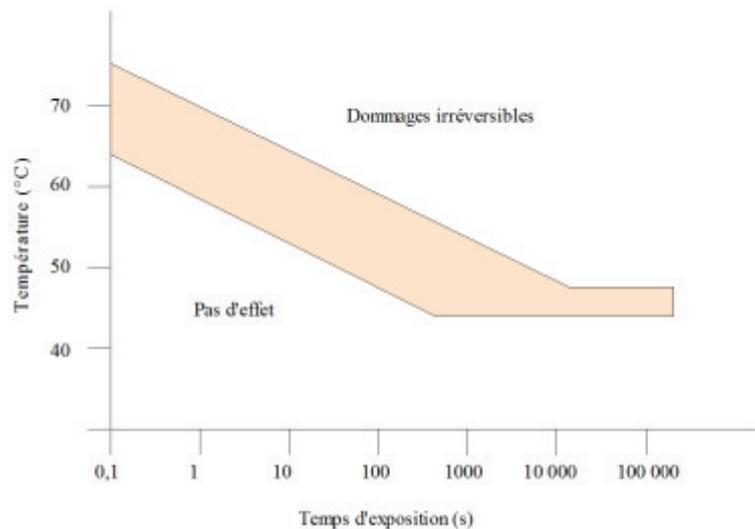


Figure 9 : Dommages provoqués dans les tissus biologiques en fonction de la température et du temps d'exposition.

t_{43} est le temps équivalent reçu par l'élément de volume observé (s), R est une fonction binaire de la température 0,5 si $T > 43^\circ\text{C}$ et 0,25 si $T < 43^\circ\text{C}$., T est la température moyenne de l'élément de volume ($^\circ\text{C}$) pour une durée Δt (s). Sur cette échelle, le seuil de t_{43} létale aboutissant à une lésion irréversible des tissus est de 4 heures soit 14400 secondes à 43°C . La forme des lésions est ainsi prévisible (96) par reconstitution en 3D des doses reçues par chaque élément de volume. L'effet thermique des ultrasons dans les tissus biologiques peut être ainsi évalué par la relation entre le temps de traitement, la température et les dommages tissulaires attendus (Figure 9).

2.3.2 Effets de cavitation et effets mécaniques

Au cours de sa propagation, l'onde ultrasonore peut interagir avec les micro-cavités d'air présentes. Sous cette contrainte, des microbulles se mettent à osciller, c'est-à-dire à se comprimer et à se détendre, c'est le phénomène de cavitation acoustique. Il existe deux principaux modes de cavitation : stable et instable. La cavitation est stable lorsque la différence entre la pression hydrostatique du liquide et l'amplitude de la pression acoustique

est plus grande que la pression de vapeur à l'intérieur de la bulle. Inversement, la cavitation est dite instable si cette différence est plus petite que la pression à l'intérieur de la bulle (Figure 10). La cavitation stable survient en présence d'une onde ultrasonore peu intense et produit des oscillations à la fréquence fondamentale mais également aux harmoniques supérieures qui contribuent alors à augmenter l'absorption locale. Les bulles de gaz entrent en résonance. Au cours de la cavitation instable, le rayon de la bulle augmente et aboutit à l'implosion de la bulle. Ces multiples bulles peuvent également à leur tour subir la cavitation. Ce phénomène est généré pour des intensités très élevées.

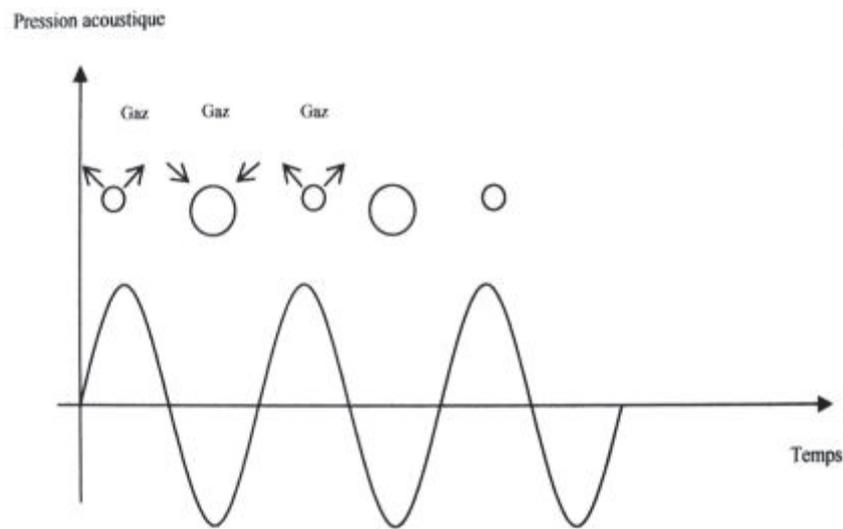


Figure 10 : Phénomène de résonance d'une bulle sous l'effet d'une onde ultrasonore de haute intensité.

2.4 Aspect histologique des lésions induites

2.4.1 Aspect microscopique

Lorsque l'analyse histologique des tissus est réalisée le jour d'un traitement HIFU, les lésions induites comprennent de la nécrose de coagulation, un œdème et un infiltrat lymphocytaire (Figure 11) (96-100). Lorsque l'analyse anatomo-pathologique est effectuée à distance (entre 7 et 30 jours), les lésions histologiques comportent essentiellement de la

fibrose (Figure 12) (100). La zone de démarcation entre les tissus traités ou non par HIFU est, sur le plan histologique, particulièrement nette et estimée entre de 20 à 200 micromètres.

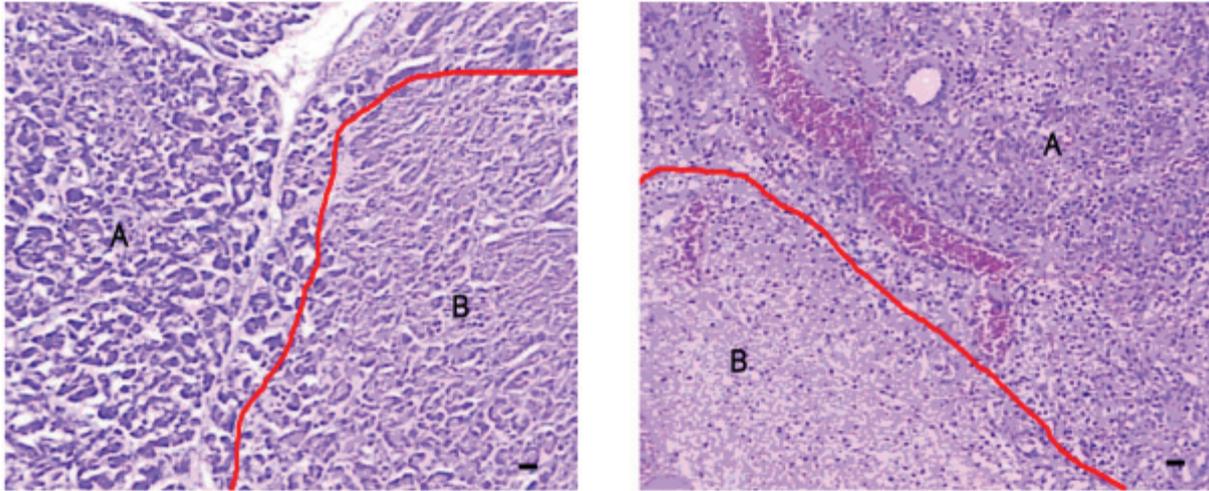


Figure 11 : Coupe histologique d'un tissu pancréatique de porc soumis à une séance de traitement par HIFU, selon Xie *et al.* (100). Le tissu A représente le tissu sain. Le tissu B représente le tissu cible. Celui-ci comporte de la nécrose tissulaire. La zone de démarcation est de 20 micromètres (cliché de gauche). **Figure 12** : Coupe histologique d'un tissu pancréatique de porc réalisé dans les 30 jours suivant une séance de traitement par HIFU, selon Xie *et al.* (100). Le tissu B est la zone cible, et comporte de la fibrose (cliché de droite).

2.4.2 Aspect macroscopique

L'analyse macroscopique des tissus *ex-vivo* soumis aux HIFU met en évidence une lésion de nécrose constituée de petits îlots d'espaces vides. Ces espaces correspondent aux lésions induites par les phénomènes d'ébullition (température *in situ* avoisinant les 100°C). La lésion de nécrose est cerclée d'un anneau plus clair correspondant aux forces de radiations imposées par les ultrasons. Le toucher objective un durcissement des tissus.



Figure 13 : Visualisation de la lésion HIFU. Au centre de la lésion, des espaces vides sont formés par ébullition et cavitation. En périphérie, un halo clair s'est formé par l'expulsion du sang vers la périphérie au cours de l'impact.

2.5 Monitoring échographique des lésions induites par HIFU

L'échographie s'est imposée dans le domaine médical comme un outil diagnostique performant, de par son excellente résolution spatiale et temporelle. Le fait de pouvoir disposer dans une même sonde le transducteur HIFU et une sonde échographique est un avantage considérable, permettant d'aligner le plan de l'image avec l'axe acoustique HIFU. Différents travaux ont évalué le guidage et le monitoring échographique au cours de séances de traitement par HIFU, que ce soit en mode B ou plus récemment par élastographie (101,102). La corrélation entre l'image observée et la taille réelle de la lésion était reportée entre 92 et 97% pour les tissus hépatiques sur des études utilisant des transducteurs peu focalisés (101). Bien que l'échographie soit fiable pour évaluer un traitement HIFU réalisé dans les tissus hépatiques (103), l'imagerie ultrasonore ne permet pas de délimiter l'étendue de la zone traitée pour d'autres organes, en particulier la prostate. Les limites du mode échographique sont un faible contraste tissulaire, les limites incertaines entre la zone cible pathologique et le tissu de voisinage, la présence d'artéfacts systématiques. Par ailleurs, pour un même tissu la lésion

peut être visualisée sous la forme d'une image hyper ou hypoéchogène. Ainsi, Melodelima *et al.* décrivait une lésion hépatique d'allure hyperechogène ou hypoéchogène, respectivement dans 92% et 8 % (99). Les phénomènes d'ébullition et de cavitation, au cours de l'impact tissulaire des HIFU gênent considérablement l'interprétation de l'image. La nature tissulaire est également un facteur influençant la qualité du guidage et du monitoring échographique. Kun *et al.* par l'étude du mode échographique au cours de lésions induites sur du tissu musculaire, ont démontré que la corrélation entre l'image obtenue et la taille des lésions était de 60% (103). Selon Chenot *et al.*, l'élastographie présenterait une meilleure résolution de contraste par rapport au mode B (101). L'élastographie devient un moyen de visualisation de plus en plus répandu et fiable, mais le manque d'études sur ce sujet, ne permet pas encore une utilisation de l'élastographie en routine. D'autres procédés de monitoring échographique ont été évalués tel que l'injection de produit de contraste. Ainsi, Rouviere *et al.* ont évalué ce mode échographique en post-traitement par HIFU du cancer de la prostate (104). Ils ont démontré qu'il était possible de pallier les faiblesses du mode échographique par ce procédé. Selon leurs résultats, ce système de monitoring aurait une efficacité similaire à celle de l'IRM, ce qui permettrait un contrôle optimal des lésions induites dans les suites immédiates ou à distance. L'IRM contrairement à l'échographie permet de mesurer la température des tissus au cours d'une séance d'insonification. Cette approche est utilisée avec succès pour le traitement du fibrome utérin, du cancer de la prostate, des tumeurs rénales ou cérébrales (105-109). Son coût, la difficulté de l'implémenter à la chirurgie ouverte restent les principaux facteurs limitants de cette voie de guidage et de monitoring. Une voie de recherche est en cours sur l'utilisation du signal rétrodiffusé. Ce signal pourrait évaluer la température dans les tissus au cours d'une séance de traitement (110). Les résultats sont encore trop récents pour une application clinique. Sur la base de ces données, le travail mené sur le traitement du syndrome STT et des accrétions placentaires par HIFU, utilisera des moyens de guidage qui

reposit sur l'imagerie ultrasonore. L'échographie conventionnelle sera étudiée afin de déterminer s'il s'agit d'un moyen performant pour assurer un traitement précis et fiable.

2.6 La sonde torique M-Focus 2

Afin de mener à bien ce travail, une sonde HIFU nommée M-Focus 2 a été utilisée (Figure 13). Il s'agit d'une sonde équipée d'un transducteur HIFU de géométrie torique, composée de 32 anneaux piézo-électrique concentriques, de surface identique (78 mm^2) et opérant à la fréquence de 2,5 MHz (Imasonic S.A., France) (111). La géométrie torique permet la création d'un important volume de coagulation en un temps très court, à distance du transducteur. Cette sonde est munie d'un système de focalisation électronique, autorisant également la concentration des ultrasons en un point précis lorsque la zone de traitement doit être réduite.

La sonde torique est munie d'une sonde d'imagerie échographique intégrée opérant à la fréquence de 7,5 MHz (bande passante de 63%) et composée de 128 éléments (Vermon S.A, France). Le plan d'imagerie est aligné avec l'axe acoustique du transducteur HIFU (Figure 13 et 14). Un câble échographique relie la sonde d'imagerie à un échographe BK (BK Medical, Herlev, Danemark). Cet appareil est piloté par une tour de commande dédiée (Figure 15) composée de 32 amplificateurs de puissance, de l'échographe BK et d'un ordinateur. Le signal électrique fourni par les amplificateurs est converti par le transducteur HIFU en puissance acoustique, focalisée et transmise aux tissus biologiques. Cette conversion d'énergie électrique en énergie acoustique est produite par le transducteur HIFU avec un rendement de 60%. L'énergie électrique non convertie en énergie acoustique produit un échauffement du transducteur par effet Joule. Deux thermocouples sont connectés à la face arrière du transducteur, permettant un contrôle en temps réel de la température. Un arrêt de la procédure

est ainsi opéré lorsque la température excède les 65°C. Cette limite en température est conseillée par le constructeur afin de préserver les caractéristiques électriques et mécaniques des éléments piézocomposites. La sonde est recouverte par une enveloppe en polyuréthane (14 x 91,5 mm, CIV-Flex transducer cover, CIVCO, USA) contenant un liquide dégazé et stérile de couplage ultrasonore (Ablasonic®, EDAP, Vaux-en-Velin, France). Cette enveloppe atténue de la pression ultrasonore d'environ 3% à 2,5 MHz. Ce liquide assure également un refroidissement de la face avant du transducteur HIFU, et est fixé de manière étanche par un joint torique (94x4 mm, NBR 70, SCMR, France). Le système de refroidissement est relié par des connecteurs Luers de façon étanche à la bague de refroidissement. L'échangeur thermique est plongé dans un bac d'eau glacé. Une pompe peristaltique Masterflex (L/S model 7518-60, Cole-Parmer Instruments Co.,USA) conduit le liquide de couplage à une température de 5° à travers l'ensemble du circuit avec un débit de 0,3 l.min⁻¹. Ce système de refroidissement permet d'assurer le refroidissement du transducteur en cours de traitement et un maintien de sa température à des valeurs inférieures à 65°C.

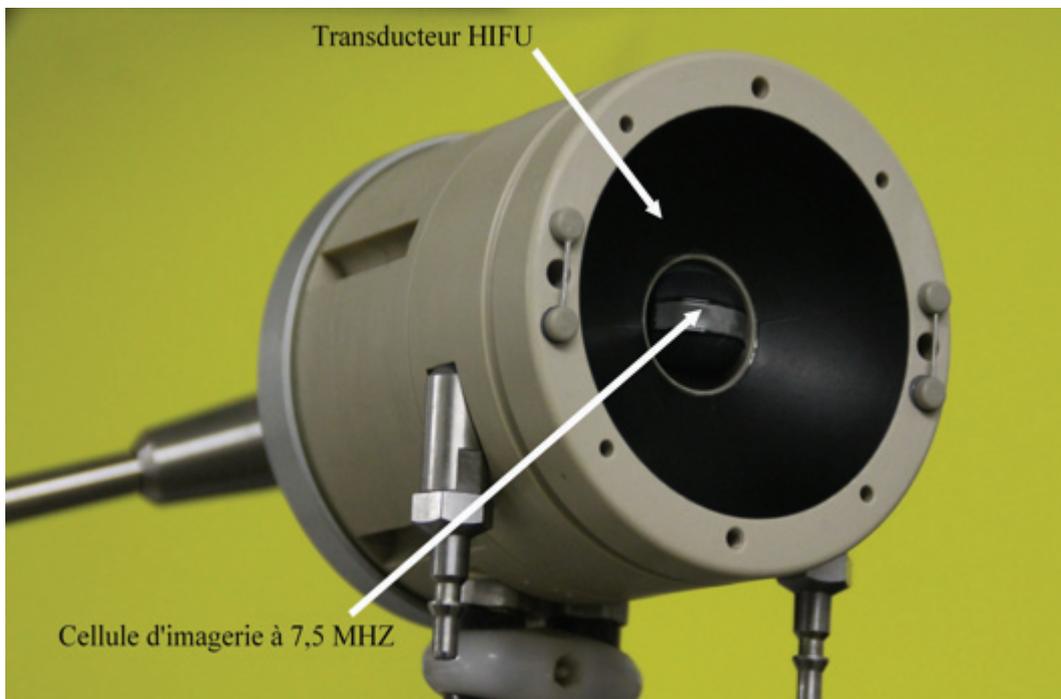


Figure 14 : Sonde HIFU torique constituée de 8 émetteurs sectorisés opérant à la fréquence de 2,5 MHz et d'une cellule d'imagerie intégrée de 7,5 MHz.



Figure 15 : Vue d'ensemble de la sonde torique. La sonde est munie d'un connecteur pour l'échographe et d'un connecteur permettant la liaison aux amplificateurs de puissance.

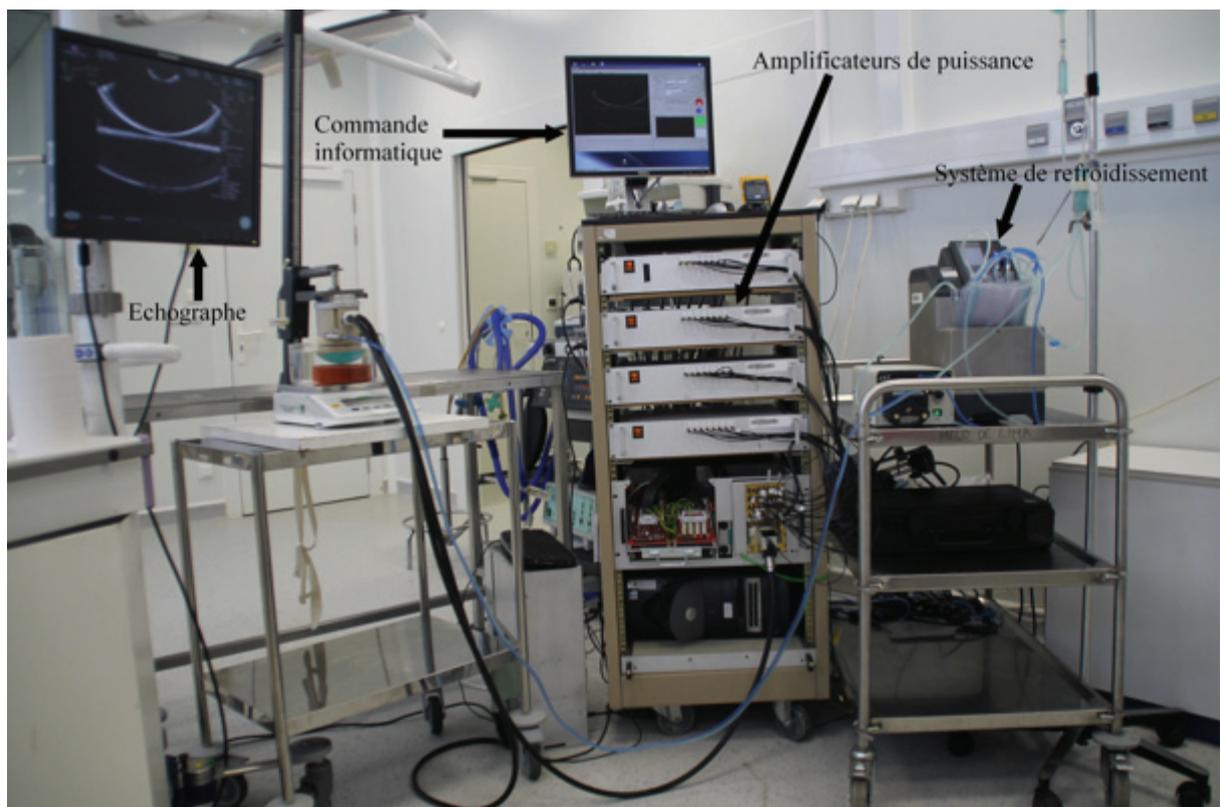


Figure 16 : chaîne de commande de la sonde HIFU, constitué de 32 amplificateurs de puissance. Le pilotage de la sonde est assuré par un système informatisé. Le refroidissement est réalisé par un bac refroidisseur, dont la température est maintenue à 5°.

Les premiers résultats issus d'une étude *in-vivo* sur le foie démontraient que la sonde torique permettait de produire des lésions d'en moyenne 8 cm³ en 40 secondes. En utilisant les procédés de focalisation électronique, une étude a montré qu'il était possible d'augmenter le volume traité jusqu'à 40 cm³ en 130 secondes de traitement. Le diamètre moyen des lésions était de 41,4 ± 4,0 mm (112). Ce dispositif est actuellement en phase d'évaluation clinique pour le traitement des métastases hépatiques de cancers colorectaux. A ce jour, trente patients ont été inclus dans une étude de Phase I-II (113). Les résultats obtenus, et qui doivent être consolidés sur les 11 patients restant à inclure, indiquent pour l'instant la faisabilité, l'innocuité, et la capacité de ciblage des métastases du dispositif HIFU peropératoire utilisant un transducteur à géométrie torique.

3. Applications thérapeutiques des HIFU en médecine fœtale

Les premiers travaux sur l'application des HIFU en médecine fœtale sont récents. A partir d'un transducteur plan ou concave, Peak *et al.* ont démontré qu'il était possible d'obtenir une nécrose tissulaire *in-vivo* des tissus fœtaux tels que le foie, les poumons, les reins et le cœur (114,115). La taille de la lésion variait de 1 à 9 mm de diamètre, pour une distance focale de 3,5 cm. Ichizuka *et al.* ont démontré à partir d'un modèle de lapines gestantes qu'il était possible d'obtenir une coagulation du cordon ombilical dans sa portion intra-abdominale (116). Le diamètre médian du cordon était de 0,6 millimètres pour une vitesse systolique de 44 cm/s. Kim *et al.* ont évalué les propriétés de nécrose tissulaire par HIFU à partir d'un modèle de brebis gestante (117). Des lésions de cavitation chez le fœtus ont été obtenues à partir d'un transducteur focalisé dans 60% des cas. Néanmoins, la cavitation est un phénomène difficilement reproductible *in-vivo* et qui présente des risques de déchirures ou d'hémorragies. Pour ces raisons, les développements de l'étude se sont

principalement portés sur des procédés de destruction par effet thermique. Ces premiers travaux sont encourageants, et permettent d'envisager des applications thérapeutiques *in utero*. Les études restent cependant peu nombreuses. La taille des lésions et la distance focale constituent les principaux facteurs limitant de la voie thérapeutique par HIFU dédiée aux pathologies fœtales ou maternelles. De plus, les modèles expérimentaux étudiés ne permettent pas non plus une extrapolation au modèle humain (118). En effet, la taille de l'utérus, sa position, sa forme et sa position par rapport à la paroi peuvent différer du modèle humain.

Récemment, une étude clinique initiée par Okai *et al.* 2013, a démontré les possibilités d'induire une interruption sélective de grossesse à partir d'un traitement HIFU réalisé avec un transducteur sphérique (119). Des insonifications successives ont été réalisées sur le cordon ombilical d'un jumeau acardiaque. Les puissances acoustiques ont été augmentées progressivement, et une interruption du flux sanguin intra-cordonal chez le jumeau acardiaque, a été observée à 17 SA+ 5 pour une puissance acoustique de 4300 Watts/cm². Cette étude était marquée par la naissance du co-jumeau dit « jumeau pompe », de sexe masculin en bonne santé, et pesant 1903 g à 37 SA. Il s'agit, à ce jour, de la seule étude qui a évalué l'intérêt des HIFU en médecine fœtale à l'échelle clinique.

4. Applications thérapeutiques des HIFU pour le placenta accreta à partir d'une revue de la littérature

Les travaux dédiés à l'application des HIFU pour la pathologie placentaire sont quasi-inexistants. Bai *et al.* ont évalué l'intérêt clinique des HIFU pour le traitement du placenta accreta, dans les suites d'un accouchement par les voies naturelles chez 12 patientes (120). Un transducteur sphérique a été utilisé, et des insonifications ont été réalisées au sein du tissu placentaire. Cette étude démontre qu'il est possible d'accélérer la déliquescence placentaire. Néanmoins, cette étude doit être débattue car le diagnostic du trouble de l'accrétion

placentaire est à remettre en cause. Dans la plupart des cas, le placenta accreta est caractérisé par une insertion praevia, en regard du segment inférieur de l'utérus. Ainsi, cette particularité anatomique ne permet pas un accouchement par les voies naturelles. Dans le cas où un accouchement par les voies naturelles est obtenu, celui-ci est généralement marqué par une hémorragie massive de la délivrance. Dans cette étude, il n'est pas objectivé d'hémorragie. Le diagnostic est habituellement établi dans les suites de l'accouchement au décours de la césarienne. Une illustration a été proposée sur la réalisation d'une IRM après accouchement mais ne présente aucunement d'arguments iconographiques évocateurs d'un placenta accreta. La zone de sécurité myométriale est clairement établie, et aucune lacune n'est visible rendant le diagnostic de placenta accreta peu probable.

L'apport des HIFU pour le traitement du placenta accreta paraît pertinent. En accélérant la déliquescence placentaire, les risques d'hémorragies et d'infections pourraient être diminués dans le cas d'un traitement conservateur. Les apports de cette nouvelle approche thérapeutique ne sont pas encore formellement démontrés. Il paraît nécessaire d'évaluer ce procédé pour le traitement des placentas accretas au décours d'une césarienne, afin de se formaliser aux conditions cliniques imposées par cette pathologie.

5. Justificatif de l'étude : place des HIFU pour la pathologie placentaire ?

5.1 Apport des HIFU pour la prise en charge thérapeutique du STT

La stratégie thérapeutique que l'on souhaite étudier s'oriente à long terme vers le traitement du syndrome transfuseur-transfusé (STT). Ce travail de thèse est le socle de cette mise en place et consistait à évaluer l'application des HIFU à l'unité placentaire à partir de modèles *ex-vivo* et *in-vivo*. Les HIFU sont focalisés à distance du transducteur, rendant le traitement non invasif. Ils ne permettent pas cependant, à l'heure actuelle d'engendrer une

coagulation vasculaire centimétrique (121-124). Comme nous l'avons vu précédemment, la physiopathologie du STT repose sur la présence d'AAV et d'un faible nombre d'AAA. La stratégie thérapeutique actuelle repose sur la photocoagulation laser des AAV par fœtoscopie. Bien que la fœtoscopie puisse améliorer le taux de survie, les résultats à long terme sont nuancés par les complications materno-fœtales, source d'une morbidité et d'une mortalité néonatale non négligeable. Afin de réduire le taux de complications, nous avons élaboré une nouvelle stratégie thérapeutique par HIFU qui permet de s'affranchir de l'aspect invasif de la fœtoscopie. Nous avons opté pour la création d'une bipartisation placentaire en profondeur *i.e-* obtenir un placenta scindé en deux parties distinctes. Ce choix tient compte des possibilités hypothétiques de cette nouvelle option thérapeutique, à savoir la destruction des AAV en profondeur tout en épargnant les AAA. Cette option thérapeutique ne trouve pas de correspondance en regard de la prise en charge thérapeutique actuelle. Dans le cadre de ce travail, une étude *ex-vivo* a été entreprise pour démontrer la faisabilité du traitement avant d'envisager à court terme une étude sur un modèle animal (faisabilité, reproductibilité, tolérance maternelle et fœtale).

5.2 Apport des HIFU pour la prise en charge thérapeutique conservatrice des accrétions placentaires

Le placenta accreta est une complication grave de la grossesse qui correspond à une anomalie d'insertion en profondeur du placenta. Il expose la mère à un risque d'hémorragie massive de la délivrance. Le traitement actuel consiste soit en une césarienne-hystérectomie, chirurgie difficile et dangereuse qui stérilise la patiente, soit en une césarienne laissant le placenta inséré dans l'utérus jusqu'à sa nécrose complète. Cette stratégie conservatrice expose à des risques hémorragiques un peu moins importants que la césarienne-hystérectomie et

permet de conserver l'utérus une fois sur deux. Elle impose des suites opératoires lourdes sur 4 à 6 mois et est associée à des taux d'infections importants et des transfusions itératives car la nécrose placentaire est lente. Malheureusement, l'accélération de la nécrose placentaire est impossible actuellement faute de traitements adjuvants efficaces. L'utilisation des ultrasons focalisés de haute intensité en per-opératoire pourrait, grâce à leur action de coagulation en masse, accélérer la nécrose, et ainsi limiter les risques hémorragiques, infectieux, voire de conserver la fertilité. Une étude de faisabilité a été entreprise à partir d'un modèle *ex-vivo*. Sur la base de ces résultats, nous souhaitons mettre en place une première étude clinique portant sur 3 patientes, qui permettra de valider la faisabilité de l'utilisation des HIFU pour le traitement adjuvant des placentas accretas laissés en place, ou avant hystérectomie qu'elle soit d'emblée ou secondaire.

II - Articles publiés

1. Non-invasive high-intensity focused ultrasound treatment of the placental unit: Preliminary in-vivo study using a monkey model of pregnancy

J. Caloone^{1,2}, C.Huissoud^{2,3}, A. Kocot¹, J. Vincenot¹, C. Dehay³, P. Giroud³, P. Misery³, F. Allias⁴, R.C Rudigoz², D. Melodelima¹

¹Inserm, U1032, LabTau, Lyon, F-69003, France ; Université de Lyon, Lyon, F-69003, France

²Department of Obstetrics and Gynecology, Croix Rousse University Hospital, Lyon, F-69004, France

³Stem Cell and Brain Research Institute, Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale U846, 18 avenue du Doyen Lepine, Bron, France; Université de Lyon, Université Lyon I, 69003 Lyon, France

⁴Department of Pathology, Croix Rousse University Hospital, Lyon, F-69004, France

Correspondance to jonathan.caloone@inserm.fr, Laboratory of Therapeutic Applications of Ultrasound, 151 cours Albert Thomas, 69424 Lyon cedex 03, France

Telephone : + 33 4 72 68 19 30

Fax : + 33 4 72 68 19 31

Article accepté dans l'Ultrasound in Obstetrics and Gynecology (IF : 4.71)

High-intensity focused ultrasound applied to the placenta using a toroidal transducer: a preliminary *ex-vivo* study

J. CALOONE*†‡, C. HUISSOUD‡§¶, J. VINCENOT*†, A. KOCOT*†, C. DEHAY§¶,
J. Y. CHAPELON*†, R. C. RUDIGOZ‡ and D. MELODELIMA*†

*Inserm, U1032, LabTau, Lyon, France; †Université de Lyon, Lyon, France; ‡Department of Obstetrics and Gynecology, Croix Rousse University Hospital, Lyon, France; §Stem Cell and Brain Research Institute, Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale U846, Bron, France; ¶Université de Lyon, Université Lyon 1, Lyon, France

KEYWORDS: *ex-vivo* model; high-intensity focused ultrasound; non-invasive; placenta

ABSTRACT

Objective To demonstrate in an *ex-vivo* model the feasibility of applying high-intensity focused ultrasound (HIFU) using a toroidal transducer for the creation of placental lesions.

Methods In this study we used a toroidal transducer, composed of 32 ring-shaped emitters with an ultrasound probe at the center, operating at a frequency of 2.5 MHz. We examined 45 human placentae, following either normal vaginal delivery or medical termination of pregnancy between 17 and 40 gestational weeks. First, the attenuation coefficients of 12 human placentae were measured and integrated into a numerical model for simulating HIFU lesions. Then, using acoustic parameters from this preliminary study, we performed *ex-vivo* experiments with 33 human placentae, each overlain with an animal abdominal wall to simulate the maternal wall. We created single HIFU lesions in 25 of these placentae, and a series of six juxtaposed lesions in eight, studying these both sonographically and macroscopically.

Results Human placental attenuation coefficients of the 12 human placentae ranged from 0.072 to 0.098 Np/cm/MHz, according to gestational age. The 25 single HIFU lesions created had an average diameter of 7.1 ± 3.2 mm and an average depth of 8.2 ± 3.1 mm. The average diameter of the eight series of six juxtaposed HIFU lesions was 23.0 ± 5.0 mm and the average depth was 11.0 ± 4.7 mm. The average thickness of the abdominal walls was 10.5 ± 1.8 mm. No lesions or damage were observed in intervening tissues.

Conclusion This study demonstrates, using an *ex-vivo* model, the feasibility, reproducibility, harmlessness and effectiveness of HIFU applied to the human placenta. Copyright © 2014 ISUOG. Published by John Wiley & Sons Ltd.

INTRODUCTION

The last 20 years have seen the development of fetal surgery, especially for the treatment of twin-to-twin transfusion syndrome (TTTS)^{1,2}. Although fetal surgery increases survival rate, fetoscopy is recognized as being invasive and responsible for fetal and maternal complications, which can affect neonatal outcome^{3–9}.

The emergence of high-intensity focused ultrasound (HIFU) for the treatment of localized tumors has been significant over the past two decades. The most distinctive characteristic of HIFU is its ability to destroy a preselected target located deep within tissue, without damage to overlying structures. The ultrasound beam can be focused, causing localized high temperatures (55–90 °C) for a few seconds, which produces a coagulative necrosis. Several applications have been developed (for the treatment of, for example, prostate cancer, uterine fibroid tumors, liver tumors and esophageal tumors) that are currently recognized as effective^{10–13}. However, studies that assess the feasibility and effectiveness of HIFU in fetal medicine are lacking, although some previous publications have described the possibility of using HIFU in obstetrics^{14,15}. Previously, we have studied a form of treatment by HIFU using a toroidal transducer for treating liver metastases^{16,17}. The principal interest lies in the creation of large HIFU lesions far from the transducer, the accurate targeting of localized zones in the tissues and the hemostatic properties^{18,19}. This technology could improve the management of many fetal diseases since neither perforation of the skin nor entry into the amniotic cavity is required.

The objective of this preliminary work was to assess the feasibility and reproducibility of the non-invasive creation of lesions using HIFU, with the toroidal transducer applied to the placental unit in an *ex-vivo* model.

Correspondence to: Dr J. Caloone, Laboratory of Therapeutic Applications of Ultrasound, 151 cours Albert Thomas, 69424 Lyon cedex 03, France (e-mail: jonathan.caloone@inserm.fr)

Accepted: 14 March 2014

METHODS

In this study we used a toroidal transducer, composed of 32 ring-shaped emitters of equal surface area (78 mm^2) and operating at a frequency of 2.5 MHz (Figure 1). The main characteristic of a toroidal transducer is that the focal zone observed in the focal plane is not an ellipsoid but a ring. In addition, owing to the geometrical characteristics of the torus envelope used for the transducer, the ultrasound beams intersect between the emitting surface and the principal focus to form a secondary focal zone, which contributes to reinforcing the homogeneity of the lesion at its center. In order to guide the treatment, a 7.5-MHz ultrasound imaging probe (Vermon SA, Tours, France) was placed at the center of the HIFU device and was connected to a BK HAWK 2012 EXL scanner (B-K Medical, Herlev, Denmark), with the ultrasound imaging plane aligned with the HIFU acoustic axis. Ultrasound transducers (both therapeutic and imaging) were placed in acoustic contact with the samples using an ultrasound degassed coupling fluid (Ablasonic[®], EDAP, Vaulx-en-Velin, France) that was contained in a sterile polyurethane envelope (CIV-Flex Transducer cover, CIVCO, Kalona, IA, USA), which also covered

the device. This envelope attenuated the ultrasound pressure by about 3–4% at 2.5 MHz. A continuous flow of 0.3 L/min maintained the degassed coupling water at 20 °C and allowed cooling of the HIFU transducer during the treatment. A peristaltic Masterflex pump (L/S model 7518–60, Cole-Parmer Instruments Co., Chicago, IL, USA) drove the water around a closed cooling circuit. The HIFU equipment was similar to that reported by Melodelima *et al.*²⁰.

Thirty-two channels of a 50-channel pattern generator (PG1050 Acute, Hsin Chuang City, Taiwan) generated 32 transistor–transistor logic (TTL) signals at the working frequency (2.5 MHz). Thirty-two power amplifiers (AHF 855, ADECE, Artannes, France) converted the TTL signals into amplified sine waves, which were required to drive the 32 individual transducers. The gain of each amplifier was adjusted using digital–analog output cards. Inside each amplifier, a directional coupler generated two voltages, which were directly proportional to the direct and reflected electrical power. Then, 2×32 voltages were captured by analog–digital input cards and recorded on the hard drive of a computer, which controlled both input/output cards and the pattern generator. Finally, the user interface displayed the position of the HIFU focal region superimposed on the sonogram, making it possible to locate the ablation in the tissues and visualize changes in echogenicity after treatment. The specific area exposed to HIFU was delimited using a target window.

The 45 human placentae used in the study were obtained after either normal vaginal delivery or vaginal evacuation following medical termination of pregnancy (TOP). Gestational age ranged from 17 to 40 weeks. Exclusion criteria were operative delivery, suspected placental histologic anomaly and absence of consent. The study was approved by our institutional review board and each participant provided signed informed consent.

The attenuation coefficient of 12 placentae was measured using the pulse-transmission technique. A hydrophone (ONDA HNR-0500, Sunnyvale, CA, USA) and a plane transducer ($15 \times 8 \text{ mm}^2$) operating at a central frequency of 3 MHz were placed in a tank filled with degassed water at 37 °C. A pulse composed of 40 cycles of a sinusoidal signal (10 V peak-to-peak), was generated by a function generator (Hewlett Packard model 33120A, Hewlett Packard, Palo Alto, CA, USA) and converted to acoustic waves by the transmitting plane transducer. The pulse-repetition rate was 100 Hz. The frequencies of sinusoidal signals applied to the transmitting plane transducer ranged from 2.3 to 3.9 MHz in 0.1-MHz increments. The radiofrequency signal from the receiving hydrophone was digitized at a sampling rate of 500 MHz, and displayed on a digital oscilloscope screen (LeCroy Digital Oscilloscope Model 354, Teledyne LeCroy, Chestnut Ridge, NY, USA). The average peak-to-peak amplitude (mV) was recorded. Pulses produced in water at 37 °C were used as reference signals. The attenuation coefficient of tissue, α_t , in Np/cm, was calculated using the following equation,

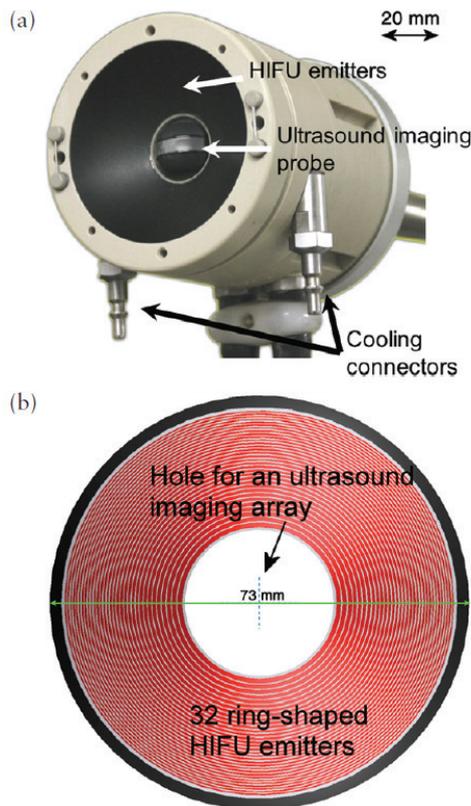


Figure 1 (a) View of the high-intensity focused ultrasound (HIFU) therapy device. (b) Schematic diagram of the toroidal HIFU transducer, which is divided into 32 elements of equal surface area (78 mm^2).

ignoring the attenuating effect of water:

$$\alpha_t = -\frac{1}{d} \ln \left(\frac{P_t}{P_w} \right)$$

where P_t is the received amplitude when the placenta is placed between the transmitting transducer and the hydrophone, P_w is the received amplitude when the placenta is not present in the beam path (reference path of water) and d is the thickness of the placenta. Ten measurements were made for each tissue sample at each frequency.

The attenuation coefficient (α) varies with frequency as:

$$\alpha(f) = af^b,$$

where coefficient a has units of Np/cm/MHz, f is the frequency in MHz, and coefficient b is dimensionless. The best-fit power-law method was used to find coefficients a and b from plots of attenuation coefficient *vs* frequency. The goodness of fit of best-fit power-law was determined using the R^2 -value.

A three-dimensional numerical simulation modeling the equivalent time at 43 °C, based on the resolution of the bio heat transfer equation first described by Chavrier *et al.*²¹, was used to estimate the best ultrasound exposure conditions before *ex-vivo* experiments. This model includes calculation of the harmonic attenuation and accounts for non-linear effects on ultrasound propagation arising from bubble oscillations present in biological tissues during HIFU treatment. The ultrasound exposures were then performed using beam steering capabilities that were identified with pressure field measurements and numerical modeling. The free-field acoustic power used was 90 W and the total exposure time for each single HIFU lesion was 55 s.

A toroidal transducer produces a ring-shaped focus in the principal focal plane¹⁹. Two ultrasound exposures were created using electronic beam steering to produce a single HIFU lesion. The depth of the ring-shaped focus can be adjusted electronically from 0 to 90 mm and the radius from 0 to 7.5 mm. Varying the exposure parameters makes it possible to create HIFU lesions of different sizes and located at different depths. For the experiments described here, the depth of the ring-shaped focus was adjusted to 60 mm and 70 mm and its radius was set at 0 and 2 mm. These values were found to be the best compromise between creating a HIFU lesion at depth without damaging overlying tissues and creating a large zone of ablation.

Based on the results of the numerical simulation work, *ex-vivo* experiments were then conducted. A sample of porcine abdominal wall composed of skin, fat and muscle was placed over the placental samples and cotyledons were positioned on the abdominal walls to simulate an anterior placenta. The average thickness of the abdominal walls was 10.5 ± 1.8 mm. The samples were then placed in a crystallizing dish filled with degassed water. The water used for all of the experiments contained between 2.5 and 3.5 mg O₂/L. The samples in the crystallizing dish were then degassed with a vacuum pump (0.7 bar for

30 min) prior to the experiment, to remove any bubbles that might have formed during the process. To minimize contact with air, the sample and degassed water were both transferred into an experimental tank containing degassed water. While underwater, the sample was placed in its holder, and a thermocouple was inserted into the placenta. The water in the tank was then heated to 37 °C using a thermostat, and the placental sample was allowed to reach 37 °C (which took approximately 60 min) before the start of the experiment.

In a first set of experiments in 25 placentae, single HIFU lesions were created. A 7.5 × 7.5-cm sample holder was used. An alignment system allowed placement of the acoustic axis of the HIFU probe along a groove of the holder, thereby enabling sectioning of the sample along a plane of symmetry.

In a second set of experiments in eight placentae, several individual HIFU lesions were created in close proximity ('juxtaposed lesions'). The HIFU device was attached to a motorized arm and positioned so that the envelope came into contact with the skin surface. The sample holder (23 × 12 cm) contained a groove identical to that used in the creation of single lesions. The HIFU device was positioned at the center of the sample holder, which allowed sectioning of the sample along the axis of the juxtaposition. The motorized system allowed micrometric displacement in all three dimensions. A displacement of 5 mm was made in one direction to juxtapose single lesions. A resting period of 2 min was used to ensure cooling of the transducer and the skin surface and to record sonograms between HIFU exposures. The juxtaposition was performed for two reasons: first, in order to assess the reproducibility of creation of the HIFU lesions, and second, in order to assess the possibility of creating a large zone of ablation and virtual dichorionization of the placental unit.

All samples were sectioned immediately after HIFU exposure, and photographs of the ablations were taken and stored and their dimensions measured using calipers.

RESULTS

In the initial (calibration) phase of the study, the 12 human placentae included were from pregnancies with a gestational age ranging from 17 to 40 weeks; four came from normal pregnancies delivered at 36–40 weeks and eight were from cases which underwent medical TOP (for Down syndrome ($n=5$), cystic fibrosis ($n=1$) or complex cardiopathy ($n=2$)) at 17–26 weeks. The mean attenuation coefficient increased with gestational age, ranging from 0.072 ± 0.004 Np/cm/MHz at 17 weeks to 0.098 ± 0.002 Np/cm/MHz at 40 weeks (Figure 2 and Table 1). Table 1 shows coefficients a and b of the power-law fit of the attenuation coefficient according to gestational age. An increase in ultrasound attenuation, as a function of increasing frequency, was observed in all tissues, independent of gestational age.

In the second phase of the study, all 25 of the human placentae used for creation of single HIFU lesions were

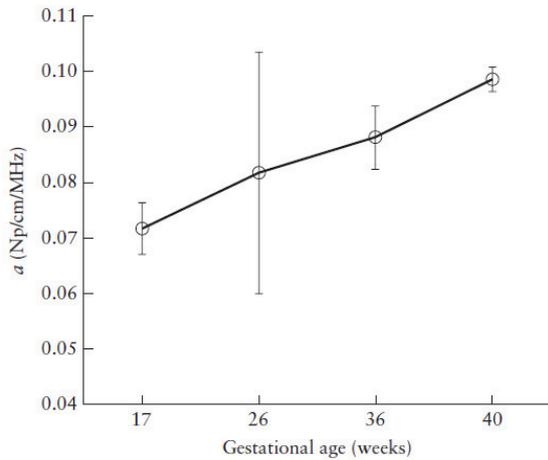


Figure 2 Attenuation coefficient (*a*) of human placental tissue at different gestational ages (*n* = 12). Data points represent average values for three to five samples, and error bars represent SD.

Table 1 Attenuation coefficient ($\alpha(f) = af^b$) for human placental tissue according to gestational age (GA)

GA (weeks)	n	<i>a</i> (Np/cm/MHz)	R ²	<i>b</i>
17	3	0.072 ± 0.004	0.94	1.5 ± 0.7
26	5	0.082 ± 0.020	0.97	1.4 ± 0.2
36	2	0.088 ± 0.005	0.82	1.3 ± 0.2
40	2	0.098 ± 0.002	0.86	1.1 ± 0.1

Values are given as mean ± SD (10 measurements were repeated for each tissue, for each frequency). *b*, non-linear coefficient; R², goodness-of-fit coefficient.

obtained from normal pregnancies, delivered at 36–40 weeks. The 25 HIFU lesions were created without damage to the abdominal wall. The total sonication time for each HIFU lesion was 55 s, and the free-field acoustic power used was 90 W. Macroscopically, the lesions appeared black, with a central hole (Figure 3). Previous work using the same HIFU device for hepatic applications has demonstrated that similar exposure time (40 s) allows the production of lesions even in more perfused organs like the liver¹⁸.

Of the eight human placentae used for testing the juxtaposition of HIFU lesions, four were obtained from normal pregnancies, delivered at 36–40 weeks, and four were obtained after medical TOP (for Down syndrome (*n* = 3) or cystic fibrosis (*n* = 1)) at 18–26 weeks. The acoustic parameters were identical to those used for the creation of single lesions. For each placenta included, six single lesions were juxtaposed. Macroscopically, the lesions were similar when compared with the single lesions obtained previously (Figure 4). The total time to juxtapose six single lesions was approximately 20 min. The dimensions of single HIFU lesions and juxtaposed HIFU lesions are given in Table 2.

Visualization of HIFU lesions in this *ex-vivo* model was difficult. HIFU lesions (single or multiple) were observed mainly as hyperechoic regions (Figure 5). This was mainly

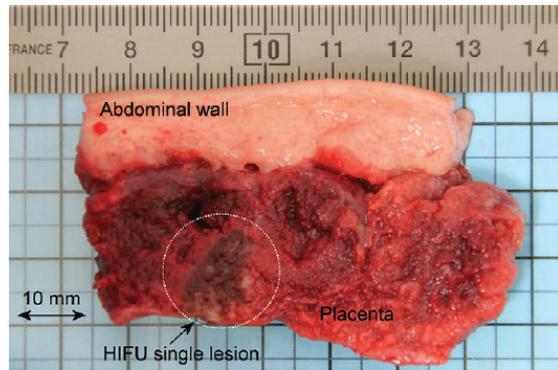


Figure 3 Single placental high-intensity focused ultrasound (HIFU) lesion created by a sonication 55 s in duration, with an acoustic power of 90 W.

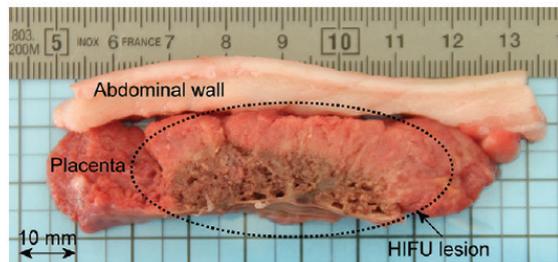


Figure 4 Juxtaposition of six single high-intensity focused ultrasound (HIFU) lesions in a human placenta. The HIFU device was displaced linearly with 5-mm steps and a resting period of 2 min between each HIFU exposure.

Table 2 Dimensions of lesions formed by high-intensity focused ultrasound (HIFU) in human placental tissue according to HIFU procedure

Type of lesion	Thickness of abdominal wall (mm)	Skin-lesion distance (mm)*	Diameter (mm)	Depth (mm)
Single HIFU (<i>n</i> = 25)	10.2 ± 1.8	17.9 ± 4.0	7.1 ± 3.2	8.2 ± 3.1
Juxtaposed HIFU (<i>n</i> = 8)	11.5 ± 1.7	17.5 ± 3.2	23.0 ± 5.0	11.0 ± 4.7

Values are given as mean ± SD. *Distance between top of skin and top of lesion.

owing to the presence of small gas bubbles in *ex-vivo* tissues, which promote boiling of tissues during HIFU treatment²². We would expect to achieve more reliable visualization of HIFU lesions under *in-vivo* conditions, as demonstrated by previous work using similar toroidal HIFU transducers^{23,24}.

DISCUSSION

Studies applying HIFU to fetal medicine are lacking. Recently, Okai *et al.*¹⁵ demonstrated that a spherical HIFU device could successfully treat a fetus with

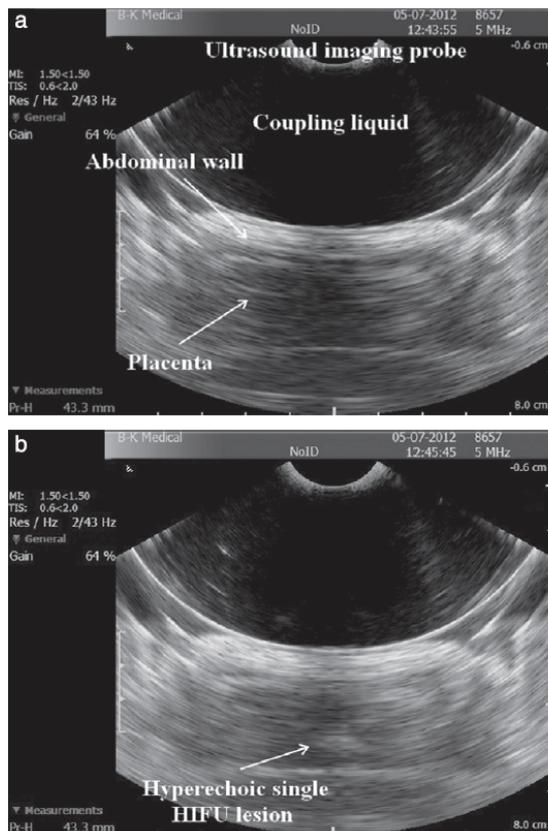


Figure 5 (a) Ultrasound images of human placenta obtained: (a) before a single high-intensity focused ultrasound (HIFU) exposure; (b) after a single HIFU exposure, showing the lesion as a hyperechoic region.

twin reversed arterial perfusion sequence. The toroidal transducer used in our study generates larger lesions significantly faster compared with a spherical transducer: a toroidal transducer can create a lesion at a rate of 10.5 mL/min¹⁷, whereas, using a spherical transducer, the rate of formation of a lesion is about 0.3 mL/min²⁵. In this work we report an *ex-vivo* model that simulates clinical conditions as closely as possible. We suggest that this toroidal transducer could induce placental lesions non-invasively, suggesting the possibility of therapeutic applications *in utero*, for example, in the treatment of placental tumors, twin reversed arterial perfusion, fetal tumors, placenta accreta and TTTS.

The attenuation coefficient of the human placenta at different gestational ages was assessed in order to determine a suitable HIFU treatment. The attenuation coefficient of placental tissue increased with gestational age, which could probably be attributed to changes in the histological nature of the placenta during gestation (placental calcifications, which appear during pregnancy, particularly towards the end). It is possible that Down syndrome placentae differ structurally from normal placentae, which might affect the attenuation

coefficient. However, for placentae obtained from normal pregnancies and Down syndrome pregnancies at the same gestational age, the average attenuation coefficients were very similar, which implies only a slight variability between the two types.

Unlike *in-utero* laser coagulation, we chose to induce placental necrosis at depth. The pathophysiology of TTTS is explained by the presence of arteriovenous anastomoses (AVA), which communicate at depth, and the lack of arterioarterial anastomoses (AAA), which are usually observed in this area of the placenta in twin pregnancy^{26,27}. We hypothesize a similar impact of placental coagulation at depth by HIFU, with an advantage regarding the protection of AAA, which are recognized as being essential for the intertwin hemodynamic balance. The HIFU approach can also be used for residual or microscopic anastomoses, which are usually observed in the depths of the placenta and are responsible for TTTS recurrence, twin anemia–polycythemia sequence (TAPS) and single or double *in-utero* death²⁸. Complete vascular equator coagulation with the ‘Solomon technique’ has been proposed for the treatment of these conditions and may reduce the incidence of iatrogenic TAPS and recurrence²⁹. Randomized studies that assess the relevance of this technique are lacking, but preliminary results show that this procedure could decrease the incidence of TAPS and recurrence^{30,31}. Using HIFU could theoretically allow both selective coagulation and dichorionization. The main advantage of HIFU is that it is a completely non-invasive procedure. Doppler imaging is currently unable to identify accurately the location of AVA and the delineation of the placental equator. Three-dimensional ultrasound imaging could be used for guiding HIFU treatment^{32,33}. Nevertheless, its utility for the localization of AVA or the placental equator remains to be assessed.

We observed no damage in tissues outside the focal zone. The depth of tissue between the emitter and the focal zone is not a limiting factor of HIFU application and depends on the settings of the transducer itself. A previous study has shown that it is possible to induce tissue necrosis with a distance greater than 10 cm between the transducer and the focal zone¹². The attenuation caused by the abdominal wall is important and increases as a function of its thickness. This can be compensated for by adjusting the HIFU exposure parameters. Focusing in clinical conditions remains to be investigated. In the present study, we observed slight variability (about 3 mm) between the depth of single and juxtaposed lesions. This could be explained by the cumulative heat deposited during juxtaposition. Nevertheless, the distance between the skin and the top of the HIFU lesions was similar in each situation, which confirms the accuracy of the technique. Additionally, the diameters of the juxtaposed HIFU lesions were correlated to the displacement of the transducer and the diameter of a single HIFU lesion.

There are several limitations to this study, which can be attributed to it being an *ex-vivo* model. First, the ultrasound image monitoring did not allow the effects of the treatment to be visualized. The lesions were

seen predominantly as hyperechoic regions with blurred contours. These findings are probably attributable to the naturally hyperechoic abdominal wall and the boiling of tissues induced by high temperatures. In previous work it was demonstrated that *in-vivo* conditions for liver treatment are a reliable delimitation of the treated volume when toroidal transducers are used²⁴. It is expected that monitoring will be better during *in-vivo* trials. Second, the *ex-vivo* model could not assess the effects of blood perfusion, although HIFU has been observed to induce tissue necrosis *in vivo* over a short period, reducing the effects of blood perfusion¹⁸. The effects of HIFU treatment on a perfused placenta remain unknown and will be investigated in future work. Nevertheless, the creation of rapid and large areas of placental necrosis *ex vivo* suggests that HIFU treatment should be effective *in vivo*. Third, although the time required for the HIFU procedure may be shorter than that needed for fetoscopy^{5–7}, the time between HIFU exposures is another limiting factor for obstetric applications; this could easily be improved with a better cooling circuit. In our study, the human placentae were *ex-vivo* tissues kept in degassed water at a temperature of 37°C for several hours. These experimental conditions may have induced rapid destruction of the placental tissues; this necrosis due to tissue degradation during the experiments may explain our difficulties in distinguishing microscopically the necrotic lesions created by HIFU. Future research is needed to evaluate more thoroughly these limiting points and the possible effects of fetal movements with *in-vivo* and clinical studies.

The location of the placenta is an additional limiting factor for the use of HIFU in cases of posterior placenta. The presence of the fetus between the HIFU device and the placenta would be a contraindication, at least for initial trials. On the other hand, application of HIFU could be easier and safer in anterior placentae, representing a good alternative therapy to fetoscopy, which is usually regarded as being difficult³⁴.

In conclusion, coagulation of human placental tissue appears to be feasible in about 55 s using a toroidal transducer with electronic focusing of the beam. The HIFU lesions were homogeneous and reproducible, without damage to overlying structures. The treatment appears to be simpler and more reliable to apply than are current ablative methods. Its potential clinical usefulness needs to be further validated based on preliminary *in-vivo* studies that will demonstrate the feasibility and efficiency, as well as maternal and fetal tolerance, of this treatment modality.

REFERENCES

- De Lia JE, Cruikshank DP, Keye WR Jr. Fetoscopic neodymium:YAG laser occlusion of placental vessels in severe twin-twin transfusion syndrome. *Obstet Gynecol* 1990; 75: 1046–1053.
- Ville Y, Hecher K, Ogg D, Warren R, Nicolaidis K. Successful outcome after Nd:YAG laser separation of chorioangiopagus-twins under sonoendoscopic control. *Ultrasound Obstet Gynecol* 1992; 2: 429–431.
- Senat MV, Deprest J, Boulvain M, Paupe A, Winer N, Ville Y. Endoscopic laser surgery versus serial amnioreduction for severe twin-to-twin transfusion syndrome. *N Engl J Med* 2004; 351: 136–144.
- Habli M, Bombrys A, Lewis D, Lim FY, Polzin W, Maxwell R, Crombleholme T. Incidence of complications in twin-twin transfusion syndrome after selective fetoscopic laser photocoagulation: a single-center experience. *Am J Obstet Gynecol* 2009; 201: 417.e1–7.
- Yamamoto M, El Murr L, Robyr R, Leleu F, Takahashi Y, Ville Y. Incidence and impact of perioperative complications in 175 fetoscopy-guided laser coagulations of chorionic plate anastomoses in fetofetal transfusion syndrome before 26 weeks of gestation. *Am J Obstet Gynecol* 2005; 193: 1110–1116.
- Cruz-Martinez R, Van Mieghem T, Lewi L, Eixarch E, Cobo T, Martinez JM, Deprest J, Gratacos E. Incidence and clinical implications of early inadvertent septostomy after laser therapy for twin-twin transfusion syndrome. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2011; 37: 458–462.
- Cincotta RB, Gray PH, Gardener G, Soong B, Chan FY. Selective fetoscopic laser ablation in 100 consecutive pregnancies with severe twin-twin transfusion syndrome. *Aust N Z J Obstet Gynaecol* 2009; 49: 22–27.
- Robyr R, Lewi L, Salomon LJ, Yamamoto M, Bernard JP, Deprest J, Ville Y. Prevalence and management of late fetal complications following successful selective laser coagulation of chorionic plate anastomoses in twin-to-twin transfusion syndrome. *Am J Obstet Gynecol* 2006; 194: 796–803.
- Lopriore E, Ortibus E, Acosta-Rojas R, Le Cessie S, Middeldorp JM, Oepkes D, Gratacos E, Vandenbussche FP, Deprest J, Walther FJ, Lewi J. Risk factors for neurodevelopmental impairment in twin-twin transfusion syndrome treated with fetoscopic laser surgery. *Obstet Gynecol* 2009; 113: 361–366.
- Crouzet S, Murat FJ, Pasticier G, Cassier P, Chapelon JY, Gelet A. High intensity focused ultrasound (HIFU) for prostate cancer: current clinical status, outcomes and future perspectives. *Int J Hyperthermia* 2010; 26: 796–803.
- Kim YS, Keserci B, Partanen A, Rhim H, Lim HK, Park MJ, Kohler MO. Volumetric MR-HIFU ablation of uterine fibroids: role of treatment cell size in the improvement of energy efficiency. *Eur J Radiol* 2012; 81: 3652–3659.
- Wu F, Wang ZB, Chen WZ, Zhu H, Bai J, Zou JZ, Li KQ, Jin CB, Xie FL, Su HB. Extracorporeal high intensity focused ultrasound ablation in the treatment of patients with large hepatocellular carcinoma. *Ann Surg Oncol* 2004; 11: 1061–1069.
- Melodelima D, Prat F, Fritsch J, Theillere Y, Cathignol D. Treatment of esophageal tumors using high intensity intraluminal ultrasound: first clinical results. *J Transl Med* 2008; 6: 28.
- Denbow ML, Rivens IH, Rowland IJ, Leach MO, Fisk NM, ter Haar GR. Preclinical development of noninvasive vascular occlusion with focused ultrasonic surgery for fetal therapy. *Am J Obstet Gynecol* 2000; 182: 387–392.
- Okai T, Ichizuka K, Hasegawa J, Matsuoka R, Nakamura M, Shimodaira K, Sekizawa A, Kushima M, Umemura S. First successful case of non-invasive *in-utero* treatment of twin reversed arterial perfusion sequence by high-intensity focused ultrasound. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2013; 42: 112–114.
- Parmentier H, Melodelima D, N'Djin A, Chesnais S, Chapelon JY, Rivoire M. High-intensity focused ultrasound ablation for the treatment of colorectal liver metastases during an open procedure: study on the pig. *Ann Surg* 2009; 249: 129–136.
- Melodelima D, N'Djin A, Parmentier H, Chesnais S, Rivoire M, Chapelon JY. Ultrasound surgery with a toric transducer allows the treatment of large volumes over short periods of time. *Applied Physics Letters* 2007; 91: 193901.
- Melodelima D, N'Djin WA, Favre-Cabrera J, Parmentier H, Rivoire M, Chapelon JY. Thermal ablation produced using

- a surgical toroidal high-intensity focused ultrasound device is independent from hepatic inflow occlusion. *Phys Med Biol* 2009; 54: 6353–6368.
19. N'Djin WA, Melodelima D, Schenone F, Rivoire M, Chapelon JY. Assisted hepatic resection using a toroidal HIFU device: an in vivo comparative study in pig. *Med Phys* 2011; 38: 1769–1778.
 20. Melodelima D, Salomir R, Mougnot C, Moonen C, Cathignol D. 64-element intraluminal ultrasound cylindrical phased array for transesophageal thermal ablation under fast MR temperature mapping: an ex vivo study. *Med Phys* 2006; 33: 2926–2934.
 21. Chavrier F, Chapelon JY, Gelet A, Cathignol D. Modeling of high-intensity focused ultrasound-induced lesions in the presence of cavitation bubbles. *J Acoust Soc Am* 2000; 108: 432–440.
 22. N'Djin WA, Melodelima D, Parmentier H, Chesnais S, Rivoire M, Chapelon JY. Utility of a tumor-mimic model for the evaluation of the accuracy of HIFU treatments. Results of in vitro experiments in the liver. *Ultrasound Med Biol* 2008; 34: 1934–1943.
 23. Melodelima D, N'Djin WA, Parmentier H, Chesnais S, Rivoire M, Chapelon JY. Thermal ablation by high-intensity-focused ultrasound using a toroid transducer increases the coagulated volume. Results of animal experiments. *Ultrasound Med Biol* 2009; 35: 425–435.
 24. Chenot J, Melodelima D, N'Djin WA, Souchon R, Rivoire M, Chapelon JY. Intra-operative ultrasound hand-held strain imaging for the visualization of ablations produced in the liver with a toroidal HIFU transducer: first in vivo results. *Phys Med Biol* 2010; 55: 3131–3144.
 25. Poissonnier L, Chapelon JY, Rouvière O, Curiel L, Bouvier R, Martin X, Dubernard JM, Gelet A. Control of prostate cancer by transrectal HIFU in 227 patients. *Eur Urol* 2007; 51: 381–387.
 26. Machin GA. Placental vascular anatomy and twin transfusion syndrome. *Am J Obstet Gynecol* 1996; 174: 799–800.
 27. Denbow ML, Cox P, Taylor M, Hammal DM, Fisk NM. Placental angioarchitecture in monochorionic twin pregnancies: relationship to fetal growth, fetofetal transfusion syndrome, and pregnancy outcome. *Am J Obstet Gynecol* 2000; 182: 417–426.
 28. Lewi L, Jani J, Cannie M, Robyr R, Ville Y, Hecher K, Gratacos E, Vandecruys H, Vandecaveye V, Dymarkowski S, Deprest J. Intertwin anastomoses in monochorionic placentae after fetoscopic laser coagulation for twin-to-twin transfusion syndrome: is there more than meets the eye? *Am J Obstet Gynecol* 2006; 194: 790–795.
 29. Chalouhi GE, Essaoui M, Stirnemann J, Quibel T, Deloison B, Salomon L, Ville Y. Laser therapy for twin-to-twin transfusion syndrome (TTTS). *Prenat Diagn* 2011; 31: 637–646.
 30. Ruano R, Rodo C, Peiro JL, Shamsirsaz AA, Haeri S, Nomura ML, Salustiano EM, de Andrade KK, Sangi-Haghpeykar H, Carreras E, Belfort MA. Fetoscopic laser ablation of placental anastomoses in twin-twin transfusion syndrome using the 'Solomon technique'. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2013; 42: 434–439.
 31. Baschat AA, Barber J, Pedersen N, Turan OM, Harman CR. Outcome after fetoscopic selective laser ablation of placental anastomoses vs equatorial laser dichorionization for the treatment of twin-to-twin transfusion syndrome. *Am J Obstet Gynecol* 2013; 209: 234.e1–8.
 32. Taylor MJ, Farquharson D, Cox PM, Fisk NM. Identification of arterio-venous anastomoses *in vivo* in monochorionic twin pregnancies: preliminary report. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2000; 16: 218–222.
 33. Huster KM, Haas K, Schoenborn J, McVean D, Odibo AO. Reproducibility of placental volume and vasculature indices obtained by 3-dimensional power Doppler sonography. *J Ultrasound Med* 2010; 29: 911–916.
 34. Deprest JA, Van Schoubroeck D, Van Ballaer PP, Flageole H, Van Assche FA, Vandenberghe K. Alternative technique for Nd:YAG laser coagulation in twin-to-twin transfusion syndrome with anterior placenta. *Ultrasound Obstet Gynecol* 1998; 11: 347–352.

2. Non-invasive high-intensity focused ultrasound treatment of the placental unit: Preliminary

In-vivo study using a monkey model of pregnancy

J. Caloone^{1,2}, C.Huissoud^{2,3}, A. Kocot¹, J. Vincenot¹, C. Dehay³, P. Giroud³, P. Misery³, F. Allias⁴, R.C Rudigoz², D. Melodelima¹

¹Inserm, U1032, LabTau, Lyon, F-69003, France ; Université de Lyon, Lyon, F-69003, France

²Department of Obstetrics and Gynecology, Croix Rouse University Hospital, Lyon, F-69004, France

³Stem Cell and Brain Research Institute, Institut National de la Sante et de la Recherche Médicale U846, 18 avenue du Doyen Lepine, Bron, France; Université de Lyon, Université Lyon I, 69003 Lyon, France

⁴Department of Pathology, Croix Rouse University Hospital, Lyon, F-69004, France

Correspondance to jonathan.caloone@inserm.fr, Laboratory of Therapeutic Applications of Ultrasound, 151 cours Albert Thomas, 69424 Lyon cedex 03, France

Telephone : + 33 4 72 68 19 30

Fax : + 33 4 72 68 19 31

Article accepté dans l'Ultrasound in Obstetrics and Gynecology (IF : 4.71).

Non-invasive high-intensity focused ultrasound treatment of the placenta: a preliminary *in-vivo* study using a simian model

J. CALOONE^{1,2,3}, C. HUISSOUD^{3,4}, A. KOCOT^{1,2}, J. VINCENOT^{1,2}, C. DEHAY⁴, P. GIROUD⁴, P. MISERY⁴, F. ALLIAS^{2,5}, R. C. RUDIGOZ³ and D. MELODELIMA^{1,2}

¹Inserm, U1032, Laboratory of Therapeutic Applications of Ultrasound, Lyon, France; ²Université de Lyon, Lyon, France; ³Department of Obstetrics and Gynecology, Croix Rousse University Hospital, Lyon, France; ⁴Stem Cell and Brain Research Institute, Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale U846, Bron, France; ⁵Department of Pathology, Croix Rousse University Hospital, Lyon, France

KEYWORDS: extracorporeal; HIFU; high-intensity focused ultrasound; monkey; placental unit; twin-to-twin transfusion syndrome

ABSTRACT

Objective To demonstrate the feasibility and efficacy of high-intensity focused ultrasound (HIFU) for the non-invasive creation of placental lesions in a simian model.

Methods Eight pregnant monkeys were exposed to HIFU treatment after anesthesia, using a toroidal HIFU 2.5-MHz transducer with an integrated ultrasound imaging probe. Lesions on the placental tissue were created non-invasively by placing the HIFU probe on the skin surface. Fetal and maternal parameters, such as maternal heart rate, fetal heart rate and subcutaneous and intra-amniotic fluid temperature, were recorded during HIFU exposure. Cesarean section was performed immediately after the procedure to extract the placenta and examine the fetus and the maternal abdominal cavity. Placental HIFU lesions were assessed by ultrasound, gross pathology and histology.

Results The mean gestational age of the monkeys was 72 ± 4 days. In total, 13 HIFU procedures were performed. The acoustic power and exposure time were increased progressively. This gradual increase in total energy delivered was used to determine a set of parameters to create reproducible lesions in the placenta without complications. ~~Six~~ ^{Five} placental lesions were observed with average diameters of 6.4 ± 0.5 mm and 7.8 ± 0.7 mm and an average depth of 3.8 ± 1.5 mm. Ultrasound examination of the placentae revealed hyperechoic regions that correlated well with macroscopic analysis of the HIFU lesions. Necrosis of placental tissue exposed to HIFU was confirmed with macroscopic and microscopic

analysis. There was no significant variation in maternal and fetal parameters during HIFU exposure.

Conclusions This study demonstrates the feasibility of HIFU applied non-invasively to the placental unit in an *in-vivo* pregnant monkey model. The technique is safe in the immediate short term and is potentially translatable to human pregnancy. Copyright © 2016 ISUOG. Published by John Wiley & Sons Ltd.

INTRODUCTION

Fetal medicine has experienced significant developments in the last two decades, especially regarding fetal therapy. Fetal surgery represents a promising approach for several fetal diseases, particularly for the treatment of twin-to-twin transfusion syndrome (TTTS)^{1,2}. Although fetoscopy is associated with an increased survival rate, it is also considered invasive and responsible for fetal and maternal complications that can affect neonatal outcome^{3,4}. These complications are partly associated with the opening of the amniotic cavity. In the context of TTTS, a non-invasive treatment that could occlude deep anastomoses would avoid the risks of invasive fetoscopy while offering an effective therapy.

The efficacy of high-intensity focused ultrasound (HIFU) has been proven clinically for non-invasive tissue ablation when applied to the brain, uterine fibroids, bones and liver⁵⁻⁸. Ultrasound waves are commonly generated by a spherical piezoelectric transducer and directed harmlessly across the skin and intervening tissue. Only at the focus of the transducer can a combination of thermal and mechanical effects produce highly localized tissue

Correspondence to: Dr J. Caloone, Laboratory of Therapeutic Applications of Ultrasound, 151 Cours Albert Thomas, 69424 Lyon Cedex 03, France (e-mail: jonathan.caloone@inserm.fr)

Accepted: 24 October 2016

destruction⁹. The shape of the lesion following a single HIFU exposure will vary according to the transducer characteristics, but it is typically ellipsoidal. Diagnostic imaging could be performed to identify target tissue and monitor tissue responses, supporting HIFU as a possible option for non-invasive fetal therapy. We have previously developed a toroidal HIFU transducer that enables the destruction of large areas of tissue¹⁰. In a recent study, we demonstrated the ability of this toroidal transducer to induce lesions in the human placenta, in an *ex-vivo* model, without damaging intervening tissue¹¹. However, testing the fetal–maternal safety of ultrasound-guided HIFU to create placental lesions in an animal model of pregnancy is an essential preliminary step before commencing human clinical trials. While no model can truly represent twin placentation, the pregnant monkey provides a good substitute. The pregnant monkey is an ideal animal to study the different treatment options available for placental abnormalities owing to its similar anatomy and physiology to those of humans.

Here, we report a feasibility study using a monkey model of pregnancy. The objectives of this study were: (1) to evaluate the feasibility and reproducibility of creating HIFU lesions in the placenta of pregnant monkeys *in vivo*; (2) to examine the lesions produced using ultrasound, gross pathology and microscopy; and (3) to evaluate local and general tolerance to the treatment.

SUBJECTS AND METHODS

HIFU equipment

A toroidal ultrasound transducer (Imasonic, Voray-sur-l'ognon, France) with a radius of curvature of 70 mm and a diameter of 67 mm was used. The operating frequency was 2.5 MHz. The transducer was divided into 32 independent concentric rings of equal surface area (78 mm²). Unlike the focus of a spherical transducer which is ellipsoidal in shape, a toroidal transducer creates two focal zones, the principal one being ring shaped and located at the radius of curvature of the transducer. Because of the geometric characteristics of a torus, the ultrasound beams intersect between the principal focal ring and the transducer surface to form a secondary focal zone. This secondary focal zone reinforces the homogeneity of the lesion. The toroidal geometry used in this study has been shown previously to be appropriate for intraoperative use¹². The focal zones are positioned precisely to ablate tissue between the surface and a predetermined depth, as defined by preliminary numerical simulations. A 7.5-MHz (bandwidth, 55%) phased-array ultrasound imaging probe (Vermon, Tours, France) was placed in the center of the therapy transducer and connected to a BK HAWK 2102 EXL ultrasound system (BK Medical, Herlev, Denmark) to guide treatment. The ultrasound imaging plane was aligned with the HIFU acoustic axis. In this study, the imaging probe was used to identify the treatment area before HIFU and to visualize the lesions after it. The transducer was guided by a

system described elsewhere¹³. A polyurethane envelope containing a degassed liquid (Ablasonic®, Edap TMS, Vaulx-en-Velin, France) was used to cool the transducer and provide acoustic coupling with the surface of the organ.

Animals

Trials were conducted on eight pregnant cynomolgus monkeys (*Macaca fascicularis*) at an average gestational age of 72 ± 4 days. The normal duration of gestation in the cynomolgus monkey is approximately 180 days. In our experience, a placenta bipartita is present in 75% of cases and this is the principal structural difference from the human placenta.

All experiments were carried out in compliance with national and European legislation, as well as with institutional guidelines concerning animal experimentation. Surgical procedures were carried out in accordance with European requirement 2010/63/UE. The protocol was reviewed and approved by the Animal Care and Use Committee CELYNE (C2EA #42).

HIFU procedure

Following premedication with atropine (1.25 mg i.m.) and dexamethasone (4 mg ~~IM~~), pregnant monkeys were prepared for treatment under ketamine hydrochloride (20 mg/kg ~~IM~~) and chlorpromazine (2 mg/kg ~~IM~~). After intubation, anesthesia was continued with isoflurane in a 70:30 N₂O/O₂ mixture. Heart rate was monitored and artificial respiration was adjusted to maintain end-tidal CO₂ at 4.5–6%. Rectal temperature was monitored continuously throughout the procedure. Fetal heart rate was recorded using a 2-MHz Sonicaid Doppler machine (Huntleigh Technologies, Cardiff, UK). Values were recorded before, during and after HIFU exposure. The animals were placed in a dorsal decubitus position and the skin was shaved at the location of the treatment. A short skin incision was made after skin asepsis to insert two thin (0.33-mm diameter) thermocouples (MT-29, Physitemp, Clifton, NJ, USA) to measure the subcutaneous and intra-amniotic temperatures. The thermocouples were placed within the HIFU beam under ultrasound guidance. Several HIFU exposures were performed and the subcutaneous sensor was repositioned after each exposure. The positioning of the HIFU device and the surgical procedure performed after exposure are shown in Figure 1. Ultrasound images were acquired to determine the region in the placenta to be treated and to measure the thickness of the abdominal wall, myometrium and placenta. These preliminary images were acquired with a 12-MHz imaging probe (BK Medical) for high resolution. The HIFU device was then placed on the skin of the animal (Figure 1) and the targeted region in the placenta was visualized using the ultrasound imaging probe integrated within the HIFU device. The focus of the transducer was placed at the placenta by adjusting electronically the depth of focus and by changing the quantity of water

i.m.
③/

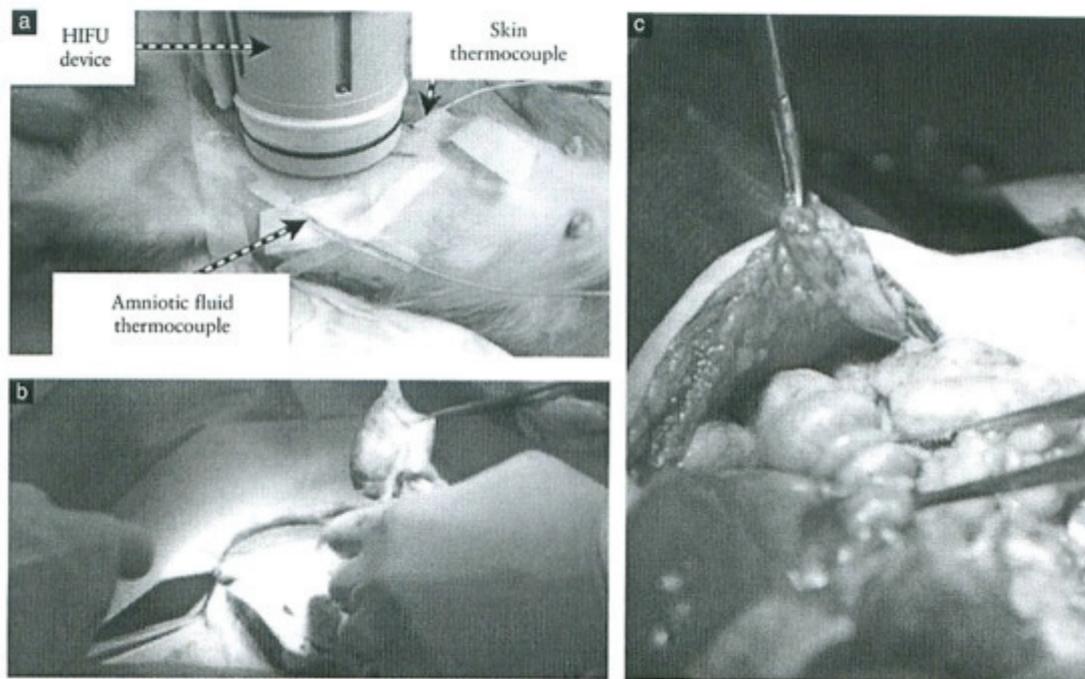


Figure 1 (a) High-intensity focused ultrasound (HIFU) procedure on pregnant monkey after placement of skin and intra-amniotic thermocouples. (b) Cesarean section and extirpation of placenta. (c) Gross examination of abdominal cavity and fetus to assess for complications.

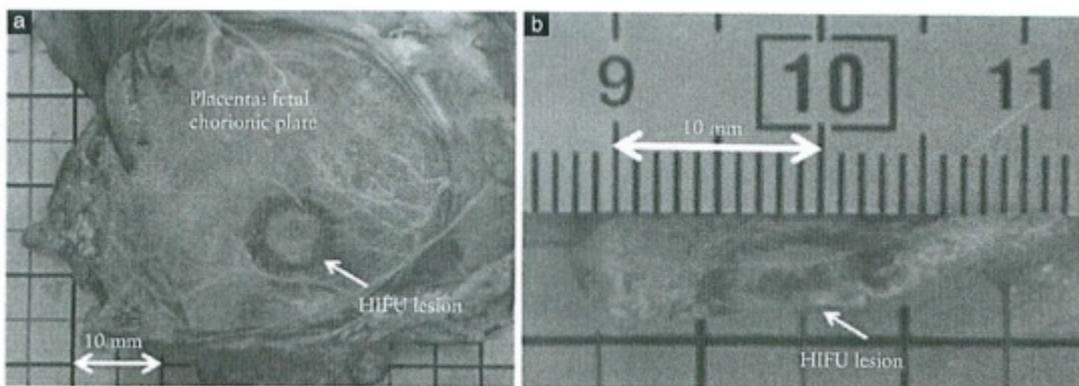


Figure 2 (a) Placental lesion on fetal chorionic plate of a monkey created using toroidal high-intensity focused ultrasound (HIFU) device. (b) Same lesion visualized in sagittal plane; fetal side is at top of image.

in the envelope covering the transducer, according to the thickness of different tissues (skin, muscle, fat and myometrium) between the transducer and the placenta.

Single HIFU lesions were created after confirmation of adequate placement of the focus at the targeted placental area. In a preliminary *in-vitro* study, we determined that a free-field acoustic power of 90 W applied for 55 s was necessary for ablating human placental tissue¹¹. For *in-vivo* application in the pregnant monkey model, we decided, after additional numerical simulations, to

start the experiments with a lower acoustic power and shorter exposure time, and to gradually increase them. The parameters that were used in this study were acoustic powers of 65, 80, 110 and 120 W applied for 30, 15/20 s. This gradual increase in the total energy delivered was chosen to determine the best compromise for creating a large HIFU lesion without damaging overlying tissues. Between one and three HIFU lesions were created in each animal with the aim of macroscopically and microscopically describing clearly their characteristics.

and/

T1
T2

(this page please)

① Occurrence of this complication

Caloone et al.

4.6
 Ultrasound images of the placenta were acquired immediately after HIFU treatment and the dimensions and characteristics of the HIFU lesions were compared with the gross pathology.

~~That this happened~~ only after three repeat exposures ^{at} had been made in the same location, suggests a large safety margin in the upper dose threshold. Table 2 describes the acoustic parameters used, maternal and fetal characteristics (thickness of the abdominal wall, placenta and uterine walls), size of placental lesions and ^{observed complication} possible side-effects for each exposure.

Surgical procedure

7/7
 A midline abdominal incision was performed for uterotomy and the fetus and placenta were carefully extracted. After uterotomy closure, an abdominal inspection was undertaken to identify potential lesions in the maternal tissue, mainly the abdominal cavity. A macroscopic examination of the fetus was performed to verify potential fetal complications. The aponeurosis and skin were closed using Vicryl 2.0. The animals received postoperative medication ^{consisting of an analgesic} (ketoprofen 2 mg/kg and buprenorphine 0.01 mg/kg). Placentae were fixed in 5% formaldehyde for 2 days, and hematoxylin-eosin-saffron-stained slides were prepared for histological examination. In the presence of fetal damage, microscopic examination of the fetal tissue was performed.

HIFU lesions were identified with ultrasound using the imaging probe integrated in the HIFU device at a frequency of 12 MHz. Lesions were visible as hyperechoic regions (Figure 3). One HIFU lesion was created in the posterior placenta and five were created in the anterior placenta. All six lesions were identified on ultrasound. The average diameter and depth of the HIFU lesions on ultrasound were 7.7 ± 0.5 mm and 4.8 ± 1.0 mm, respectively. The dimensions measured by ultrasound were similar to those from gross pathology, with a correlation coefficient r^2 of 0.91 ($P < 0.05$) for diameter and 0.89 ($P < 0.05$) for depth. $r^2 = 0.91$

Histological examination demonstrated coagulative necrosis within the core of the lesion (Figure 4). Terminal villi were split with trophoblast desquamation, mesenchymal involution and fibrinoid deposits containing fragmented red blood cells. Congestion and hemorrhagic villitis were seen at the border of the lesion. No damage was seen in the chorionic vessel walls or endothelial cells. There was no inflammation.

RESULTS

Mean gestational age of the animals was 72 ± 4 days (Table 1). In total, 13 HIFU exposures were performed and six placental lesions were observed. The first placental lesion was created using an acoustic power of 80 W applied for 30 s. The diameters of this lesion were 10.2 mm and 9.8 mm and its depth was 5.6 mm, corresponding to the thickness of the placenta macroscopically. The thickness of the tissue (skin, fat, muscle and myometrium) between the transducer and the placenta was 13.5 mm. There was no secondary lesion in the intervening tissue. These parameters were tested twice, but only one lesion was created, indicating that no reproducible ablation could be achieved under these exposure conditions.

7/7
 The energy delivered to the tissues was increased to an acoustic power of 120 W and an exposure time of 20 s, and five lesions at different locations in two cases were created. Under these exposure conditions, the average diameters of the lesions were 6.4 ± 0.5 mm and 7.8 ± 0.7 mm, macroscopically (Table 2). On average, the depth of the lesions was 3.8 ± 1.5 mm for an average placental thickness of 6.7 ± 1.1 mm. These lesions were created in the deepest part of the placenta, where arteriovenous anastomoses typically lie. The lesions appeared macroscopically as white in color with well-defined hemorrhagic margins (Figure 2). No lesion was created using other exposure parameters.

1 case 6/7
 For all experiments, there was no significant change in fetal or maternal parameters during or after HIFU exposure (Table 1). During Cesarean section, a maternal lesion was observed in one monkey. This lesion was a uterine burn of 12.7×9.7 mm, associated with a fetal skin burn of 15.0×6.0 mm. These two secondary lesions were created with an acoustic power of 120 W applied for 20 s but repeated three times at the same location.

DISCUSSION

This study demonstrates, in a monkey model of pregnancy, the feasibility of HIFU exposure in the placenta as a potential tool for the treatment of TTTS. In the female cynomolgus monkey, several anatomical and physiological characteristics during gestation are highly similar to those in human pregnancy, making the pregnant cynomolgus monkey a good model for fetal therapy assessment. In particular, the uterus and placenta share the same shape and structure when compared with humans. Another study has assessed the potential effect of HIFU treatment for TTTS using a sheep model¹⁴. The sheep model provided organs with comparable volume to those in humans but was unable to demonstrate the ability of HIFU to accurately target placental tissues non-invasively. This preclinical study in monkeys is the first to assess the application of non-invasive HIFU in placental disease with a clinical perspective.

Five HIFU lesions were created in the anterior placenta and one was created in the posterior placenta. The possibility of performing a truly non-invasive treatment using HIFU is of major importance because all other techniques remain invasive and expose pregnant women to several complications¹⁵⁻¹⁷. Treatment of a posterior placenta using HIFU exposes the fetus to some complications. Currently, HIFU treatment should be used only for an anterior placenta, whereas fetoscopy appears easier and safer for a posterior placenta¹⁸. Unlike during HIFU treatment, laser protocols allow for emergency

Table 1 Maternal and fetal characteristics of eight pregnant monkeys undergoing high-intensity focused ultrasound treatment of the placenta

Characteristic	Value (mean ± SD)
Gestational age (days)	72 ± 4
Maternal weight (kg)	47.20 ± 8.63
Maternal heart rate (bpm)	
Before exposure	137 ± 10.0
During exposure	127 ± 7.5
5 min after exposure	126 ± 7.1
Subcutaneous temperature (°C)	
Before exposure	24.6 ± 3.7
During exposure	27.5 ± 2.1
5 min after exposure	29.8 ± 2.4
Intra-amniotic temperature (°C)	
Before exposure	34.1 ± 1.0
During exposure	34.3 ± 1.1
5 min after exposure	34.3 ± 1.4
Fetal heart rate (bpm)	
Before exposure	122 ± 4
During exposure	123 ± 4
5 min after exposure	123 ± 4

Ten measurements were recorded for each parameter except gestational age and maternal weight, for which eight measurements were recorded. bpm, beats per min.

amniotic drainage, however [this could be carried out after a HIFU procedure by the normal technique.

The placental lesions were created extracorporeally under ultrasound guidance in only 20 s. These lesions were confirmed by histological analysis and were highly reproducible. The thickness of the placenta in a pregnant monkey is only a few (4–7) millimeters and the technique requires precise focusing. The device described in this study allows for the precise focus of an ultrasound beam to create well-defined lesions in the placenta without treating the entire thickness of the organ. The brevity of the HIFU treatment limits the effect of maternal breathing

and fetal movement. Unlike spherical transducers, the toroidal transducer offers the possibility of creating large lesions in a short time, as well as of occluding blood vessels up to 5 mm in diameter^{19,20}. It is expected that HIFU will be able to coagulate vessels and not induce ruptures but this will be further investigated. Previous studies using a similar HIFU device demonstrated that HIFU can occlude vessels of less than 6 mm in diameter and does not rupture vessels and anastomoses²⁰.

Dichorionization has been proposed for the treatment of TTTS and could reduce the recurrence of TTTS and iatrogenic twin anemia–polycythemia sequence^{21–23}. Unlike fetoscopy, coagulation using HIFU for treatment of TTTS depends on the depth of the placenta. Because the arteriovenous anastomoses communicate at depth, HIFU may have the potential to replicate the selective vascular blood occlusion achieved by laser, while preserving vital anastomoses^{24,25}. Selective coagulation of placental vessels using an ultrasound-guided HIFU device is theoretically possible, however, at present color Doppler has not been considered efficient enough for immediate application²⁶. On the other hand, locating the virtual equator by ultrasound remains difficult, which would limit the possibility of performing dichorionization by HIFU. Clinically, creating serial HIFU lesions along the placental equator for dichorionization could perhaps be facilitated by the use of a three-dimensional ultrasound imaging probe incorporated into the clinical HIFU device. The effect of a large placental coagulation on fetal hemodynamic balance and on the intertwin vascular distribution needs to be established clinically by long-term studies. In our opinion, in order to limit adverse fetal effects, coagulation should not exceed 20% of the placental volume.

To find the best compromise between the creation of a placental lesion and preservation of intervening tissue, the acoustic power and time of exposure were increased gradually. In our numerical and *in-vitro* optimization

Table 2 Parameters of high-intensity focused ultrasound (HIFU), thicknesses of maternal compartment and placenta, macroscopic dimensions of HIFU placental lesions and complications in eight pregnant monkeys

Case	Number of HIFU exposures	Acoustic power (W)	Exposure duration (s)	Energy (J)	Abdominal wall thickness (mm)	Uterine wall thickness (mm)	Placental thickness (mm)	Diameter of lesion (mm)	Depth of lesion (mm)	Complications
1	1	65	30	1950	7.0	2.7	5.7	—	—	—
2	1	80	30	2340	13.5	5.3	7.8	10.2 × 9.8	5.6	—
3	1	80	30	2340	7.4	2.4	7.4	—	—	—
4	1	80	15	1185	10.1	2.9	7.2	—	—	—
5	1	110	20	1680	13.0	3.0	8.6	—	—	—
6	1*	120	20	2240	10.9	2.3	6.7	—	—	—
	1*	120	20	2440	11.7	2.4	7.6	—	—	—
	1*	120	20	2240	12.0	2.0	6.3	—	—	Fetal burn (15.0 × 6.0 mm) Uterine burn (12.7 × 9.7 mm)
7	1	120	20	2440	11.8	2.0	7.0	8.0 × 6.0	6.0	—
	1	120	20	2440	12.0	2.0	6.7	7.5 × 6.5	3.5	—
8	1	120	20	2440	10.7	3.3	5.7	8.4 × 7.2	2.7	—
	1	120	20	2440	4.7	3.2	5.7	7.3 × 6.2	3.7	—
	1	120	20	2440	4.4	2.0	8.4	7.8 × 5.9	3.2	—

*Repeat exposure at same location.

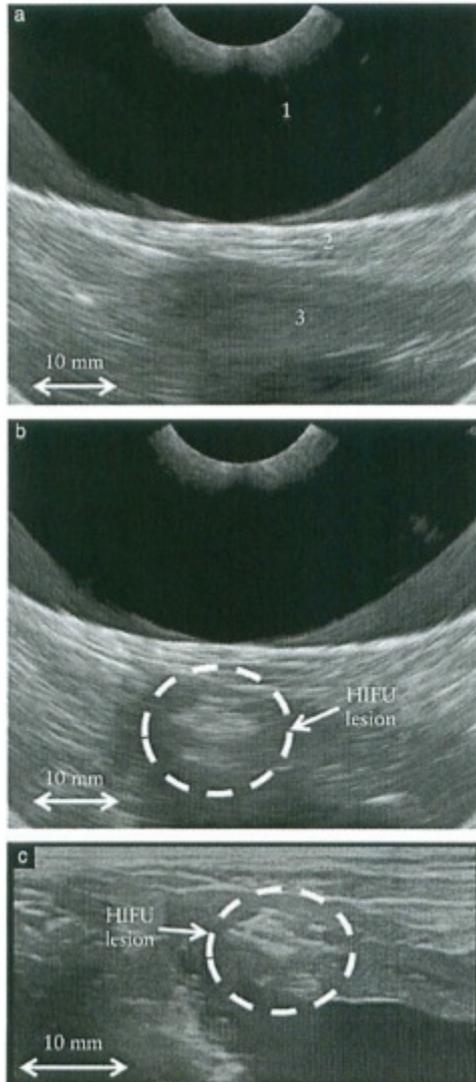


Figure 3 Ultrasound monitoring of high-intensity focused ultrasound (HIFU) treatment in pregnant monkey model. (a) Ultrasound image obtained using imaging probe (7.5 MHz) integrated into HIFU device. 1, envelope containing coupling and cooling water; 2, abdominal wall; 3, uterus and placenta. (b,c) Ultrasound images obtained using imaging probe of 7.5 MHz (b) and 12 MHz (c) just after HIFU exposure, showing placental lesion.

(+0)
(-0) ||
ru: sl

the ones |

studies, ultrasound exposure intensities higher than were used in this study produced uncontrolled mechanical effects, and maximum thresholds were applied, leading to the optimized protocol presented here. These safeguards mean that the single incidence of uterine and fetal

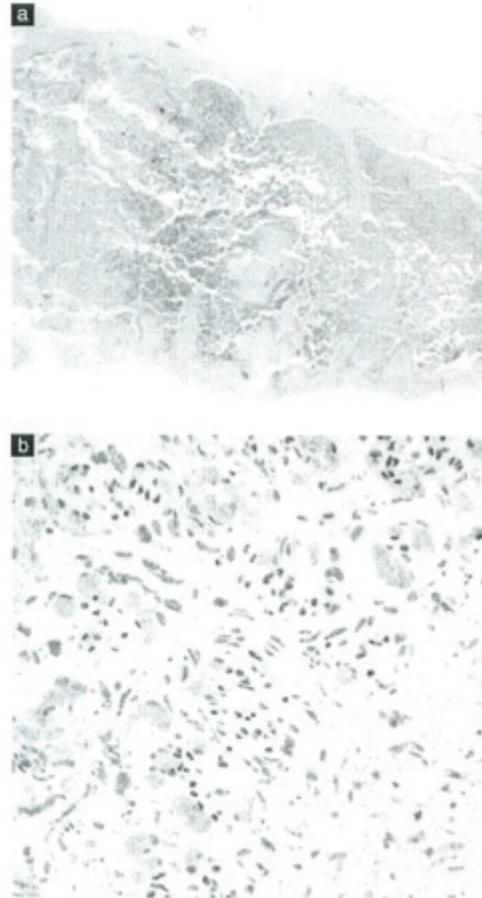


Figure 4 Histological examination of placental lesions created *in vivo* in a monkey using toroidal transducer. (a) Microscopic view of placental section with central coagulative necrosis and congestion at periphery. Hematoxylin-eosin-saffron (HES) staining, original magnification $\times 40$. (b) Coagulative necrosis with trophoblastic desquamation, mesenchymal involution and fragmented red blood cells. HES, original magnification $\times 200$.

(+0) Oh=1
Oh
0=10L

skin burns observed in this study was associated with repeat exposure at the same location, resulting in the overexposure of a single region and subsequent thermal build-up. Despite this limitation, there was no maternal, uterine or fetal damage or damage to adjacent tissue when using the appropriate parameters. The treatment protocol used in this study was not designed to observe ablations in the long term. Cesarean sections were performed immediately after HIFU treatment. Monitoring of lesions induced by HIFU will be investigated in further studies to assess the effects of HIFU on the placenta several weeks after treatment.

9/
this |

Other potential difficulties still remain to be addressed before HIFU can be implemented for human treatment. The thickness of the abdominal wall of this animal model (4.4–13.5 mm) is far less than that of a human. Nevertheless, the toroidal transducer used in this study is able to create lesions at 70 mm from the transducer and seems to be adequate for clinical practice. In addition, the possibility of inducing placental lesions non-invasively for the treatment of placenta accreta has been demonstrated recently²⁷. This study demonstrates that the thickness of the intervening tissues is not a limiting factor for HIFU therapy. Treatment depth can be adjusted. HIFU treatments are guided by either magnetic resonance imaging or ultrasound²⁸. For this preclinical work, temperatures of the skin and amniotic cavity were verified using thermocouples. Guidance by ultrasound is sufficient to target accurately the region to be treated and evaluate the resulting coagulation²⁹. Temperature estimation during treatment will not be used clinically; it is not an absolute requirement if targeting is accurate.

In conclusion, the data collected to investigate the safety and potential of ultrasound-guided HIFU treatment showed the possibility of inducing well-defined and controlled placental lesions without complications to fetal or maternal tissues. Despite the need to confirm the feasibility of HIFU for dichorionization and to observe maternal and fetal outcomes over a longer period, these initial feasibility studies demonstrate the utility of ultrasound-guided HIFU to target and selectively ablate placental tissue. This raises the prospect of non-invasive HIFU treatment of TTTS and other related conditions resulting from pathological placentae in human pregnancy.

REFERENCES

- Senar MV, Deprest J, Bouvain M, Paupe A, Winer N, Ville Y. Endoscopic laser surgery versus serial amnioreduction for severe twin-to-twin transfusion syndrome. *N Engl J Med* 2004; 351: 136–144.
- Lewi L, Jami J, Blickstein I, Huber A, Gucciardo L, Van Mieghem T, Doné E, Boes AS, Hecher K, Gratacos E, Lewi P, Deprest J. The outcome of monochorionic diamniotic twin gestations in the era of invasive fetal therapy: a prospective cohort study. *Am J Obstet Gynecol* 2008; 199: 514.e1–8.
- Habli M, Bombrys A, Lewis D, Lim FY, Polzin W, Maxwell R, Crombleholme T. Incidence of complications in twin-twin transfusion syndrome after selective fetoscopic laser photocoagulation: a single-center experience. *Am J Obstet Gynecol* 2009; 201: 417.e1–7.
- Cruz-Martinez R, Van Mieghem T, Lewi L, Eixarch E, Cobo T, Martinez JM, Deprest J, Gratacos E. Incidence and clinical implications of early inadvertent septostomy after laser therapy for twin-twin transfusion syndrome. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2011; 37: 458–462.
- Elias WJ, Huss D, Voss T, Loomba J, Khaled M, Zadicario E, Frysinger RC, Sperling SA, Wyle S, Monteith SJ, Druzgal J, Shah BB, Harrison M, Wintermark M. A pilot study of focused ultrasound thalamotomy for essential tremor. *N Engl J Med* 2013; 369: 640–648.
- Kim YS, Keserci B, Partanen A, Rhim H, Lim HK, Park MJ, Köhler MO. Volumetric MR-HIFU ablation of uterine fibroids: role of treatment cell size in the improvement of energy efficiency. *Eur J Radiol* 2012; 81: 3652–3659.
- Harwitz MD, Ghanousi P, Kanaev SV, Josefif D, Gianflicio D, Fennessy FM, Kuten A, Meyer JE, LeBlang SD, Roberts A, Choi J, Larner JM, Napoli A, Turkovich VG, Inbar Y, Tempny CM, Pfeffer RM. Magnetic resonance-guided focused ultrasound for patients with painful bone metastases: phase III trial results. *J Natl Cancer Inst* 2014; 106: pii: djd082. [doi:10.1093/jnci/djv082](https://doi.org/10.1093/jnci/djv082)
- Leslie T, Ritchie R, Illig R, Ter Haar G, Phillips R, Middleton M, Ich B, Wu F, Cranston D. High-intensity focused ultrasound treatment of liver tumours: post-treatment MRI correlates well with intra-operative estimates of treatment volume. *Br J Radiol* 2012; 85: 1363–1370.
- Kennedy JE. High-intensity focused ultrasound in the treatment of solid tumours. *Nat Rev Cancer* 2005; 5: 321–327.
- N'Djin WA, Melodelima D, Schenone F, Rivoire M, Chapelon JY. Assisted hepatic resection using a toroidal HIFU device: an in vivo comparative study in pig. *Med Phys* 2011; 38: 1769–1778.
- Caloone J, Huissoud C, Kocut A, Dehay C, Chapelon JY, Rodrigo RC, Melodelima D. High-intensity focused ultrasound applied to the placenta using a toroidal transducer: a preliminary ex-vivo study. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2015; 45: 313–319.
- N'Djin WA, Melodelima D, Parmentier H, Rivoire M, Chapelon JY. In vivo preclinical evaluation of the accuracy of toroidal-shaped HIFU treatments using a tumor-mimic model. *Phys Med Biol* 2010; 55: 2137–2154.
- Melodelima D, N'Djin WA, Parmentier H, Chesnais S, Rivoire M, Chapelon JY. Thermal ablation by high-intensity-focused ultrasound using a toroid transducer increases the coagulated volume. Results of animal experiments. *Ultrasound Med Biol* 2009; 35: 425–435.
- Shaw CJ, Civalo J, Borring KJ, Niu Y, Ter Haar G, Rivens I, Guissani DA, Lees CC. Noninvasive high-intensity focused ultrasound treatment of twin-twin transfusion syndrome: A preliminary in vivo study. *Sci Transl Med* 2016; 8: 147ra95.
- Walsh CA, McAuliffe FM. Recurrent twin-twin transfusion syndrome after selective fetoscopic laser photocoagulation: a systematic review of the literature. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2012; 40: 506–512.
- Moon-Goady AJ, Rand L, Lemley B, Goussell K, Hornberger LK, Lee H. Effect of selective fetoscopic laser photocoagulation therapy for twin-twin transfusion syndrome on pulmonary valve pathology in recipient twins. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2011; 37: 27–33.
- Crombleholme TM, Shera D, Lee H, Johnson M, D'Alton M, Potter F, Chyu J, Silver R, Abuhamad A, Saade G, Shields L, Kaufman D, Stone J, Albanese CT, Bahado-Singh R, Ball RH, Bilaniuk L, Coleman B, Farmer D, Feldstein V, Harrison MR, Hedrick H, Livingston J, Lorenz RP, Miller DA, Norton ME, Polzin WJ, Robinson JN, Rychik J, Sandberg PL, Seri I, Simon E, Simpson LL, Yedigaraova L, Wilson RD, Young B. A prospective, randomized, multicenter trial of amnioreduction vs selective fetoscopic laser photocoagulation for the treatment of severe twin-twin transfusion syndrome. *Am J Obstet Gynecol* 2007; 197: 396.e1–9.
- Deprest JA, Van Schoelbroeck D, Van Ballaer PP, Flageole H, Van Assche FA, Vandenbergh K. Alternative technique for Nd:YAG laser coagulation in twin-twin transfusion syndrome with anterior placenta. *Ultrasound Obstet Gynecol* 1998; 11: 347–352.
- Melodelima D, N'Djin WA, Parmentier H, Chesnais S, Rivoire M, Chapelon JY. Ultrasound surgery with a toric transducer allows the treatment of large volumes over short periods of time. *Applied Physics Letters* 2007; 91: 193901.
- Melodelima D, N'Djin WA, Favre-Cabreza J, Parmentier H, Rivoire M, Chapelon JY. Thermal ablation produced using a surgical toroidal high-intensity focused ultrasound device is independent from hepatic inflow occlusion. *Phys Med Biol* 2009; 54: 6353–6368.
- Chalouhi GE, Issaoui M, Seirmann J, Quibel T, Deloison B, Salomon L, Ville Y. Laser therapy for twin-to-twin transfusion syndrome (TTTS). *Prenat Diagn* 2011; 31: 637–646.
- Ruano R, Rodo C, Peiro JL, Shamshirzad AA, Haeri S, Nomura ML, Salutiano EM, de Andrade KK, Sangi-Haghpeykar H, Carreras E, Belfort MA. Fetoscopic laser ablation of placental anastomoses in twin-twin transfusion syndrome using "Solomon technique". *Ultrasound Obstet Gynecol* 2013; 42: 434–439.
- Slaghekke F, Lopriore E, Lewi L, Middeldorp JM, van Zwet EW, Weingertner AS, Klumper FJ, Dekoninck P, Devlieger R, Kilby MD, Ruonco MA, Deprest J, Favre R, Oepkes D. Fetoscopic laser coagulation of the vascular equator versus selective coagulation for twin-to-twin transfusion syndrome: an open-label randomized controlled trial. *Lancet* 2014; 383: 2144–2151.
- Denbow ML, Cox P, Taylor M, Hammal DM, Fisk NM. Placental angioarchitecture in monochorionic twin pregnancies: relationship to fetal growth, fetal-twin transfusion syndrome, and pregnancy outcome. *Am J Obstet Gynecol* 2000; 182: 417–426.
- Machin GA. Placental vascular anatomy and twin transfusion syndrome. *Am J Obstet Gynecol* 1996; 174: 799–800.
- Taylor MJ, Farquharson D, Cox PM, Fisk NM. Identification of arterio-venous anastomoses in vivo in monochorionic twin pregnancies: preliminary report. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2000; 16: 218–222.
- Bai Y, Luo X, Li Q, Yin N, Fu X, Zhang H, Qi H. High-intensity focused ultrasound treatment of placenta accreta after vaginal delivery: a preliminary study. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2016; 47: 492–498.
- Haar GT, Coussios C. High intensity focused ultrasound: past, present and future. *Int J Hyperthermia* 2007; 23: 85–87.
- Dapré A, Melodelima D, Péro D, Chen Y, Vincenot J, Chapelon JY, Rivoire M. First clinical experience of intra-operative high intensity focused ultrasound in patients with colorectal liver metastases: a phase I-IIa study. *PLoS One* 2015; 10: e0118212.

3. High-intensity focused ultrasound as an adjuvant treatment for placenta accreta: a preliminary *ex-vivo* study

J. Caloone^{1,2}, C.Huissoud^{2,3}, A. Kocot¹, D. Melodelima¹

¹Inserm, U1032, LabTau, Lyon, F-69003, France ; Université de Lyon, Lyon, F-69003, France

²Department of Obstetrics and Gynecology, Croix Rouse University Hospital, Lyon, F-69004, France

³Stem Cell and Brain Research Institute, Institut National de la Sante et de la Recherche Médicale U846, 18 avenue du Doyen Lepine, Bron, France; Université de Lyon, Université Lyon I, 69003 Lyon, France

Correspondance to jonathan.caloone@inserm.fr, Laboratory of Therapeutic Applications of Ultrasound, 151 cours Albert Thomas, 69424 Lyon cedex 03, France

Telephone : + 33 4 72 68 19 30

Fax : + 33 4 72 68 19 31

Article accepté dans l'Ultrasound in Medicine and Biology après corrections (IF : 2.494)

Abstract:

The objective of this study was to evaluate the feasibility of treating placenta accreta with high-intensity focused ultrasound (HIFU) using an *ex-vivo* model. A toroidal HIFU transducer working at 2.5 MHz with an integrated ultrasound-imaging probe was used. *Ex-vivo* experiments were performed in eight human placentae (from 39 to 40 weeks) within a configuration that mimicked clinical conditions as closely as possible. The fetal side of the placenta was placed in contact with the sterile envelope that covered the HIFU device to simulate the uterine serosa. HIFU lesions were studied on sonograms and macroscopically. In total, 19 single HIFU lesions were created with the same exposure parameters for all of the lesions. The exposure time was 75 s. The acoustic power was 90 W. HIFU lesions were created at different distances (2, 6, 7 and 8 mm) from the surface of the placenta by adjusting the thickness of the coupling water and thus, the distance between the HIFU emitters and placental tissues. All of the lesions were homogeneous and approximately spherical in shape. The two diameters of the HIFU lesions were on average 14.6 ± 2.1 mm and 14.1 ± 2.3 mm. Lesions were immediately visible on sonograms after each HIFU exposure as a hyperechoic region. The distance between the surface of the placenta and HIFU lesion as measured on ultrasound images was closely correlated with the same distance that was measured on gross pathology ($r=0.89$, $p<0.05$). This study demonstrates that HIFU may be an interesting option for adjuvant treatment during a cesarean of placenta accreta. These results must be validated under real clinical conditions.

Keywords: *High-Intensity Focused Ultrasound, ex-vivo model, placenta accreta*

Introduction

Placenta accreta is an abnormal invasion of the placenta within the myometrium, which could invade the uterine serosa and pelvic organs, such as the bladder or bowel (*i.e.* placenta percreta). Its prevalence has increased during the last fifty years, partially due to the increase in cesarean deliveries (Miller et al. 1997; Gielchinsky et al. 2002; Wu et al. 2005; Morlando et al. 2013). Placenta accretae are associated with non-negligible maternal morbidity and mortality, of which obstetrical management remains difficult (Knight 2007; Eller et al. 2009; Sentilhes et al. 2010). The management of placenta accreta is a matter of debate (Fox et al. 2015). Two therapeutic strategies have been proposed. The first aims to perform a hysterectomy during cesarean delivery or several months after (*i.e.*, non-conservative treatment). This approach is largely recommended and performed in the United States. The second strategy aims to leave the placenta in place to wait for placental deliquescence (*i.e.*, conservative treatment). This approach is primarily performed in Europe (Fox et al. 2015).

The clinical use of high-intensity focused ultrasound (HIFU) under ultrasound or magnetic resonance (MR) guidance as a non-invasive method for the treatment of tumors is rapidly increasing. Tens of thousands of patients have been treated for a wide range of diseases (Crouzet et al. 2014; Dupre et al. 2015; Wu et al. 2007; Tempany et al. 2003; Melodelima et al. 2006). During HIFU treatments, the temperature at the focus can rise above 80°C in a few seconds, which leads to effective cell killing (Kennedy et al. 2005). Coagulative necrosis can be created at several centimeters from the device without the occurrence of damage in intervening tissues. An additional advantage of this technology is the ability to localize the treatment target in real time using MRI or ultrasound imaging. Studies that assess the feasibility and effectiveness of HIFU as applied to the placenta accreta are lacking, and the technique is far from usual clinical practice (Bai et al. 2016). In this study,

we investigated whether the use of such a device could improve the management of placenta accretae after cesarean delivery. We hypothesized that a HIFU treatment could accelerate the placental deliquescence, preserve fertility, reduce hemorrhage and reduce infectious complications. The first step described in this paper was to conduct a preliminary study to assess the feasibility and reproducibility of HIFU applied to the placental unit using an *ex-vivo* model that closely resembled the clinical condition. Experiments were conducted on human placentae under conditions that could be translated to clinical practice with the idea of performing HIFU exposures immediately after cesarean delivery.

Materials and methods

A toroidal HIFU transducer and driving equipment, which have already be described by Melodelima et al. (2009) and Caloone et al. (2015), were used (Figure 1). The transducer was composed of 32 ring-shaped emitters with identical surface areas (78 mm^2) that operated at a frequency of 2.5 MHz. The ultrasound emitters were distributed according to a toroidal geometry. The radius of curvature of the transducer was 70 mm and its active diameter was 67 mm. Because of this toroidal geometry, the focal zone observed in the focal plane is a ring of 30 mm in diameter. In addition, the ultrasound beams coming from each of the 32 emitters intersect between the principal focal ring and the transducer to form a secondary focal zone, which contributes to increase the volume of the lesion and to reinforce its homogeneity. Spatial repartition and intensity of the pressure field produced by one ultrasound emitter can be controlled electronically by modulating the amplitude and the phase applied to each of the 32 individual transducers. An ultrasound-imaging probe (Vermon, Tours, France) working at a frequency of 7.5 MHz was placed in the center of the HIFU transducer and was connected to a BK HAWK 2012 EXL scanner (B-K Medical, Herlev, Denmark). The ultrasound-imaging plane was aligned with the HIFU acoustic axis to precisely guide the treatment. The

US emitting transducers (for therapy and imagery) were placed into acoustic contact with the placenta with US coupling fluid (Ablasonic®, EDAP, Vaux-en-Velin, France). The fluid was contained in a sterile polyurethane envelope (CIV-Flex Transducer cover, CIVCO, Kalona, IA, USA) that also covered the device, which made it possible to use the HIFU system under sterile conditions. This envelope attenuated the ultrasound pressure by approximately 2% at 2.5 MHz. A continuous flow (0.4 L/min) maintained the degassed coupling water at 20°C and allowed for the cooling of the HIFU transducer during treatment. A peristaltic Masterflex pump (L/S model 7518–60, Cole-Parmer Instruments Co., Chicago, IL, USA) drove the water around a closed cooling circuit. All of the procedures were guided and controlled by a computer. The user interface displayed the position of the HIFU-treated region superimposed on the sonogram, which was obtained by the integrated ultrasound-imaging probe. In this manner, it was possible to locate the ablation and visualize the treated zone that was created during ultrasound exposures in real time.

A schematic diagram of the experiments is shown in Figure 2. Human placentae were obtained from vaginal delivery after normal pregnancy. The gestational ages were from 39 to 40 weeks to mimic the clinical conditions as closely as possible. The acoustic attenuation of placental tissues was previously measured to define the proper exposure conditions (Caloone et al. 2015). The exclusion criteria were artificial delivery, the suspected presence of a placental histologic anomaly or the absence of consent. Our institutional review board approved this study, and each participant provided a signed informed consent (CPP Lyon Sud Est II; DC-2012-1643). The placenta was immobilized with a holder in a tank that was filled with degassed water. A thermocouple (0.33 mm in diameter, MT-29, Physitemp, Clifton, NJ, USA) was inserted in the center of the placenta. The water in the tank was then heated to 37°C using a thermostat, and the placenta sample was then allowed to reach 37°C prior to the initiation of the experiment. The HIFU probe was fixed on a mechanical arm and

placed in the tank over the placenta. The fetal side of the placenta, composed of membranes, was positioned in contact with the envelope covering the HIFU device to simulate the uterine serosa. An alignment system allows for the placement of the acoustic axis of the HIFU probe along a groove of the holder to enable the precise evaluation of the lesions (Caloone et al. 2015). The optimal HIFU exposure conditions were determined with a three-dimensional numerical simulation model as previously described (Chavrier et al. 2000). The best compromise for the creation of large lesions in the placenta was to use a free field acoustic power of 90 W and a total exposure time of 75 s. Two successive HIFU exposures were performed to create one lesion in the placenta without moving the probe between exposures. The first exposure was performed by setting electronically the depth of the ring-shaped focus at 65 mm, its radius at 0 mm and the time of exposure to 40 s. Without moving the probe and without any delay, a second exposure was performed by setting electronically the depth of the ring-shaped focus at 65 mm, its radius at 2 mm and the time of exposure to 35 s. These parameters were used to create all the placental HIFU lesions. The depth of the lesions in the placenta was adjusted by changing the amount of water in the envelope to create lesions at different distances from the surface of the placenta. This was achieved in a few seconds with the cooling system, and the distance was precisely adjusted under ultrasound-imaging guidance. Sonograms of samples were acquired immediately after each HIFU exposure. The thicknesses of spared tissues, dimensions of lesions created and echogenicity aspects were reported. All of the samples were sliced along the acoustic axis of the HIFU device immediately after each exposure. Quantitative values are expressed as mean \pm standard deviation.

Results

Nineteen HIFU lesions were created in 8 human placentae. All of the lesions were homogeneous and approximately spherical in shape (Figure 3). All HIFU lesions appeared as black areas in the placental tissues (Figure 3). The two diameters that were measured in each observation plan were 14.6 ± 2.1 mm and 14.1 ± 2.3 mm on average. All of the placental lesions appeared hyperechoic immediately after HIFU exposure, as previously reported (Figure 4) (Caloone et al. 2015). However, it was difficult to clearly identify the contours of the HIFU lesions in this *ex-vivo* model on sonograms. Hyperechogenicity was mainly due to the presence of small gas bubbles in *ex-vivo* tissues, which promote the boiling of tissues during HIFU treatment (N'Djin et al. 2008). A more reliable visualization of HIFU lesions is expected to be achieved under *in-vivo* conditions, as demonstrated by previous work that used similar toroidal HIFU transducers (Melodelima et al. 2009; Chenot et al. 2010).

It may be necessary to preserve several millimeters of placental tissues according to the clinical situation. Therefore, HIFU lesions were created at different distances (2 mm ($n=4$), 6 mm ($n=4$), 7 mm ($n=4$) and 8 mm ($n=7$)) from the surface of the placenta by adjusting the thickness of the coupling water and thus the distance between the HIFU emitters and placental tissues. N represents the number of samples that have been included for each distance. The corresponding distances between the surface of the placenta and the HIFU lesions measured on gross pathology were 2.5 ± 0.6 mm, 5.8 ± 0.6 mm, 7.0 ± 0.7 mm and 8.2 ± 0.5 mm, respectively. Excellent agreement between the desired distance and the actual distance was obtained, as measured in gross pathology ($r=0.99$, $p<0.05$, Figure 5a). In addition, a good correlation was observed between the thickness of the spared tissues, which was measured both macroscopically and via a sonogram ($r=0.89$, $p<0.05$, Figure 5b).

Discussion

This study aimed to confirm the feasibility of HIFU treatment applied to the placenta using an *ex-vivo* model, for possible treatment for placenta accreta.

Placental accretions are associated with severe maternal morbidity and an increased risk of hemorrhage during delivery and thus, represent a real and current problem in perinatal medicine. Obstetrical management remains under debate and varies widely within teams and countries (Sentilhes et al. 2010; Angstmann et al. 2010; Committee on Obstetric Practice 2012). An alternative strategy to the non-conservative treatment (*i.e.*, hysterectomy) is to wait for placental deliquescence, which preserves fertility; however, this option also exposes patients to several complications, such as differed hemorrhages, a risk of infections, severe sepsis and hysterectomy. The complete placental involution could be lengthy with a relatively restrictive follow-up. After having reviewed 167 cases of placenta accreta from 40 maternity wards, Senthiles et al. (2010) observed hysterectomy and severe maternal morbidity in 22% and 6% of cases, respectively, at a median follow-up of 13.5 weeks (4-60) and a uterine vacuity of 75%. The use of complementary treatments has been suggested to accelerate placental involution. Methotrexate and the embolization of uterine arteries have been assessed but are associated with non-negligible maternal morbidity without a demonstrated efficacy on placental deliquescence (Jaffe et al. 1994; Sentilhes et al. 2009; Arulkumaran et al. 2010). Although HIFU technologies appear to be promising for the treatment of placental accretions, studies that have assessed their clinical application are lacking (Bai et al. 2016).

The *ex-vivo* study described here mimicked the clinical conditions as closely as possible in terms of an adjuvant treatment during a cesarean section. The application of HIFU exposures immediately after a cesarean section during an open procedure appears to mimic clinical practice as closely as possible, as the diagnostic of placenta accreta is suspected during the antenatal period and is confirmed after delivery. An intra-operative approach has many advantages. It allows for the prevention of secondary lesions to nearby organs (bladder

or bowel) by carefully isolating the placenta using pads. In addition, it allows for an excellent focusing effect in the organ and is already successfully used by our group for hepatic applications (Dupre et al. 2015). Intra-operative use of the device that will be held by hand will also allow real-time evaluation of HIFU ablation while protecting participating patients from any adverse effects related to this new technique. The user interface displays the position of the HIFU treated region superimposed on the sonogram obtained with the help of the integrated ultrasound imaging probe. Since the device is placed directly in contact with the organ the ultrasound imaging will be of optimal quality. It is therefore possible to locate the ablation and visualize in real time the treated zone created during ultrasound exposures. The modality of placental necrosis, such as its depth and diameter, remains to be determined, but in our opinion, the necrosis of a partial anterior placenta insertion should be sufficient.

Using a toroidal-shaped transducer, we demonstrated that placental lesions can be created in 75 s. No damages to tissues outside the focal zone were observed. The depth of spared tissue between the emitter and focal zone is not a limiting factor and depends on the settings of the transducer itself. Lesions were created between 2.5 and 8.2 mm from the surface of the placenta by adjusting the thickness of the coupling water and thus, the distance between the HIFU emitters and placental tissues. Lesions were reproducible, which allowed for safe treatments with dimensions (approximately 14-15 mm in diameter) that appeared to be sufficient in this clinical condition, as lesions can be juxtaposed up to the desired volume of ablation (N'Djin et al. 2011).

Placental insertion in the myometrium can vary within patients and for the same patient. In these experiments, HIFU lesions were identified immediately after insonification and the thickness of spared tissues, which was measured on a sonogram, was highly correlated with the same dimension that was measured macroscopically. This represents a major advantage in the control and efficacy of the treatment because the placement of the

HIFU lesions at a predetermined depth can be enlarged by accurately juxtaposing elementary lesions. An array of these lesions can be built up to coagulate the placenta (Parmentier *et al.* 2009). Thus, this increase in the echogenicity of the ablated region in the ultrasound images can be used to guide the treatment. The increase in echogenicity is due to the increasing presence of gas bubbles generated during temperature elevation. A previous work demonstrated that a reliable delimitation of the treated volume is possible *in-vivo* and under clinical conditions for liver treatment (Parmentier *et al.* 2009; Melodelima *et al.* 2009; Chenot *et al.* 2010). Therefore, it is expected that the visualization of the HIFU lesion will be better during clinical trials. The presence of opportunities to monitor the treatment and adjust the treatment dimensions using several successive exposures represents a real advantage of HIFU therapy. In a previous work, we demonstrated that a toroidal-shaped HIFU transducer could create a line of placental necrosis using an extracorporeal model with possible application for the treatment of the twin-to-twin transfusion syndrome (Caloone *et al.* 2015). By contrast with this previous work, the present study demonstrated the possibility to control the depth of placental lesions during an open procedure. The uterus and mainly the uterine serosa must be preserved. It is therefore essential to control the thickness of spared tissues since it can vary according to the anatomy of one patient to another as well as from the different regions of the uterus. Thanks to our experience under similar conditions for the treatment of liver metastases (Dupre *et al.* 2015), the clinical treatment of placenta accretae appears more straightforward when compared with the treatment of TTTS.

There are several limitations to this study, which can be attributed to the use of an *ex-vivo* model. The potential effect of placental perfusion cannot be evaluated, although it was previously demonstrated *in-vivo* that ablations that were created in hepatic tissues using this HIFU device were not dependent on perfusion (Melodelima *et al.* 2009). In addition, placental accretions are characterized by praevia insertion and proximity to pelvic organs, such as the

bladder. The surgery could be complex (access of the inferior segment of uterus, presence of adhesions, ascension of bladder), the positioning of the device during an open procedure can be difficult and must be clearly evaluated under clinical conditions. This limitation can be overcome because the device is used by hand and is already used clinically for the treatment of liver metastasis under similar conditions (Dupre *et al.* 2015). Moreover, the time that is necessary to create a large placental necrosis may be long regarding the volume to be treated. Finally, the time needed for placental necrosis evolution remains unknown, and the creation of fibrosis by HIFU lesions could be a limiting factor for placental delivery. In a clinical study, Bai *et al.* (2016) demonstrated that it was possible to accelerate placental deliquescence after vaginal birth using an extracorporeal HIFU device, which preserves fertility. However, the effect on the posterior myometrium remains unknown. For these reasons, we suggest that the targeted will region will be only a fraction of the anterior placenta. Despite the need for clinical evaluation, our initial feasibility studies have demonstrated the utility of ultrasound-guided HIFU to target and selectively coagulate placental tissues. This raises the prospect of HIFU treatment of placental accretions and other related conditions that result from abnormal placental insertions.

In conclusion, this study demonstrates the potential for the use of HIFU as a method of placental coagulation. Each HIFU lesion (14-15 mm in diameter) was created in 75 s with a toroidal-shaped transducer. The thickness of spared tissue varied between 2 and 8 mm, which suggest that there is an opportunity to create placental HIFU lesions at different depths from the uterine serosa in accordance with clinical conditions. The HIFU lesions were homogeneous and reproducible. The potential clinical usefulness must be further validated in a clinical trial that will demonstrate the safety, feasibility and efficacy of this ablative method for the acceleration of the placental deliquescence in cases of placental accreta immediately after cesarean delivery.

Conflict of interest: None

References

- [1] T. Angstmann, G. Gard, T. Harrington, E. Ward, A. Thomson, and W. Giles, "Surgical management of placenta accreta: a cohort series and suggested approach," *Am. J. Obstet. Gynecol.*, vol. 202, no. 1, pp. 38 e31-39, Jan. 2010.
- [2] S. Arulkumaran, Ng CS, I Ingemarsson, and SS Ratnam, "Medical treatment of placenta accreta with methotrexate," *Acta Obstet. Gynecol. Scand.*, vol. 65, no. 3, pp. 285-286, Jan. 1986.
- [3] Y. Bai, X Luo, Q. Li, N. Yin, X. Fu, H. Zhang, and H. QI, "High-Intensity Focused Ultrasound treatment of placenta accreta after vaginal delivery: a preliminary study," *Ultrasound Obstet. Gynecol.*, vol. 47, no. 4, pp. 492-498, Apr. 2016.
- [4] J. Caloone, C. Huissoud, J. Vincenot, A. Kocot, C. Dehay, JY Chapelon, RC. Rudigoz, and D. Melodelima, "High-intensity focused ultrasound applied to the placenta using a toroidal transducer: a preliminary ex-vivo study," *Ultrasound Obstet. Gynecol.*, vol. 47, no. 3, pp. 313-319, Mar. 2015.
- [5] F. Chavrier, JY. Chapelon, A. Gelet, and D. Cathignol, "Modeling of high-intensity focused ultrasound-induced lesions in the presence of cavitation bubbles," *J. Acoust. Soc. Am.*, vol. 108, no.1, pp. 432-440, Jul. 2000.
- [6] J. Chenot, D. Melodelima, WA. N'Djin, R. Souchon, M. Rivoire, and JY. Chapelon,

“Intra-operative ultrasound hand-held strain imaging for the visualization of ablations produced in the liver with a toroidal HIFU transducer: first in-vivo results,” *Phys. Med. Biol.*, vol. 55, no. 11, pp. 3131–3144, Jun. 2010.

[7] Committee on Obstetric Practice. “Committee opinion no. 529: placenta accrete,” *Obstet. Gynecol.*, vol. 120, no. 1, pp. 207-211, Jul. 2012.

[8] S. Crouzet, JY. Chapelon, O. Rouviere, F. Mege-Lechevallier, M. Colombel, H. Tonoliz-Catez, X. Martin, and A. Gelet, “Whole-gland ablation of localized prostate cancer with high-intensity focused ultrasound: oncologic outcomes and morbidity in 1002 patients,” *Eur. Urol.*, vol. 65, no. 5, pp. 907-914, May. 2014.

[9] A. Dupre, D. Melodelima, D. Perol, Y. Chen, J. Vincenot, JY. Chapelon, and M. Rivoire, “First clinical experience of intra-operative high intensity focused ultrasound in patients with colorectal liver metastases: a phase I-IIa study,” *PLoS One*, vol. 10, no. 2, e0118212, Mar. 2015.

[10] AG. Eller, TF. Porter, P. Soisson, and RM. Silver, “Optimal management strategies for placenta accreta,” *BJOG*, vol. 116, no. 5, pp. 648-654, Apr. 2009.

[11] KA. Fox, AA. Shamshirsaz, D. Carusi, AA. Secord, P. Lee, OM. Turan, C. Huls, A. Abuhamad, H. Simhan, J. Barton, J. Wright, R. Silver, and MA. Belfort, “Conservative management of morbidly adherent placenta: expert review,” *Am. J. Obstet. Gynecol.*, vol. 213, no. 6, pp. 755-760, Dec. 2015.

[12] Y. Gielchinsky, N. Rojansky, SJ. Fasouliotis, and Y. Ezra, “Placenta accreta--summary of

10 years: a survey of 310 cases,” *Placenta*, vol. 23, no. 2-3, pp. 210-214, Feb. 2002.

[13] MS. Hoffman, RA. Karlinski, D. Mangar, VE. Whiteman, BR. Zweibel, JL. Lockhart, and EM. Camporesi EM, “Morbidity associated with nonemergent hysterectomy for placenta accreta,” *Am. J. Obstet. Gynecol.*, vol. 202, no. 6, pp. 628 e621-625, Jun. 2010.

[14] R. Jaffe, B. DuBeshter, DM. Sherer, EA. Thompson, and JR. Jr. Woods, “Failure of methotrexate treatment for term placenta percreta,” *Am. J. Obstet. Gynecol.*, vol. 171, no. 2, pp. 558-559, Aug. 1994.

[15] JE. Kennedy, “High-intensity focused ultrasound in the treatment of solid tumours,” *Nat. Rev. Cancer*, vol. 5, no. 4, pp. 321-327, Apr. 2005.

[16] M. Knight, and Ukoss, “Peripartum hysterectomy in the UK: management and outcomes of the associated haemorrhage,” *BJOG*, vol. 114, no. 11, pp. 1380-1387, Nov. 2007.

[17] D. Melodelima, R. Salomir, C. Mougnot, C. Moonen, and D. Cathignol, “64-element intraluminal ultrasound cylindrical phased array for transesophageal thermal ablation under fast MR temperature mapping: an ex-vivo study,” *Med. Phys.*, vol. 33, no. 8, pp. 2926-2934, Aug. 2006.

[18] D. Melodelima, WA. N’Djin, H. Parmentier, S. Chesnais, M. Rivoire, and JY. Chapelon, “Thermal ablation by high-intensity-focused ultrasound using a toroid transducer increases the coagulated volume. Results of animal experiments,” *Ultrasound Med. Biol.*, vol. 35, no. 3, pp. 425-435, Mar. 2009.

- [19] D. Melodelima, WA. N'Djin, J. Favre-Cabrera, H. Parmentier, M. Rivoire, and JY. Chapelon, "Thermal ablation produced using a surgical toroidal high-intensity focused ultrasound device is independent from hepatic inflow occlusion," *Phys. Med. Biol.*, vol. 54, no.20, pp. 6353-6368, Oct. 2009.
- [20] DA. Miller, JA. Chollet, and TM. Goodwin, "Clinical risk factors for placenta previa-placenta accrete," *Am. J. Obstet. Gynecol.*, vol. 177, no. 1, pp. 210-214, Jul. 1997.
- [21] M. Morlando, L. Sarno, R. Napolitano, A. Capone, G. Tessitore, GM. Maruotti, and P. Martinelli, "Placenta accreta: incidence and risk factors in an area with a particularly high rate of cesarean section," *Acta Obstet. Gynecol. Scand.*, vol. 92, no.4, pp. 457-460, Apr. 2013.
- [22] WA. N'Djin, D. Melodelima, H. Parmentier, S. Chesnais, M. Rivoire, and JY. Chapelon, "Utility of a tumor-mimic model for the evaluation of the accuracy of HIFU treatments. Results of in vitro experiments in the liver," *Ultrasound Med. Biol.*, vol. 34, no. 12, pp. 1934-1943, Dec. 2008.
- [23] WA. N'Djin, D. Melodelima, F. Schenone, M. Rivoire, and JY. Chapelon, "Assisted hepatic resection using a toroidal HIFU device: an in-vivo comparative study in pig," *Med. Phys.*, vol. 38, no. 4, pp. 1769-1778, Apr. 2011.
- [24] H. Parmentier, D. Melodelima, WA. N'Djin, S. Chesnais, JY. Chapelon, and M. Rivoire. "High Intensity Focused Ultrasound ablation for the treatment of colorectal liver metastases during an open procedure. Study on the pig," *Ann. Surg.*, vol. 249, no. 1, pp. 129-136, Jan. 2009.

- [25] L. Sentilhes, A. Gromez, E. Clavier, B. Resch, E. Verspyck, and L. Marpeau, "Predictors of failed pelvic arterial embolization for severe postpartum hemorrhage," *Obstet. Gynecol.*, vol. 113, no. 5, pp. 992-999, May. 2009.
- [26] L. Sentilhes, C. Ambroselli, G. Kayem, M. Provansal, H. Fernandez, F. Perrotin, N. Winer, F. Pierre, A. Benachi, M. Dreyfus, E. Bauville, D. Mahieu-Caputo, L. Marpeau, P. Descamps, F. Goffinet, and F. Bretelle, "Maternal outcome after conservative treatment of placenta accrete," *Obstet. Gynecol.*, vol. 115, no.3, pp. 526-534, Mar. 2010.
- [27] CM. Tempany, EA. Stewart, N. McDannold, BJ. Quade, FA. Jolesz, and K. Hynynen, "MR imaging-guided focused ultrasound surgery of uterine leiomyomas: a feasibility study," *Radiol.*, vol. 226, no.3, pp. 897-905, Mar. 2003.
- [28] CR. Warshak, GA. Ramos, R. Eskander, K. Benirschke, CC. Saenz, TF. Kelly, TR. Moore, and R. Resnik, "Effect of predelivery diagnosis in 99 consecutive cases of placenta accreta," *Obstet. Gynecol.*, vol. 115, no.1, pp. 65-69, Jan. 2010.
- [29] F. Wu, ZB. Wang, YD. Cao, XQ. Zhu, H. Zhu, WZ. Chen, and JZ. Zou, "Wide local ablation" of localized breast cancer using high intensity focused ultrasound," *J. Surg. Oncol.*, vol. 96, no. 2, pp. 130-136, Aug. 2007.
- [30] S. Wu, M. Kocherginsky, and JU. Hibbard, "Abnormal placentation: twenty-year analysis," *Am. J. Obstet. Gynecol.*, vol. 192, no. 5, pp. 1458-1461, May. 2005.

Figure 1. Picture of the HIFU toroidal device. 1: HIFU transducer divided into 32 concentric rings. 2: Ultrasound imaging probe. 3 and 5: Holes for the cooling water. 4 and 6: Connectors for the cooling circuit. 7: coaxial cables for the HIFU emitters. 8: Cables for the ultrasound imaging probe.



Figure 2. Schematic diagram of the set-up.

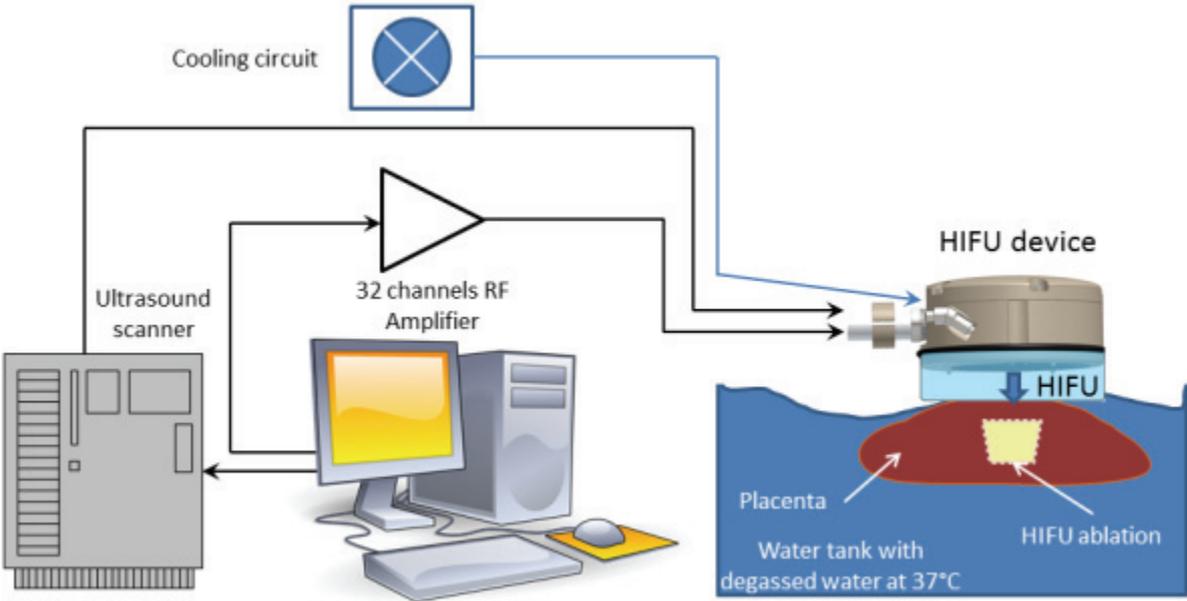


Figure 3. Placental lesions were created in 75 seconds using an acoustic power of 90 Watts. HIFU lesions were created at different distances from the surface of the placenta by adjusting the thickness of the coupling water and therefore the distance between the HIFU emitters and tissues. HIFU lesions were created at 2.5 mm (A), 5.8 mm (B), 7.0 mm (C) and 8.2 mm (D) from the maternal serous.

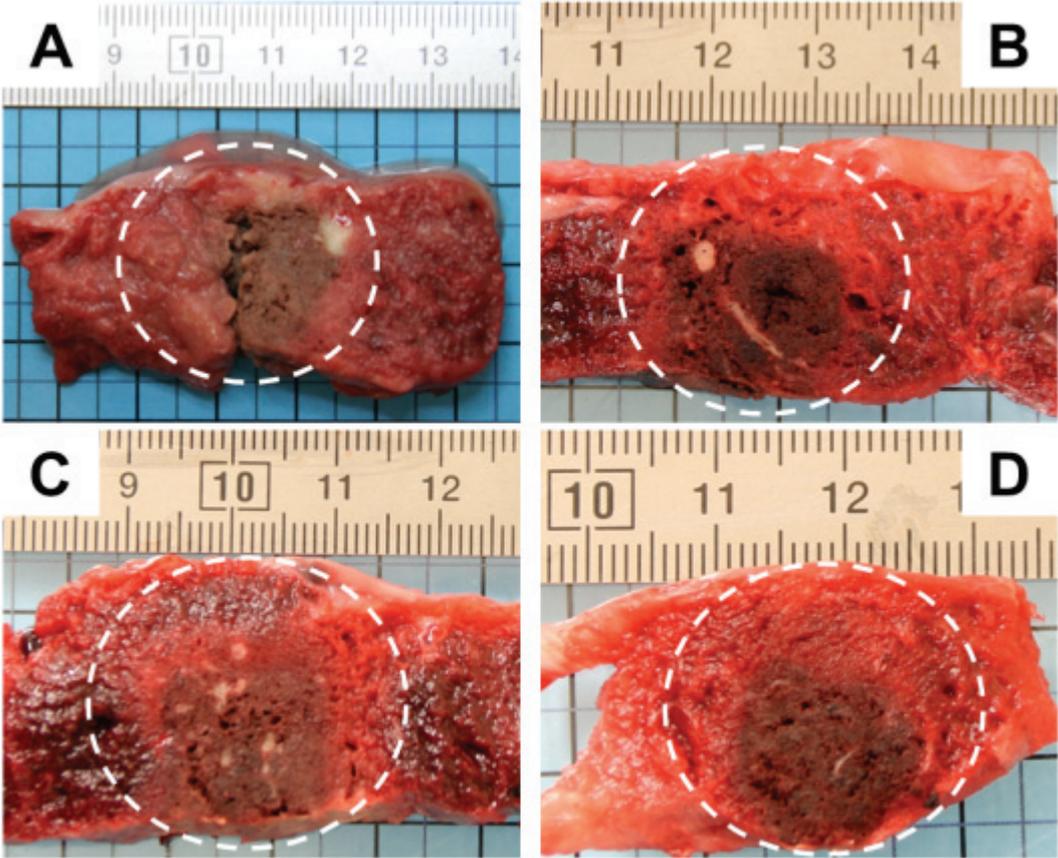


Figure 4. Placental lesions observed in gross pathology and in sonograms just after HIFU exposures. (A) Example of a HIFU lesion created 2.5 mm under the surface of the placenta and (B) the corresponding ultrasound image. (C) Example of a HIFU lesion created 7.5 mm under the surface of the placenta and (D) the corresponding ultrasound image. In all cases a hyperechoic region corresponding to the HIFU lesion was created just after each exposure. The distance between the surface of tissues and the HIFU lesion can be easily measured.

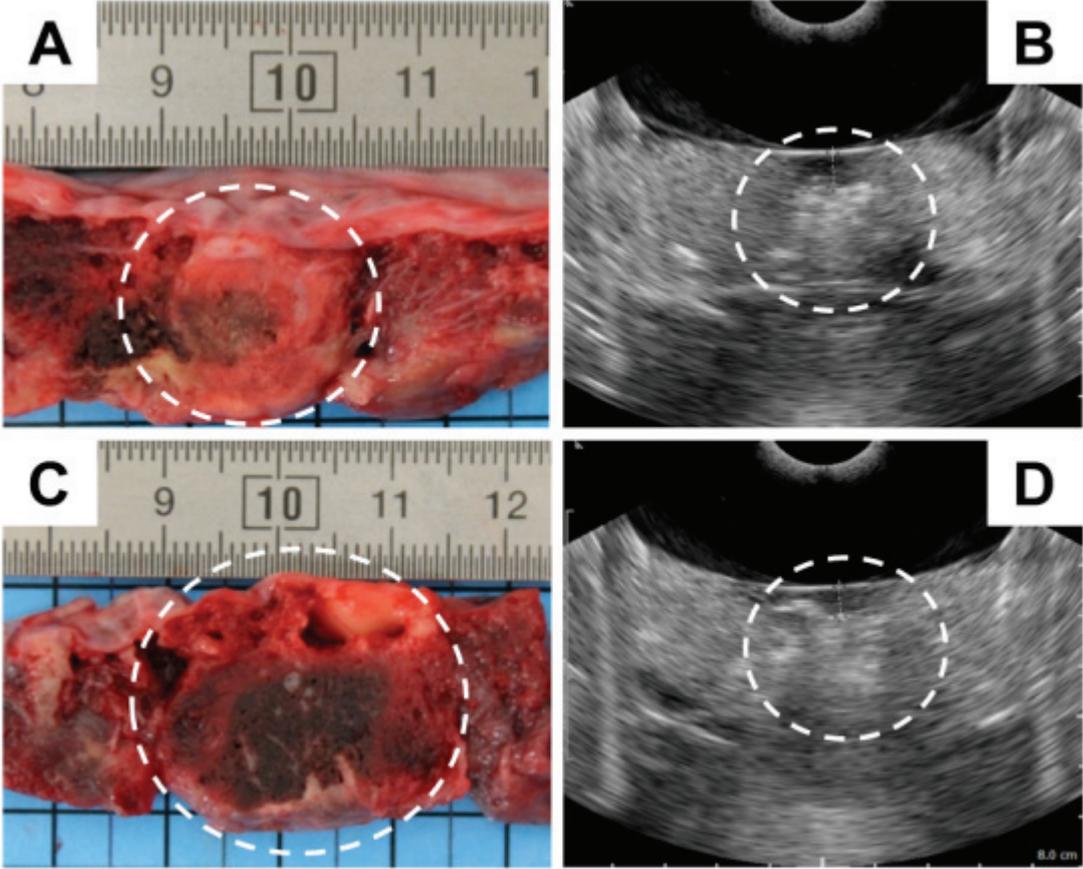
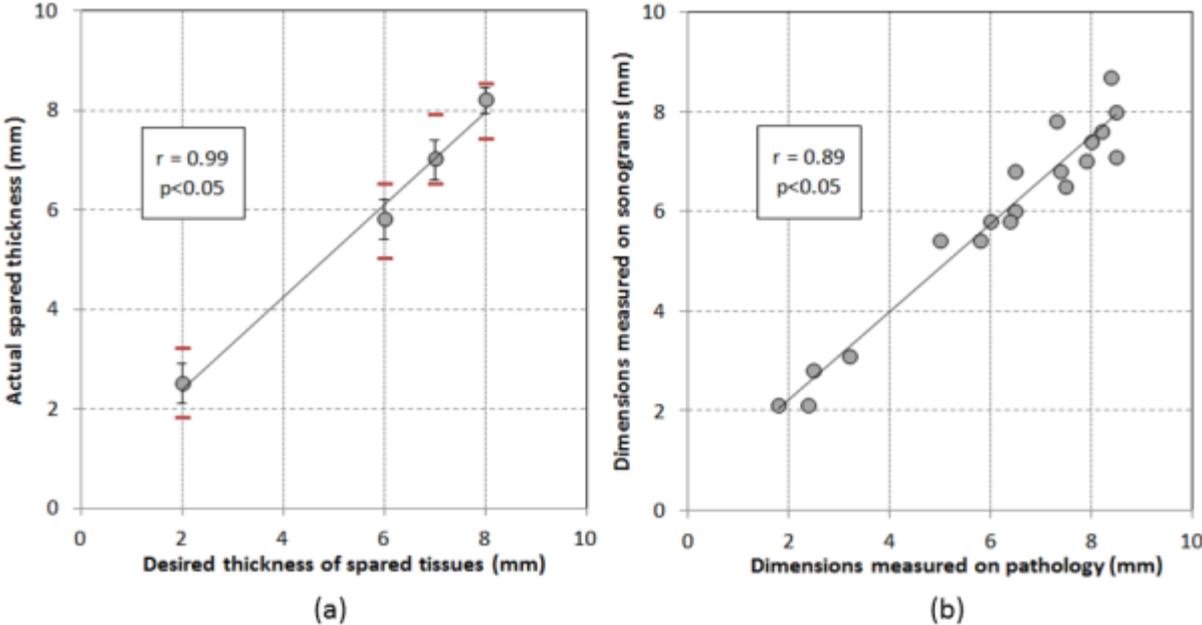


Figure 5. Correlation graph between the desired thickness of spared tissues and the actual spared thickness (a). Correlation graph between the dimensions measured on pathology and the dimensions measured on sonograms (b).



III- Conclusion et perspectives

L'objectif de ce travail était d'étudier un dispositif médical reposant sur les HIFU, pour des applications thérapeutiques dédiées au domaine obstétrical. L'organe cible était le placenta qui est un organe assurant le processus de développement fœtal et qui est impliqué dans certaines affections comme le syndrome transfuseur-transfusé dont la cause est la présence d'anastomoses vasculaires. L'absence de prise en charge thérapeutique conduit à la perte des deux jumeaux dans 70 à 100% des cas (10,11). La médecine fœtale s'est considérablement développée ces dernières années, particulièrement sur le versant thérapeutique. Le syndrome transfuseur-transfusé est un exemple de pathologie fœtale traitée *in utero* au même titre que les hernies de coupole diaphragmatique, les myeloméningocèles, la transfusion *in utero*, la coagulation sélective funiculaire ou le traitement laser des chorioangiomes placentaires (43,44,125-127). L'apport thérapeutique de la fœtoscopie qui s'est développée dans les années 90 est indéniable car elle permet la naissance d'au moins un enfant vivant dans 70 à 80 % des cas, mais cette technique est invasive (32). La procédure repose sur l'introduction d'un fœtoscope dans la cavité amniotique, celui-ci est muni d'un canal opérateur permettant de réaliser via une fibre laser la coagulation des anastomoses artério-veineuses (AAV). L'effraction de la cavité amniotique est à l'origine d'un risque de rupture prématurée des membranes, source d'accouchements prématurés et de fausses couches tardives, dont la prévalence est estimée entre 12 et 28% (23-25). D'autres complications sont reportées telles que la chorioamniotite, la septostomie, le décollement placentaire, et le TAPS (Twin Anemia Polycytemia Sequence). La séquence TAPS constitue la problématique principale de la photocoagulation. La séquence TAPS est marquée par la présence d'anastomoses vasculaires infra-centimétriques à l'origine d'une anémie pour l'un des jumeaux et d'une surcharge volumique pour le second, à bas bruit. La séquence TAPS

peut-être liée à une procédure de photocoagulation incomplète ou transitoire ce qui conduit à la récurrence des anastomoses. Au cours de notre projet, la bipartisation s'est imposée rapidement d'un point de vue intellectuel comme une technique prometteuse. Le principe est de convertir une grossesse monochoriale en grossesse bichoriale avec comme hypothèse de réduire les risques de récurrence du STT et de TAPS iatrogène. Les différents travaux dédiés à cette approche, à l'échelle de la fœtoscopie sont prometteurs et confortent notre hypothèse, bien que la transposition de ces deux traitements ne puisse pas être faite (20-22). Les AAV sont localisées en profondeur du placenta, et leurs communications s'effectuent à environ 5 millimètres de la face placentaire fœtale (3-5). Par la création d'une ligne de coagulation équatoriale placentaire, de la face fœtale à environ dix millimètres en profondeur du placenta, nous avons suggéré une efficacité similaire voire supérieure de la chirurgie ultrasonore à celle de la photocoagulation laser par fœtoscopie. Par la démonstration de l'efficacité, de la reproductibilité à l'échelle préclinique, une étude clinique sera initiée afin de démontrer l'intérêt de cette technique pour le traitement du STT et pourrait ainsi représenter une alternative prometteuse. Bien qu'il soit possible d'entraîner une coagulation tissulaire à des distances importantes du transducteur, la présence des fœtus en amont de la zone de coagulation comporte un risque théorique de complications fœtales, raison pour laquelle ce traitement devrait être employé, dans un premier temps, en présence d'un placenta antérieur. La présence d'un placenta antérieur rend la fœtoscopie difficile, tandis qu'elle paraît plus simple en présence d'un placenta postérieur (44). En ce sens, les HIFU doivent être considérée comme une application thérapeutique alternative à la fœtoscopie en cas de placenta antérieur, tandis que la technique fœtoscopique devrait être considérée comme la thérapie de référence pratiquée en présence d'un placenta postérieur. Les recherches fondées sur l'application thérapeutique des HIFU en médecine fœtale sont rares, et très éloignées de la pratique clinique courante (114-119). Les modèles expérimentaux à ce jour, ne permettent pas

la validation d'une étude à l'échelle clinique. Ce projet de recherche avait pour ambition d'étudier un modèle préclinique pertinent, au plus proche du contexte clinique, raison pour laquelle, un modèle de guenons gestantes a été utilisé.

En parallèle des travaux sur le STT, des études ont été menés sur le traitement des accrétions placentaires qui représente ce que beaucoup considère comme étant la pathologie obstétricale du XXI^e siècle. Le placenta accreta est une invasion anormalement profonde du placenta au niveau du site d'implantation. Normalement, l'invasion placentaire est confinée à la muqueuse utérine ; en cas de placenta accreta, l'invasion placentaire atteint le muscle sous-jacent (myomètre) qu'elle peut même perforer. Le terme de placenta "percreta" fait référence à l'atteinte de la séreuse utérine voire des organes adjacents et notamment de la vessie. Le principal facteur de risque est un antécédent de cicatrice utérine, de plus en plus liée à la pression médico-légale qui repose sur les épaules des obstétriciens pour augmenter le nombre de césariennes pratiquées et dont les effets pervers à long terme sont encore sous-estimés (49). La prise en charge demeure débattue, non consensuelle et requiert des équipes expérimentées (59). Le pronostic maternel peut être compromis, et les différentes options qui s'offrent aux praticiens ne sont guère enthousiasmantes. Le praticien est confronté au dilemme suivant : conserver l'utérus en laissant le placenta en place, avec pour objectif la déliquescence naturelle du placenta exposant de fait, aux risques hémorragiques et infectieux, ou réaliser une hystérectomie d'emblée, au prix d'une comorbidité et d'une mortalité maternelle non négligeables (60). Le traitement conservateur souvent décrié outre-Atlantique, devient de plus en plus répandu. L'absence de traitement adjuvant efficace constitue cependant le talon d'Achille de ce choix thérapeutique (71-75). Nous avons émis l'hypothèse que les HIFU permettraient d'accélérer la déliquescence placentaire, avec pour corollaire, la diminution des risques infectieux, hémorragiques, voire la conservation de la fertilité ou la facilitation d'une hystérectomie secondairement. Les travaux dédiés à l'application

thérapeutique des HIFU pour la pathologie placentaire sont quasi-inexistants. A l'heure actuelle, un seul travail à l'échelle clinique a été publié mais les résultats restent controversés en raison de la conception même de l'étude ne permettant pas une superposition de la technique en pratique clinique (120). Bien que les techniques d'imagerie se soient développées, le diagnostic est souvent suspecté en période anténatale et confirmé au cours de la césarienne. Bai *et al.* ont démontré la faisabilité d'un traitement HIFU pour le placenta accreta dans les suites d'un accouchement par les voies naturelles (120). Toutefois, les accrétions placentaires sont majoritairement caractérisées par la présence d'un placenta praevia, nécessitant une césarienne. La description d'un placenta accreta ou percreta à distance du segment inférieur de l'utérus est rapportée de façon exceptionnelle (128).

Les transducteurs HIFU sont nombreux. Nous avons fait le choix de travailler avec une sonde torique (111,112). Cette sonde, développée par le laboratoire LabTAU, unité 1032 de l'INSERM, était dédiée initialement au traitement des métastases hépatiques par voie per-opératoire. Les travaux issus de la recherche préclinique puis clinique confirment son intérêt (111-113). Ces travaux ont démontré qu'il était possible d'induire des lésions de nécroses hépatiques per-opératoire, de visualiser les lésions produites par échographie et d'occlure des vaisseaux infra-centimétriques rendant le traitement indépendant de la perfusion (99,101,109,112). Par rapport aux techniques existantes, cette nouvelle technologie présente l'intérêt de pouvoir détruire des volumes tissulaires allant jusqu'à de 50 cm³ en des temps extrêmement courts, de 370 secondes (112). De plus il est possible de produire ces zones de destruction en profondeur dans les tissus sans atteintes des zones proximales, conférant au-delà des espérances initiales, des possibilités d'applications extracorporelles (112). Les dimensions de la lésion sont ajustables électroniquement par ajustement des délais appliqués sur chacun des 32 éléments qui composent le transducteur HIFU. La présence d'une cellule d'imagerie échographique intégrée apporte l'avantage de cibler et de monitorer en temps réel

le traitement. Il est ainsi possible d'observer les effets du traitement durant l'intervention, ce qui constitue un intérêt majeur en pratique clinique, et indispensable pour la thérapie fœtale ou obstétricale. Cette sonde est ergonomique et se tient à une main. En contexte chirurgical délicat tel que le traitement du placenta accreta, cet apport est indéniable mais reste à évaluer en pratique clinique.

Au cours d'un premier travail, nous avons évalué les caractéristiques acoustiques du tissu placentaire à différents âges gestationnels (129). Cette donnée est importante car elle est ensuite utilisée dans un modèle de simulation numérique des lésions induites afin d'estimer les paramètres de traitement HIFU qui seront appliqués (96). Les caractéristiques acoustiques des tissus sont variables et les données issues de la littérature concernant le tissu placentaire sont inexistantes. Nous avons ainsi pu mesurer l'atténuation ultrasonore dans les tissus placentaires et observer notamment une légère augmentation de l'atténuation tissulaire, au cours de l'âge gestationnel, comprise entre 0.072 et 0.098 $\text{Np.cm}^{-1}.\text{MHz}^{-1}$. Cette augmentation est probablement en lien avec la calcification progressive du placenta. Cette donnée nous a permis de conclure à l'utilisation d'une puissance acoustique similaire à celle appliquée dans les tissus hépatiques dont l'atténuation est comprise entre 0,09 et 0,16 $\text{Np.cm}^{-1}.\text{MHz}^{-1}$ (130). Cette forte similarité permettait d'envisager une transposition assez directe entre le traitement des métastases hépatiques et le traitement du STT et des placentas accretas.

Ces premières études se sont poursuivies par la mise en place d'un modèle *ex-vivo* se rapprochant autant que possible des conditions *in-vivo*, que ce soit pour le traitement du STT ou le traitement du placenta accreta. Ainsi, afin de respecter les conditions cliniques, et après accord du comité de protection des personnes Lyon Sud IV, des placentas humains ont été inclus après accouchement par les voies naturelles pour un âge gestationnel compris entre 36 et 40 semaines d'aménorrhées (SA). L'épaisseur de paroi était en moyenne de $11,0 \pm 0,5$ millimètres et similaire à celle observée chez une guenon gestante, dont l'évaluation a été

réalisée en amont par échographie à partir de 12 guenons gestantes. Au total, 33 lésions placentaires ont été produites après interposition d'une paroi abdominale d'origine animale et dont l'épaisseur était en moyenne de $10,8 \pm 1,7$ millimètres. Des lésions élémentaires et juxtaposées ont été produites. Chaque lésion élémentaire était créée en 55 secondes en appliquant une puissance acoustique de 90 Watts. Au total, 25 lésions élémentaires étaient produites. Les lésions étaient reproductibles, leurs diamètres et leurs profondeurs mesuraient en moyenne $7,1 \pm 3,2$ et de $8,0 \pm 3,1$ millimètres respectivement. Huit lésions HIFU ont également été produites à partir de la juxtaposition de 6 lésions élémentaires en déplaçant latéralement la sonde de 5 mm entre chaque insonification. Le diamètre et la profondeur de ces lésions juxtaposées étaient en moyenne de $23,0 \pm 5,0$ et $11,0 \pm 4,7$ millimètres respectivement. Au cours de la juxtaposition des lésions, un temps de latence de 2 minutes était respecté afin de positionner le transducteur et de limiter les effets cumulatifs de chaleur. Aucune lésion située en amont de la lésion placentaire produite n'a été observée au cours des essais. L'analyse macroscopique montrait une lésion noirâtre cerclée d'un halo clair et parsemé de petites cavités correspondant au phénomène d'ébullition. Ces résultats démontrent la faisabilité de création d'une lésion placentaire par HIFU. La distance focale ne constitue pas en soi un facteur limitant. Il est ainsi possible de produire une lésion tissulaire à des distances relativement importantes (de l'ordre de 7 cm), autorisant à l'heure actuelle le traitement HIFU de certains organes profonds, par voie *extracorporis* (100). Ces résultats obtenus *ex-vivo* ont servi de socle préliminaire à la mise en place d'une étude *in-vivo*. En plus de ces résultats encourageants l'étude *in-vivo* s'appuyait également sur la démonstration préliminaire de l'indépendance du traitement HIFU avec un transducteur torique par rapport à la perfusion sanguine (90). Ceci permettait d'envisager une transposition assez directe des paramètres de traitements. De plus les lésions produites *ex-vivo* bien que visibles sur les images échographiques présentaient des contours flous rendant le monitoring échographique

décevant. La nature spontanément hyperéchogène des tissus *ex-vivo* est probablement à l'origine de cette faible qualité du monitoring. Cependant, des travaux menés avec cette même sonde décrivaient une excellente corrélation entre les mesures effectuées en échographie et celles réalisées macroscopiquement au cours du traitement *in-vivo* et clinique des métastases hépatiques par la sonde torique ($r = 0,92$; $p < 0,01$) Ces observations sont probablement liées au processus de coagulation qui élimine les espaces intercellulaires *in-vivo*, alors qu'*ex-vivo*, ces espaces sont déjà absents. Ces résultats *in-vivo* suggèrent donc la possibilité d'une qualité du monitoring des lésions placentaires supérieures lorsque celles-ci sont produites *in-vivo* (99).

Une étude préclinique de faisabilité à partir d'un modèle de guenon gestante a donc été entreprise sur la base des expériences *ex-vivo*. Elle a permis d'évaluer la faisabilité, l'efficacité, et l'innocuité des HIFU appliqués à l'unité placentaire. Bien que ce modèle ne puisse reproduire le STT, il apporte une évaluation relativement fiable de l'efficacité du traitement à l'échelle clinique compte tenu de ses caractéristiques anatomiques et gestationnels proches par rapport à l'Homme. Des modèles de lapines ou de brebis gestantes ont été étudiés, mais ils n'autorisent pas une extrapolation à l'échelle clinique, notamment en raison de la position des animaux qui se déplacent sur leurs quatre pattes et donc la présence des intestins devant l'utérus (114-118). Huit guenons gestantes de l'espèce *cynomolgus*, ont été incluses pour un âge gestationnel moyen de 72 ± 4 jours. La placentation est marquée dans 75 % des cas par la présence d'un placenta bipartita et la durée moyenne de gestation est de 180 jours. Afin de limiter les complications maternelles et fœtales, le temps de traitement et la puissance acoustique ont été ajustées progressivement. Ainsi, les puissances acoustiques utilisées étaient de 65, 80, 110 et 120 Watts pour un temps de traitement de 30, 15, 20 et 20 secondes respectivement. Une attention très particulière était portée au suivi des constantes maternelles et fœtales. Ainsi, au cours du traitement, des capteurs de température sous cutanés

et intra-amniotiques ont été positionnés sur l'axe acoustique. Au total 13 insonifications ont été réalisées et six lésions placentaires ont été produites pour un diamètre et une profondeur moyens de $7,8 \pm 0,7$ et de $3,8 \pm 1,5$ millimètres, respectivement. Cinq lésions étaient produites en regard de l'insertion antérieure du placenta et une lésion a été produite en regard de l'insertion postérieure. L'analyse histologique a confirmé la présence d'une lésion de nécrose de coagulation que ce soit par coloration histologique standard ou par immunohistochimie. Nous avons observé au cours cette étude, la difficulté de localiser précisément la zone de traitement avec pour corollaire une préparation longue des manipulations (30 minutes à 1 heure). Dans un premier temps, la mesure de paroi était réalisée par une échographie abdominale de haute fréquence puis, la sonde torique était posée sur la paroi abdominale. La sonde torique dans sa version expérimentale était lourde, ayant pour effet mécanique la réduction de l'épaisseur de paroi par compression. Cette modification de l'épaisseur de la paroi au cours du positionnement a pu contribuer, en partie, à l'origine de l'absence initiale de lésions placentaires. Ainsi, des efforts ont été réalisés sur le changement de la cellule d'imagerie, afin d'accroître la capacité de ciblage du dispositif, permettant de s'affranchir d'effectuer notre repérage avec une sonde d'échographie haute fréquence indépendante. Que ce soit par l'utilisation d'une sonde haute fréquence ou de la cellule d'imagerie intégrée, nous avons observé une visualisation précise de la lésion produite. Cette observation est capitale car elle permet d'envisager à l'échelle clinique des essais et à forte raison, de réaliser une juxtaposition des lésions manuellement. Nous avons également observé que les épaisseurs de parois abdominales et placentaires variaient entre les différents guenons et pour une même guenon, ce qui imposait un ajustement précis des paramètres de traitement pour chaque insonification. La création d'une juxtaposition des lésions devra être envisagée afin d'évaluer la faisabilité d'une bipartition à l'échelle clinique. Les effets à long

terme des lésions produites doivent également être étudiés pour compléter ces premières observations, en particulier avec l'imagerie échographique et IRM.

Le choix d'une bipartisation placentaire par HIFU représenterait une réelle avancée pour la prise en charge du syndrome transfuseur-transfusé, en regard de celle qui est proposée actuellement par fœtoscopie. La bipartisation profonde par HIFU n'a jamais été suggérée à l'échelle humaine. L'échographie est limitée pour la visualisation des anastomoses vasculaires, raison pour laquelle nous n'avons pas jugé utile d'employer les HIFU pour la réalisation d'une coagulation sélective, mais pour la réalisation d'une coagulation en profondeur (12,13). La délimitation de l'équateur placentaire est envisageable par échographie 3D, mais son apport reste à évaluer (131,132). La sonde échographique intégrée à la sonde torique ne permet pas à l'heure actuelle d'effectuer une imagerie 3D, mais il est possible d'implémenter à terme cette nouvelle technique. Une seule étude clinique sur le traitement d'un STT par HIFU a été publiée par une équipe Japonaise (119). Les résultats ont démontré qu'il était possible de réaliser une interruption sélective de grossesse dans le cadre d'une séquence TRAP. L'interruption sélective de grossesse consiste à pratiquer une interruption du flux sanguin chez l'un des jumeaux par coagulation. Cette interruption s'effectue au cours d'une fœtoscopie, dont les risques materno-fœtales sont similaires à celle d'une procédure de photocoagulation laser. Cette situation reste cependant exceptionnelle. Les HIFU pourraient être davantage généralisés via la réalisation des interruptions médicales non sélective de grossesse.

En parallèle de ces travaux sur le traitement des STT par HIFU, une seconde étude *ex-vivo* a été entreprise afin d'évaluer la faisabilité d'un traitement HIFU pour le traitement du placenta accreta per-césarienne. Huit placentas humains ont été inclus pour un âge gestationnel compris entre 39 et 40 SA. Ce terme a été choisi en raison des caractéristiques acoustiques préalablement déterminés au cours de l'étude préliminaire. Il n'existe pas à

l'heure actuelle de données sur l'atténuation tissulaire placentaire concernant les placentas accretas. Nous avons considéré que cette pathologie devait nécessiter des puissances acoustiques plus importantes, raison pour laquelle le terme sélectionné au cours de l'étude *ex-vivo* des placentas humains était plus élevé en comparaison du terme habituellement observé au cours des césariennes pour placenta accreta. La simulation de la séreuse utérine est compliquée d'un point de vue technique, raison pour laquelle la sonde torique était placée au contact directe de la face fœtale placentaire. A l'échelle clinique, une variation de l'épaisseur placentaire est attendue, que ce soit pour une même patiente ou entre les patientes. Ainsi, les lésions placentaires ont été produites à 2 ($n=4$), 6 ($n=4$), 7 ($n=4$) et 8 ($n=7$) millimètres de la surface du placenta afin d'anticiper diverses conditions expérimentales. Au total, 19 lésions placentaires ont été produites pour un diamètre et une profondeur moyenne de $14,6 \pm 2,1$ et de $14,1 \pm 2,3$ millimètres respectivement. Il a ainsi été possible de réaliser des volumes d'ablation homogènes et reproductibles tout en épargnant différentes épaisseurs de tissus. Les lésions étaient visibles dans les suites immédiates du traitement sous la forme d'une image hyperéchogène, et bien corrélée à l'analyse macroscopique ($r = 0,98$, $p < 0,05$). Bai *et al.* ont démontré qu'il était possible d'induire une nécrose placentaire dans les suites d'un accouchement par les voies naturelles (120). Cette étude reste controversée pour plusieurs raisons ; le diagnostic d'accrétion placentaire est établie dans la majorité des cas dans les suites d'une césarienne ; les accrétions placentaires sont souvent la conjonction de deux phénomènes, un placenta praevia et les antécédents de césarienne. Selon notre opinion, il paraît plus judicieux de se positionner dans un contexte de césarienne. A partir des résultats préliminaires, une étude clinique sera menée au cours des deux prochaines années sur l'intérêt d'un traitement HIFU pour la prise en charge thérapeutique et conservatrice du placenta accreta. Le volume placentaire à coaguler et les complications maternelles potentielles restent incertains. Le principe de l'étude clinique sera de coaguler le lit antérieur placentaire. Afin

d'éviter tout risque d'atteinte des organes de voisinage des compresseurs seront positionnées en arrière de l'utérus. Un projet de recherche clinique a été établi en partenariat avec les Hospices Civils de Lyon, la société EDAP-TMS et le laboratoire LabTAU Inserm U1032 (Annexe 1). Il est prévu d'inclure 3 patientes dans cet essai de Phase I afin de valider la faisabilité et l'innocuité des tirs HIFU per-césarienne pour induire des lésions placentaires, chez des patientes présentant un placenta accreta. Nous décrirons également la capacité éventuelle du traitement HIFU à induire une délivrance spontanée et son délai de survenue. Nous caractériserons les lésions produites sur les plans échographiques, macroscopiques et histologiques, leur évolution dans le temps et l'évolution clinique de la patiente jusqu'à 12 mois post-césarienne. Au maximum 15 tirs HIFU seront réalisés immédiatement dans les suites de la naissance, couvrant environ 30 % de la surface placentaire.

En conclusion, l'ensemble des études *ex-vivo* démontrent la faisabilité et la reproductibilité d'un traitement HIFU appliqué au placenta. Il est ainsi possible de créer des lésions, que ce soit selon un mode extracorporel ou in situ. Les travaux *in-vivo* démontrent l'efficacité et l'innocuité d'un traitement HIFU extracorporel dans le placenta de femmes gestantes. Ce modèle d'étude doit être poursuivi afin d'inclure un nombre de femmes significatif, en évaluant la faisabilité d'une bipartition. Les capacités de cibler et de monitorer les lésions à long terme doivent être évaluées, éventuellement en envisageant d'autres modes d'imagerie comme par exemple le mode 3D ou l'IRM. Par la démonstration d'une telle efficacité, une étude clinique pourrait être réalisée afin d'évaluer l'efficacité d'un traitement HIFU pour le traitement du STT. Enfin, des travaux *ex-vivo* ont démontré la faisabilité d'un traitement HIFU pour les accrétiens placentaires. Sur la base de ces résultats et des expériences cliniques préalables de traitement HIFU peropératoire des métastases hépatiques, une étude clinique sera entreprise en partenariat avec la société EDAP, les Hospices Civils de Lyon et le LabTAU Inserm U1032 afin d'évaluer la faisabilité et

l'efficacité d'un traitement HIFU per-césarienne pour le traitement des accrétions placentaires.

IV. Références

1. Sebire NJ, D'Ercole C, Hughes K, Carvalho M, Nicolaides KH. Increased nuchal translucency thickness at 10-14 weeks of gestation as a predictor of severe twin-to-twin transfusion syndrome. *Ultrasound Obstet Gynecol*, 1997, 10, 2, p. 86-89.
2. Quintero RA, Dickinson JE, Morales, *et al.* Stage-based treatment of twin-twin transfusion syndrome. *Am J Obstet Gynecol*, 2003, 188, 5, p. 1333-1340.
3. Bajoria R, Wigglesworth J, Fisk NM. Angioarchitecture of monochorionic placentas in relation to the twin-twin transfusion syndrome. *Am J Obstet Gynecol*, 1994, 172, 3, p. 856-63.
4. Machin GA. Placental vascular anatomy and twin transfusion syndrome. *Am J Obstet Gynecol*, 1996, 174, 2, p. 799-800.
5. Denbow ML, Cox P, Taylor M, Hammal D, Fisk NM. Placental angioarchitecture in monochorionic twin pregnancies : Relationship to fetal growth, fetofetal transfusion syndrome, and pregnancy outcome. *Am J Obstet Gynecol*, 2000, 182, 2, p. 417-426.
6. Wee LY, Taylor M, Watkins N, Franke V, Paik K, Fisk NM. Characterisation of deep arterio-venous anastomoses within monchorionic placentae by vascular casting. *Placenta*, 2005, 26, 1, p. 19-24.
7. Lemery DR, Santolaya-Forgas J, Serre AF, Besse GH, Jacquelin B. Fetal serum erythropoietin in twin pregnancies with discordant growth. A clue for the prenatal diagnosis of monochorionic twins with vascular communications. *Fetal Diagnosis Ther*, 1995, 10, 2, p. 86-91.
8. Nageotte MP, Hurwitz SR, Kaupke CJ, Vaziri ND, Pandian MR. Atriopeptin in the twin transfusion syndrome. *Obstet Gynecol*, 2001, 73, 5, p. 867-870.
9. Bajoria R, Ward S, Sooranna SR. Atrial natriuretic peptide mediated polyuria : pathogenesis of polyhydramnios in the recipient twin of twin-twin transfusion syndrome. *Placenta*, 2001, 22, 8-9, p. 716-724.
10. Berghella V, Kaufmann M. Natural history of twin-twin transfusion syndrome. *J Reprod Med*, 2001, 46, 5, p. 480-484.
11. Haverkamp F, Lex C, Hanisch C, Fahnenstich H, Zerres K. Neurodevelopmental risks in twin-to-twin transfusion syndrome: preliminary findings. *Eur J Pediatric Neurology* 2001, 5, 1, p. 21-27.
12. Taylor JO, Farquharson D, Cox PM, Fisk NM. Identification of arterio-venous anastomoses in-vivo in monochorionic twin pregnancies : preliminary report. *Ultrasound Obstet Gynecol*, 2000, 16, 3, p. 218-222.
13. Sau A, Weber M, Shennan AH, Maxwell D. Antenatal detection of arteriovenous anastomoses in monochorionic twin pregnancy. *Int J Gynaecol Obstet*, 2008, 100, 1, p. 56-59.

14. Quintero RA, Morales WJ, Allen MH, Bornick PW, Johnson PK, Kruger M. Staging of twin-twin transfusion syndrome. *J Perinat*, 1999, 19, 8, p. 550-555.
15. De Lia JE, Cruikshank DP, Keye WR JR. Fetoscopic neodymium: YAG laser occlusion of placental vessels in severe twin-twin transfusion syndrome. *Obstet Gynecol*, 1990, 75, 6, p. 1046-53.
16. Ville Y, Hyett J, Hecher K, Nicolaidis K. Preliminary experience with endoscopic laser for severe twin-twin transfusion syndrome. *N Engl J Med*, 1995, 332, 4, p. 224-227.
17. Stirnemann J, Essaoui M, Ville Y. Le point sur les thérapies foetales. Le syndrome transfuseur-transfusé, *Collège Nationale des Gynécologues Obstétriciens Français*, tome XXXIII, 2009, p. 31-43.
18. Thilaganathan B, Gloeb DJ, Sairam S, Tekay A. Sonoendoscopic evaluation of the placental vascular equator prior to selective fetoscopic laser ablation in twin-to-twin transfusion syndrome. *Ultrasound Obstet Gynecol*, 2000, 16, 3, p. 226-229.
19. Quintero RA, Ishii K, Chmait RH, Bornick PW, Allen MH, Kontopoulos EV. Sequential selective laser photocoagulation of communicating vessels in twin-twin transfusion syndrome. *J Matern Fetal Neonatal Med*, 2007, 20, 10, p. 763-768.
20. Ruano R, Rodo C, Peiro JL, *et al.* Fetoscopic laser ablation of the placental anastomoses in twin-twin transfusion syndrome using the "Solomon technique. *Ultrasound Obstet Gynecol*, 2013, 42, 4, p. 434-439.
21. Baschat AA, Barber J, Pedersen N, Turan OM, Harman CR. Outcome after fetoscopic selective laser ablation of placental anastomoses vs equatorial laser dichorionization for the treatment of twin-to-twin transfusion syndrome. *Am J Obstet Gynecol*, 2013, 209, 3, p. 234 e1-8.
22. Slaghekke F, Lopriore E, Lewi L, *et al.* Fetoscopic laser coagulation of the vascular equator versus selective coagulation for twin-to-twin transfusion syndrome: an open label randomized controlled trial. *Lancet*, 2014, 383, 9935, p. 2144-2151.
23. Habli M, Bombrys A, Lewis D, *et al.* Incidence of complications in twin-twin transfusion syndrome after selective fetoscopic laser photocoagulation : a single-center experience. *Am J Obstet Gynecol*, 1999, 201, 4, p. 417.e1-7.
24. Yamamoto M, El Murr L, Robyr R, Leleu F, Takahashi Y, Ville Y. Incidence and impact of perioperative complications in 175 fetoscopy-guided laser coagulations of chorionic plate anastomoses in fetofetal transfusion syndrome before 26 weeks of gestation. *Am J Obstet Gynecol*, 2005, 193, 3, p. 1110-1116.
25. Weingertner AS, Kohler A, Mager C, *et al.* Fetoscopic laser coagulation in 100 consecutive monochorionic pregnancies with severe twin-to-twin transfusion syndrome. *J Gynecol Obstet Biol Reprod*, 2011, 40, 5, p. 444-451.

26. Quintero R, Morales W, Mendoza G, *et al.* Selective photocoagulation of placenta vessels in twin-twin transfusion syndrome : evolution of a surgical technique. *Obstet Gynecol Surv*, 1998, 53, 12, p. 97-103.
27. Cincotta RB, Gray PH, Gardener G, Soong B, Chan FY. Selective fetoscopic laser ablation in 100 consecutive pregnancies with severe twin-twin transfusion syndrome. *Austr N Z J Obstet Gynaecol*, 2009, 49, 1, p. 22-27.
28. Hecher K, Diehl W, Zikulnig L, Vetter M, Hachelöer BJ. Endoscopic laser coagulation of placental anastomoses in 200 pregnancies with severe mid-trimester twin-to-twin transfusion syndrome. *Eur J Obstet Reprod Biol*, 2000, 92, 1, p. 135-139.
29. Ville Y, Hecher K, Gagnon A, Seibre N, Hyett J, Nicolaides K. Endoscopic laser coagulation in the management of severe twin-twin transfusion syndrome. *BJOG*, 1998, 105, 4, p. 446-453.
30. Robyr R, Lewi L, Salomon LJ, *et al.* Prevalence and management of late fetal complications following successful selective laser coagulation of chorionic plate anastomose in twin-to-twin transfusion syndrome. *Am J Obstet Gynecol*, 2006, 194, 3, p. 796-803.
31. Quintero RA, Dickinson JE, Morales WJ, *et al.* Stage-based treatment of twin-twin transfusion syndrome. *Am J Obstet Gynecol*, 2003, 188, 5, p. 1333-1340.
32. Senat MV, Deprest J, Boulvain M, Paupe A, Winer N, Ville Y. Endoscopic laser surgery versus serial amnioreduction for severe twin-to-twin transfusion. *N Engl J Med*, 2004, 351, 2, p. 136-44.
33. Crombleholme TM, Shera D, Lee H, *et al.* A prospective randomized, multicenter trial of amnioreduction vs selective fetoscopic laser photocoagulation for the treatment of severe twin-twin transfusion syndrome. *Am J Obstet Gynecol*, 2007, 197, 4, p. 396.e1-396.e9.
34. O'Donoghue K, Cartwright E, Galea P, Fisk N. Stage I twin-twin transfusion syndrome rates of progression and regression in relation to outcome. *Ultrasound Obstet Gynecol*, 2007, 30, 7, p. 958-964.
35. Emery SP, Hasley SK, Catov JM, *et al.* North American Fetal therapy Network: intervention vs expectant management for stage I twin-twin transfusion syndrome. *Am J Obstet Gynecol*, 2016, 215, 3, p. 346.e1-7.
36. Cruz-Martinez R, Van Mieghem T, Lewi L, *et al.* Incidence and clinical implications of early inadvertent septostomy after laser therapy for twin-twin transfusion syndrome. *Ultrasound Obstet Gynecol*, 2011, 37, 4, p. 458-462.
37. Lopriore E, Slaghekke F, Middeldorp JM, *et al.* Residual anastomoses in twin-to-twin transfusion syndrome treated with selective fetoscopic laser surgery: localization, size, and consequences. *Am J Obstet Gynecol* 2009, 201, 1, p. 66.e1-4.

38. Rustico MA, Lanna MM, Faiola S, *et al.* Fetal and maternal complications after selective fetoscopic laser surgery for twin-to-twin transfusion syndrome: a single-center experience. *Fetal Diagn Ther*, 2012, 31, 3, p. 170-178.
39. Lewi L, Jani J, Blickstein I, *et al.* The outcome of monochorionic diamniotic twin gestations in the era of invasive fetal therapy: a prospective cohort study. *Am J Obstet Gynecol*, 2008, 199, 5, p. 514 e1-8.
40. Lopriore E, Middeldorp J, Oepkes D, Kanhai H, Walther F, Vandebussche F. Twin anemia-polycythemia sequence in two monochorionic twin pairs without oligo-polyhydramnios sequence. *Placenta*, 2007, 28, 1, p. 47-51.
41. De Villiers S, Slaghekke F, Middeldorp JM, *et al.* Arterio-arterial vascular anastomoses in monochorionic twin placentas with and without anemia polycythemia sequence. *Placenta* 2012, 33, 3, p. 227-229.
42. Weingertner AS, Kohler A, Kohler, *et al.* Clinical and placental characteristics in four new cases of twin anemia-polycythemia sequence. *Ultrasound Obstet Gynecol*, 2010, 35, 4, p. 490-494.
43. Adzick NS, Thom EA, Spong CY, *et al.* A randomized trial of prenatal versus postnatal repair of myelomeningocele. *N Engl J Med*, 2011, 364, 11, p. 993-1004.
44. Deprest J, Gratacos E, Nicolaides KH. Fetoscopic tracheal occlusion (FETO) for severe congenital diaphragmatic hernia: evolution of a technique and preliminary results. *Ultrasound Obstet Gynecol*, 2004, 24, 2, p. 121-126.
45. Khong TY, Robertson WB. Placenta accreta and placenta praevia accreta. *Placenta*, 1987, 8, 4, p. 399-409.
46. Knight M, Ukoss. Peripartum hysterectomy in the UK: management and outcomes of the associated haemorrhage. *BJOG*, 2007, 114, 11, p. 1380-1387.
47. Zwart JJ, Dijk PD, van Roosmalen J. Peripartum hysterectomy and arterial embolization for major obstetric hemorrhage: a 2-year nationwide cohort study in the Netherlands. *Am J Obstet Gynecol*, 2010, 202, 2, p. 150.e1-7.
48. O'Brien JM, Barton JR, Donaldson ES. The management of placenta percreta: conservative and operative strategies. *Am J Obstet Gynecol*, 1996, 175, 6, p. 1632-1638.
49. Miller DA, Chollet JA, Goodwin TM. Clinical risk factors for placenta previa-placenta accreta. *Am J Obstet Gynecol*, 1997, 177, 1, p.210-214.
50. Gielchinsky Y, Rojansky N, Fasouliotis SJ, Ezra Y. Placenta accreta--summary of 10 years: a survey of 310 cases. *Placenta*, 2002, 23, 2-3, p.210-214.
51. Morlando M, Sarno L, Napolitano R, *et al.* Placenta accreta: incidence and risk factors in an area with a particularly high rate of cesarean section. *Acta Obstet Gynecol Scand*, 2013, 92, 4, p. 457-460.

52. Silver RM, Landon MB, Rouse DJ, *et al.* Maternal morbidity associated with multiple repeat cesarean deliveries. *Obstet Gynecol*, 2006, 107, 6, p. 1226-1232.
53. Wu S, Kocherginsky M, Hibbard JU. Abnormal placentation: twenty-year analysis. *Am J Obstet Gynecol*, 2005, 192, 5, p. 1458-1461.
54. Fitzpatrick KE, Sellers S, Spark P, Kurinczuk JJ, Brocklehurst P, Knight M. Incidence and risk factors for placenta accreta/increta/percreta in the UK: a national case-control study. *PloS one*, 2012, 7, 12, p. e52893.
55. Fitzpatrick KE, Sellers S, Spark P, Kurinczuk JJ, Brocklehurst P, Knight M. The management and outcomes of placenta accreta, increta, and percreta in the UK: a population-based descriptive study. *BJOG*, 2014, 121, 1, p. 62-70.
56. Warshak CR, Ramos GA, Eskander R, *et al.* Effect of predelivery diagnosis in 99 consecutive cases of placenta accreta. *Obstet Gynecol*, 2010, 115, 1, p. 65-69.
57. Kayem G, Anselem O, Schmitz T, *et al.* [Conservative versus radical management in cases of placenta accreta: a historical study]. *J Gynecol Obstet Biol Reprod*, 2007, 36, 7, p. 680-687.
58. Sentilhes L, Kayem G, Ambroselli C, *et al.* [Placenta accreta: Frequency, prenatal diagnosis and management]. *Presse Med*, 2010, 39, 7-8, p.765-777.
59. Fox KA, Shamshirsaz AA, Carusi D, *et al.* Conservative management of morbidly adherent placenta: expert review. *Am J Obstet Gynecol*, 2015, 213, 6, p. 755-760
60. Eller AG, Porter TF, Soisson P, Silver RM. Optimal management strategies for placenta accreta. *BJOG*, 2009, 116, 5, p. 648-654.
61. Hoffman MS, Karlinski RA, Mangar D, *et al.* Morbidity associated with nonemergent hysterectomy for placenta accreta. *Am J Obstet Gynecol*, 2010, 202, 6, p. 628 e621-625.
62. Angstmann T, Gard G, Harrington T, Ward E, Thomson A, Giles W. Surgical management of placenta accreta: a cohort series and suggested approach. *Am J Obstet Gynecol*, 2010, 202, 1, p. 38 e31-39.
63. Tan CH, Tay KH, Sheah K, *et al.* Perioperative endovascular internal iliac artery occlusion balloon placement in management of placenta accreta. *AJR*, 2007, 189, 5, p.1158-1163.
64. Bodner LJ, Nosher JL, Gribbin C, Siegel RL, Beale S, Scorza W. Balloon-assisted occlusion of the internal iliac arteries in patients with placenta accreta/percreta. *Cardiovasc Intervent Radiol*, 2006, 29, 3, p. 354-361.
65. Shrivastava V, Nageotte M, Major C, Haydon M, Wing D. Case-control comparison of cesarean hysterectomy with and without prophylactic placement of intravascular balloon catheters for placenta accreta. *Am J Obstet Gynecol*, 2007, 197, 4, p. 402 e401-405.

66. Clement D, Kayem G, Cabrol D. Conservative treatment of placenta percreta: a safe alternative. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*, 2004, 114, 1, p. 108-109.
67. Kayem G, Davy C, Goffinet F, Thomas C, Clement D, Cabrol D. Conservative versus extirpative management in cases of placenta accreta. *Obstet Gynecol*, 2004, 104, 3, p. 531-536.
68. Timmermans S, van Hof AC, Duvekot JJ. Conservative management of abnormally invasive placentation. *Obstet Gynecol Surv*, 2007, 62, 8, p. 529-539.
69. Bretelle F, Courbière B, Mazouni C, *et al.* Management of placenta accreta: morbidity and outcome. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*, 2007, 133, 1, p. 34-39.
70. Sentilhes L, Ambroselli C, Kayem G, *et al.* Maternal outcome after conservative treatment of placenta accreta. *Obstet Gynecol*, 2010, 115, 3, p. 526-534.
71. Arulkumaran S, Ng CS, Ingemarsson I, Ratnam SS. Medical treatment of placenta accreta with methotrexate. *Acta Obstet Gynecol Scand*, 1986, 65, 3, p. 285-286.
72. Buckshee K, Dadhwal V. Medical management of placenta accreta. *Int J Gynaecol Obstet*, 1997, 59, 1, p. 47-48.
73. Gupta D, Sinha R. Management of placenta accreta with oral methotrexate. *Int J Gynaecol Obstet*, 1998, 60, 2, p. 171-173.
74. Jaffe R, DuBeshter B, Sherer DM, Thompson EA, Woods JR, Jr. Failure of methotrexate treatment for term placenta percreta. *Am J Obstet Gynecol*, 1994, 171, 2, p. 558-559.
75. Mussalli GM, Shah J, Berck DJ, Elimian A, Tejani N, Manning FA. Placenta accreta and methotrexate therapy: three case reports. *J Perinatol*, 2000, 20, 5, p. 331-334.
76. Lemercier E, Genevois A, Descargue G, Clavier E, Benozio M. [MRI evaluation of placenta accreta treated by embolization. Apropos of a case. Review of the literature]. *J Radiol*, 1999, 80, 4, p. 383-387.
77. Sentilhes L, Gromez A, Clavier E, Resch B, Verspyck, Marpeau L. Predictors of failed pelvic arterial embolization for severe postpartum hemorrhage. *Obstet Gynecol*, 2009, 113, 5, p. 992-999.
78. Chauleur C, Fanget C, Tourne G, Levy R, Larchez C, Seffert P. Serious primary postpartum hemorrhage, arterial embolization and future fertility: a retrospective study of 46 cases. *Hum Reprod*, 2008, 23, 7, p. 1553-1559.
79. Kirby JM, Kachura JR, Rajan DK, *et al.* Arterial embolization for primary postpartum hemorrhage. *J Vasc Interv Radiol*, 2009, 20, 8, p. 1036-1045.
80. Maassen MS, Lambers MD, Tutein Nolthenius RP, van der Valk PH, Elgersma OE. Complications and failure of uterine artery embolisation for intractable postpartum haemorrhage. *BJOG*, 2009, 116, 1, p. 55-61.

81. Touboul C, Badiou W, Saada J, *et al.* Efficacy of selective arterial embolisation for the treatment of life-threatening post-partum haemorrhage in a large population. *PLoS One*, 2008, 3, 11, p.e3819.
82. Ter Haar G, Coussios C. High intensity focused ultrasound: Physical principles and devices. *Int J Hyperthermia*, 2007, 23, 2, p. 89-104.
83. Chapelon JY, Margonari J, Theillere Y, *et al.* Effects of high-energy focused ultrasound on kidney tissue in the rat and the dog. *Eur Urol*, 1992, 22, 2, p. 147-152.
84. Gelet A, Chapelon JY, Bouvier R, Rouvière O, Lyonnet D, Dubernard JM. Transrectal High Intensity Focused Ultrasound for the Treatment of Localized Prostate Cancer : Factors influencing The Outcome. *Eur Urol*, 2001, 40, 2, p. 124-129.
85. Elias WJ, Huss D, Voss T, *et al.* A pilot study of focused ultrasound thalamotomy for essential tremor. *N Engl J Med*, 2013, 369, 7, p. 640-648.
86. Vaezy S, Fujimoto VY, Walker C, Martin RW, Chi EY, Crum LA. Treatment of uterine fibroid tumors in a nude mouse model using high-intensity focused ultrasound. *Am J Obstet Gynecol*, 2000, 183, 1, p. 6-11.
87. Tempany CM, Stewart EA, McDannold N, Quade BJ, Jolesz FA, Hynynen K. MR imaging-guided focused ultrasound surgery of uterine leiomyomas: a feasibility study. *Radiology*, 2003, 226, 3, p. 897-905.
88. Hynynen K, Freund WR, Cline HE, *et al.* A clinical, non invasive, MR imaging-monitored ultrasound surgery method. *Radiographics* 1996, 16, 1, p. 185-195.
89. Wu F, Wang ZB, Cao YD, *et al.* Wide local ablation of localized breast cancer using high intensity focused ultrasound. *J Surg Oncol*, 2007, 96, 2, p. 130-136.
90. Melodelima D, N'Djin WA, Favre Cabrea J, Parmentier H, Rivoire M, Chapelon JY. Thermal ablation produced using a surgical toroidal high-intensity focused ultrasound device is independent from hepatic inflow occlusion. *Phys Med Biol*, 2009, 54, 20, p. 6353-6368.
91. Ter Haar G, Sinnett D, Rivens I. High intensity focused ultrasound a surgical technique for the treatment of discrete liver tumors. *Phys Med Biol*, 1989, 34, 11, p. 1743-1750.
92. Melodelima D, Salomir R, Mougenot C, Moonen C, Cathignol D. 64-element intraluminal ultrasound cylindrical phased array for transesophageal thermal ablation under fast MR temperature mapping : an ex-vivo study. *Med Phys*, 2006, 33, 8, p. 2926-2934.
93. Prat F, Lafon C, De Lima DM, *et al.* Endoscopic treatment of cholangiocarcinoma and carcinoma of the duodenal papilla by intraductal high-intensity US: Results of a pilot study. *Gastrointest Endosc*, 2002, 56, 6, p. 909-915.
94. Gentry KL, Sachedina N, Smith SW. Catheter ultrasound phased-array transducers for thermal ablation: A feasibility study. *Ultrason Imaging*, 2005, 27, 2, p. 89-100.

95. Kinsey AM, Diederich CJ, Rieke C, *et al.* Transurethral ultrasound applicators with dynamic multi-sector control for prostate thermal therapy: in-vivo evaluation under MR guidance. *Med Phys*, 2008, 35, 5, p. 2081-2093.
96. Chavrier F, Chapelon JY, Gelet A, Cathignol D. Modeling of high-intensity focused ultrasound-induced lesions in the presence of cavitation bubbles. *J Acoust Soc Am*, 2000, 108, 1, p. 432-440.
97. Adams JB, Moore RG, Anderson JH, Strandberg JD, Marshall FF, Davoussi LR. High-intensity focused ultrasound ablation of rabbit kidney tumors. *J Endourol*, 1996, 10, 1, p. 71-75.
98. Watkin NA, Morris SB, Rivens IH, Ter Haar GR. High-intensity focused ultrasound ablation of the kidney in a large animal model. *J Endourol*, 1997, 11, 3, p. 191-196.
99. Melodelima D, N'Djin WA, Parmentier H, Chesnais S, Rivoire M, Chapelon JY. Thermal ablation by high-intensity-focused ultrasound using a toroid transducer increase the coagulated volume. Results of animal experiments. *Ultrasound Med Biol*, 2009, 35, 3, p. 425-435.
100. Xie B, Li YY, Jian L, Nie YQ, Du H, Jiang SM. Experimental ablation of the pancreas with high-intensity focused ultrasound (HIFU) in a porcine model. *Int J Med Sci*, 2011, 8, 1, p. 9-15.
101. Chenot J, Melodelima D, N'Djin WA, Souchon R, Rivoire M, Chapelon JY. Intra-operative ultrasound hand-held strain imaging for the visualization of ablations produced in the liver with a toroidal HIFU transducer : first in-vivo results. *Phys Med Biol*, 2010, 55, 11, p. 3131-3144.
102. Righetti R, Kallel F, Stafford RJ, *et al.* Elastographic characterisation of HIFU-induced lesions in canine livers. *Ultrasound Med Biol*, 1999, 25, 7, p. 109-113.
103. Parmentier H, Melodelima D, N'Djin A, Chesnais S, Chapelon JY, Rivoire M. High-intensity focused ultrasound ablation for the treatment of colorectal liver metastases during an open procedure: study on the pig. *Ann Surg*, 2009, 249, 1, p. 129-136.
104. Kun G, Wan M. A comparison of HIFU-induced size measurement based on gross histological examination and image of bovine thigh in vitro. *Ultrasonics*, 2005, 43, 3, p. 351-355.
105. Rouvière O, Glas L, Girouin N, *et al.* Prostate cancer ablation with transrectal high-intensity focused ultrasound: assesement of tissue destruction with contrast-enhanced US. *Radiology*, 2011, 259, 2, p. 583-591.
106. Quesson B, Laurent C, Maclair G, *et al.* Real-time volumetric MRI thermometry of focused ultrasound ablation in-vivo: a feasibility study in pig liver and kidney. *NMR Biomed*, 2011, 24, 2, p. 145-53.
107. Okada A, Morita Y, Fukunishi H, Takeichi K, Murakami T. Noninvasive magnetic resonance-guided focused ultrasound treatment of uterine fibroids in a large Japanese

- population: impact of the learning curve on patient outcome. *Ultrasound Obstet Gynecol*, 2009, 34, 5, p. 579-83.
108. Taran FA, Tempany CM, Regan L, Inbar Y, Revel A, Stewart EA. Magnetic resonance-guided focused ultrasound (MRgFUS) compared with abdominal hysterectomy for treatment of uterine leiomyomas. *Ultrasound Obstet Gynecol*, 2009, 34, 5, p. 572-578.
 109. Furusawa H, Namba K, Thomsen S, *et al.* Magnetic resonance-guided focused ultrasound surgery of breast cancer. *J Am Coll Surg*, 2006, 203, 1, p. 54-63.
 110. Zhong H, Wan MX, Jiang YF, Wang SP. Monitoring imaging of lesions induced by high intensity focused ultrasound based on differential ultrasonic attenuation and integrated backscatter estimation. *Ultrasound Med Biol*, 2007, 33, 1, p. 82-94.
 111. N'Djin WA, Chapelon JY, Melodelima D. An Ultrasound Image-Based Dynamic Fusion Modeling Method for Predicting the Quantitative Impact of In-vivo Liver Motion on Intraoperative HIFU Therapies: Investigation in a Porcine Model. *Plos One*, 2015, 10, 9, p. e0137317.
 112. Vincenot J, Melodelima D, Chavrier F, Vignot A, Kocot A, Chapelon JY. Electronic beam steering used with a toroidal HIFU transducer substantially increases the coagulated volume. *Ultrasound Med Biol*, 2013, 39, 7, p.1241-1254.
 113. Dupré A, Melodelima D, Pérol D, *et al.* First clinical experience of intra-operative high intensity focused ultrasound with colorectal liver metastases: a phase I-IIa study. *Plos One*, 2015, 10, 2, p. e0118212.
 114. Peak BW, Vaezy S, Fujimoto V, *et al.* Tissue ablation using high-intensity focused ultrasound in the fetal sheep model : Potential for fetal treatment. *Am J Obstet Gynecol*, 2003, 189, 3, p. 702-705.
 115. Peak B, Foley J, Zderic V, Starr F, Shields LE, Vaezy S. Selective reduction of multifetal pregnancy using high-intensity focused ultrasound in the rabbit model. *Ultrasound Obstet Gynecol*, 2005, 26, 3, p. 267-270.
 116. Ichizuka K, Ando S, Ichihara M, *et al.* Application of high-intensity focused ultrasound for umbilical artery occlusion in a rabbit model. *Ultrasound Obstet Gynecol*, 2007, 30, 1, p. 47-51.
 117. Kim Y, Gelehrter K, Fifer CG, *et al.* Non-invasive pulsed cavitation ultrasound for fetal tissue ablation: feasibility study in a fetal shepp model. *Ultrasound Obstet Gynecol*, 2011, 37, 4, p. 450-457.
 118. Shaw CJ, Civale J, Botting KJ, *et al.* Noninvasive high-intensity focused ultrasound treatment of twin-twin transfusion syndrome: A preliminary in-vivo study. *Sci Transl Med*, 2016, 8, 347, p. 347ra95.

119. Okai T, Ichizuka K, Hasegawa J, *et al.* First successful case of non-invasive in-utero treatment of twin reversed arterial perfusion sequence by high-intensity focused ultrasound. *Ultrasound Obstet Gynecol*, 2013, 42, 1, p. 112-114.
120. Bai Y, Luo X, Li Q, *et al.* High-intensity focused ultrasound treatment of placenta accreta after vaginal delivery: a preliminary study. *Ultrasound Obstet Gynecol*, 2016, 47, 4, p. 492-498.
121. Ichihara M, Sasaki K, Umemura S, Kushima M, Okai T. Blood flow occlusion via ultrasound image-guided high-intensity focused ultrasound and its effect on tissue perfusion. *Ultrasound Med Biol*, 2007, 33, 3, p. 452-459.
122. Chen WS, Shen CC, Wang JC, *et al.* Single-element ultrasound transducer for combined vessel localization and ablation. *IEEE Trans Ultrason Ferroelectr Freq Control*, 2011, 58, 4, p. 766-775.
123. N'Djin WA, Melodelima D, Schenone F, Rivoire M, Chapelon JY. Assisted hepatic resection using a toroidal HIFU device: an in-vivo comparative study in pig. *Med Phys*, 2011, 38, 4, p. 1769-1778.
124. Vaezy S, Martin R, Yaziji H, *et al.* Hemostasis of punctured blood vessels using high-intensity focused ultrasound. *Ultrasound Med Biol*, 1998, 24, 6, p. 903-910.
125. Girault A, Friszer S, Maisonneuve E, Guibaud L, Cortey A, Jouannic JM. Intrauterine blood transfusion: status report of 4 years of practice in France (2011-2014). *J Gynecol Obstet Hum Reprod*, 2017, 46, 2, p. 119-124.
126. Yinon Y, Ashwal E, Weisz B, Chaven B, Schiff E, Lipitz S. Selective reduction in complicated monochorionic twins: prediction of obstetric outcome and comparison of techniques. *Ultrasound Obstet Gynecol*, 2015, 46, 6, p. 670-677.
127. Lim FY, Coleman A, Polzin W, *et al.* Giant chorioangiomas: perinatal outcomes and techniques in fetoscopic devascularization. *Fetal Diagn Ther*, 2015, 37, 1, p. 18-23.
128. Dimirov A, Garnizov T, Zlatkov V, Frundeva B, Maseva A. Conservative management of placenta accreta during vaginal delivery. *Akush Ginekol*, 2016, 55, 1, p. 39-44.
129. Caloone J, Huissoud C, Kocot A, *et al.* High-intensity focused ultrasound applied to the placenta using a toroidal transducer: a preliminary ex-vivo study. *Ultrasound Obstet Gynecol*, 2015, 45, 3, p. 313-319.
130. Zderic V, Keshavarzi A, Andrew MA, Vaezy S, Martin RW. Attenuation of porcine tissues in-vivo after high-intensity ultrasound treatment. *Ultrasound Med Biol*, 2004, 30, 1, p. 61-66.
131. Yang L, Wang J, Ando T, *et al.* Self-contained image mapping of placental vasculature in 3D ultrasound-guided fetoscopy. *Surg Endosc*, 2016, 30, 9, p. 4136-4149.

132. Lai PK, Wang YA, Welsh AW. Reproducibility of regional placental vascularity/perfusion measurement using 3D power Doppler. *Ultrasound Obstet Gynecol*, 2010, 36, 2, p. 202-209.

Résumé en Français

Les ultrasons focalisés de haute intensité (HIFU) connaissent un développement clinique et commercial important depuis une vingtaine d'années, avec des applications qui concernent presque tous les organes humains. Cette nouvelle technique autorise la création de lésions, de manière non invasive et avec précision, de par leur guidage en temps réel. Les objectifs décrits dans ce travail étaient d'évaluer la faisabilité, la reproductibilité, l'efficacité et l'innocuité d'un traitement HIFU appliqué au placenta. La transposition de cette technique pour la prise en charge des pathologies placentaires, telles que le syndrome transfuseur-transfusé (STT) ou les troubles de l'accrétion placentaire, constituerait ainsi une avancée prometteuse compte tenu du manque de solutions actuelles. Pour mener à bien ce travail, une sonde torique a été utilisée. Cette sonde a été conçue initialement pour le traitement peropératoire des métastases hépatiques, et les premiers résultats à l'échelle préclinique démontrent la faisabilité d'un traitement extracorporel. Des séquences de traitements ont été élaborées à partir de simulations numériques, en tenant compte d'une étude préliminaire sur la caractérisation acoustique du tissu placentaire. Dans un second temps, les séquences de traitement ont été testées à partir d'un modèle *ex-vivo*, dont les conditions simulaient celles rencontrées lors du STT et des placentas accretas per-césarienne. Après avoir validé les séquences de traitement, celles-ci ont été évaluées à partir d'un modèle *in-vivo* de guenons gestantes. Sur la base de ces résultats, une étude clinique sera entreprise afin d'évaluer la faisabilité et l'efficacité d'un traitement HIFU pour le traitement des placentas accretas per-césarienne. L'apport des HIFU pour le traitement du STT doit être approfondi en incluant une population plus importante de guenons gestantes, et en implémentant de nouvelles techniques de guidage.

Titre en anglais Therapeutic applications of high-intensity focused ultrasound to the placental unit

Résumé en anglais

High intensity focused ultrasound (HIFU) know significant clinical and commercial development over the past two decades with applications that concern almost all human organs. This new technique allows the creation of lesions, in a non-invasive way and with precision, by their guidance in real time. The objectives described in this work were to evaluate the feasibility, the reproducibility, the efficacy and the safety of HIFU treatment applied to the placenta. The transposition of this technique for the management of placental pathologies, such as the twin-to-twin transfusion syndrome (TTTS) or the placental accretion disorders, would thus be a promising step in view of the lack of current solutions. To carry out this work, a toroidal probe was used. This probe was initially designed for the intraoperative treatment of liver metastases, and the preliminary results during a preclinical study demonstrate the feasibility of a extracorporeal treatment. The sequences of treatment were developed providing from numerical simulations, taking into account a preliminary study on the acoustic characterization of placental tissue. In a second step, the treatment sequences were tested from an *ex-vivo* model, whose conditions simulated those observed during TTTS and placentas accretas per-cesarean. After validating the sequences of treatment, these were evaluated from an *in-vivo* model of pregnant monkeys. On the basis of these results, a clinical study will be undertaken to evaluate the feasibility and the effectiveness of HIFU treatment for the treatment of placentas per-cesarean. The contribution of HIFU for the treatment of TTTS should be deepened by including a larger population of pregnant monkeys and by implementing new guidance techniques.

DISCIPLINE

Ingénierie Biomédicale et Pharmaceutique

MOTS – CLES : Sonde torique, modèle *ex-vivo*, reproductibilité, modèle *in-vivo*, innocuité, lésion placentaire, syndrome transfuseur-transfusé, placenta accreta

INTITULE ET ADRESSE DE L'U.F.R OU DU LABORATOIRE

LabTau INSERM 1032, laboratoire d'applications thérapeutiques des ultrasons
151, cours Albert Thomas, 69424 Lyon Cedex 03
jonathan.caloone@inserm.fr