



HAL
open science

Valeur prédictive de la spectroscopie par résonance
magnétique sur le devenir neurodéveloppemental à l'âge
de 2 ans chez une cohorte de nouveau-nés grands
prématurés

Marion Benoist

► To cite this version:

Marion Benoist. Valeur prédictive de la spectroscopie par résonance magnétique sur le devenir neurodéveloppemental à l'âge de 2 ans chez une cohorte de nouveau-nés grands prématurés. Gynécologie et obstétrique. 2020. dumas-02987159

HAL Id: dumas-02987159

<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-02987159>

Submitted on 3 Nov 2020

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.



Faculté des sciences
médicales et paramédicales
Aix-Marseille Université

Ecole de Maïeutique

**VALEUR PRÉDICTIVE DE LA SPECTROSCOPIE
PAR RÉSONANCE MAGNÉTIQUE SUR LE
DEVENIR NEURODÉVELOPPEMENTAL À L'ÂGE
DE 2 ANS CHEZ UNE COHORTE DE NOUVEAU-
NÉS GRANDS PRÉMATURÉS**

ClinicalTrials.gov Identifier: NCT02851537

Présenté et publiquement soutenu
Le 9 avril 2020

Par
BENOIST Marion
Née le 6 mars 1980

Pour l'obtention du Diplôme d'État de Sage-Femme
Année universitaire 2019/2020

Membres du jury :

Mme Caroline Matteo

Dr Sébastien Riquet

Dr Barthélémy Tosello (directeur de mémoire)

AIX MARSEILLE UNIVERSITÉ

Ecole de Maïeutique

VALEUR PRÉDICTIVE DE LA SPECTROSCOPIE PAR RÉSONANCE MAGNÉTIQUE SUR LE DEVENIR NEURODÉVELOPPEMENTAL À L'ÂGE DE 2 ANS CHEZ UNE COHORTE DE NOUVEAU- NÉS GRANDS PRÉMATURÉS

BENOIST Marion
Née le 6 mars 1980

Mémoire présenté pour l'obtention du Diplôme d'état de Sage-Femme

Année universitaire 2019-2020

Validation 1^{ère} session 2020 : oui non

Mention : Félicitations du Jury

Très bien

Bien

Assez bien

Passable

Validation 2^{ème} session 2020 : oui non

Mention :

*Je tiens à remercier le Dr Tosello pour m'avoir proposé ce sujet,
qui m'a permis de faire le lien entre mon ancien et mon futur
métier. Ce fut un challenge intellectuel que j'ai adoré relever !*

*Merci au Dr Riquet et à Mme Matteo pour leur regard critique et
constructif sur ce travail.*

*Je tiens à remercier l'équipe enseignante de l'école de maïeutique de
Marseille pour leur soutien.*

*Je souhaite particulièrement remercier Mme Hassler de m'avoir
« recruté », ainsi que pour sa bienveillance.*

*Un grand merci à Mme Zakarian d'accepter et de soutenir les
passerelles comme moi.*

*Mon infini gratitude pour mon conjoint, pour son soutien inébranlable
encore une fois.*

*Une nouvelle fois nous allons changer de vie, merci de naviguer à
mes côtés même lors des tempêtes.*

Table des matières

LISTE DE SIGLES	3
I. <u>État de la question</u>	4
1. <u>Devenir cognitif et comportemental des enfants grands prématurés</u>	4
2. <u>Neuroimagerie et anomalies neuroanatomiques associées au devenir des enfants nés prématurés</u>	4
3. <u>Acquisition de la spectroscopie par résonance magnétique (SRM) du proton</u>	4
II. <u>Hypothèses et Objectifs</u>	5
1. <u>Hypothèses</u>	6
2. <u>Objectif principal</u>	6
3. <u>Objectifs secondaires</u>	6
III. <u>Plan expérimental (méthodologie)</u>	6
1. <u>Population concernée</u>	6
2. <u>Population d'étude</u>	7
3. <u>Type d'étude</u>	7
4. <u>Investigations principales</u>	7
<u>Analyse du métabolisme cérébral :</u>	7
<u>Évaluation neurodéveloppemental : Ages and Stages Questionary (ASQ) (Annexe 2)</u>	8
5. <u>Recueil des données</u>	8
6. <u>Statistiques</u>	9
IV. <u>Résultats et discussion</u>	9
V. <u>Conclusion</u>	9
VI. <u>Bibliographie</u>	10
VII. <u>Annexe 1 : Protocole d'Imagerie par Résonance Magnétique d'EPIRMEX du 22/06/2011</u>	13
VIII. <u>Annexe 2 : Questionnaire ASQ rempli par les familles</u>	14
IX. <u>Annexe 3 : Article scientifique</u>	15

LISTE DE SIGLES

ASQ : Ages Stages Questionary

CEMEREM : Centre d'Exploration Métabolique par REsonance Magnétique

CHO = glycérophosphocholine + phosphocholine

Cr = créatine + phosphocréatine

DS : Déviation Standard

EPIPAGE : Etude Inserm Petits Ages Gestationnels

EPIRMEX: Epipage IRM Exécutives Fonctions

FE : Fonctions Exécutives

IRM : Imagerie par Résonance Magnétique

INSERM : Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale

K-ABC : Kaufman Assessment Battery for Children

Lac = Lactate

NAA : Nacétylaspartate + Nacétylaspartylglutamate

PMC : Processus Mentaux Composites

SA : Semaine Aménorrhée

SRM : Spectroscopie par Résonance Magnétique

I. État de la question

1. [Devenir cognitif et comportemental des enfants grands prématurés](#)

Chaque année en France, environ 10 000 enfants (1,3%) naissent grands prématurés, c'est-à-dire avant 33 semaines d'aménorrhée (SA). L'amélioration de la survie de ces enfants a rendu nécessaire l'évaluation de leur devenir. L'étude EPIPAGE (Étude Inserm Petits Ages Gestationnels), enquête de cohortes incluant tous les enfants nés grands prématurés dans neuf régions françaises en 1997, avait été mise en place pour évaluer le devenir neurodéveloppemental de ces enfants à l'âge de 5 et 8 ans, en le comparant à celui d'un échantillon d'enfants nés à terme. A l'âge de 5 ans, les enfants ont été évalués sur le plan cognitif avec le Kaufman Assessment Battery for Children (K-ABC) ; près d'un tiers des grands prématurés avaient un score PMC (processus mentaux composites, équivalent au quotient intellectuel) inférieur à 85 (la moyenne en population générale se situe à 100), soit -1 déviation standard (DS) en dessous de la normale, et 12% avaient un score inférieur à 70 (- 2DS), c'est-à-dire une déficience cognitive, contre respectivement 11% et 3% des enfants nés à terme (1). En l'absence de déficience motrice ou sensorielle, 32% de ceux avec un PMC entre 70 et 84 recevaient des soins spécifiques ou étaient accueillis en centre spécialisé (2). Plus de 50% des enfants nés grands ou extrêmes prématurés auront des difficultés scolaires qui risquent de s'aggraver avec l'âge. Dans la cohorte Epicure anglosaxonne, les atteintes cognitives et des apprentissages scolaires ont été observés chez des enfants extrêmes prématurés indemnes de paralysie cérébrale (3).

2. [Neuroimagerie et anomalies neuroanatomiques associées au devenir des enfants nés prématurés.](#)

L'imagerie par résonance magnétique (IRM) est utilisée en période de développement cérébral à cause de la résolution des données obtenues et de son caractère non invasif. L'IRM conventionnelle a largement démontré ses potentialités à identifier de façon détaillée la morphologie cérébrale, donnant ainsi aux cliniciens des informations précieuses et objectives sur les structures du cerveau en développement (4–6). Ces techniques permettent une évaluation précise de la giration cérébrale et permettront de suivre l'évolution de la croissance cérébrale, et de mesurer de manière quantitative les modifications du cortex cérébral (7–9). Les difficultés cognitives, ainsi décrites précédemment, peuvent être mises en relation avec des lésions cérébrales spécifiques de la grande prématurité, notamment l'atteinte de la substance blanche périventriculaire (10). Les corrélations entre les anomalies structurales cérébrales et les anomalies neurodéveloppementales observées chez les enfants nés prématurés ont été peu étudiées et ont été réalisées sur de faibles effectifs (11–13). Des réductions significatives des volumes des noyaux gris centraux, de l'amygdale et de l'hippocampe ont été notées chez les prématurés (14).

3. [Acquisition de la spectroscopie par résonance magnétique \(SRM\) du proton](#)

La SRM est une technique d'imagerie permettant une étude du métabolisme cérébral. Elle repose sur la détection de métabolites cérébraux, et l'étude des variations de leur concentration pour caractériser différentes pathologies. Elle procure une analyse qualitative et quantitative de plusieurs métabolites participant au cycle énergétique cellulaire cérébral en utilisant les propriétés magnétiques de certains atomes. A la différence de l'IRM qui offre une imagerie anatomique en coupes, l'acquisition de la séquence de spectroscopie va permettre d'obtenir un ou plusieurs spectres présentant un ensemble de pics.

Les grands prématurés sont à risques de lésions cérébrales, principalement dans la substance blanche, conduisant à la présentation clinique de paralysie cérébrale (15). Aujourd'hui, les lésions

typiques de leucomalacie périventriculaire intéressant la substance blanche sont moins nombreuses du fait des progrès de la réanimation néonatale. Cependant les lésions actuelles de la substance blanche sont plus difficiles à déterminer en IRM conventionnelle, parfois locale et infracentrimétrique (16). Ces lésions résultent d'une maturation perturbée et de trouble de la myélinisation par les oligodendrocytes. (10). La substance blanche périventriculaire postérieure est une zone riche en oligodendrocytes (17). Le NAA (Nacétylaspartate + Nacétylaspartyglutamate) est le métabolite cérébral reflétant la densité et donc le fonctionnement des progéniteurs neuronaux tels que l'oligodendrocyte (pour plus de détails sur les métabolites étudiés voir paragraphe SRM dans Méthode).

Rappelons que le rapport NAA / Cho (Cho = glycérophosphocholine + phosphocholine) augmente avec l'âge dans toutes les régions cérébrales. Le rapport Lac / NAA (Lac= lactate) diminue significativement avec l'âge dans le thalamus, les noyaux gris, les voies cortico-spinales, la substance blanche pariétale (18) et à tendance à diminuer ailleurs.

Un certain nombre d'études, détaillées plus ci-dessus, montre que la spectroscopie du proton à terme peut prédire le devenir à long terme de nouveau-né ayant présenté une encéphalopathie anoxo-ischémique. Ces études montrent qu'une augmentation du lactate et une diminution de NAA sont corrélées à un pauvre développement (19). Ainsi, des diminutions des rapports NAA / Cr et/ou NAA / Cho sont prédictives d'anomalie motrice chez des enfants ayant présenté une encéphalopathie anoxo ischémie. Ces diminutions sont aussi mesurées dans les noyaux gris et le cortex occipitales (20). Peu d'études ont exploré la spectroscopie du proton à terme dans la prédiction du devenir du grand prématuré. Ces études rapportent des résultats contradictoires. Par exemple, Augustine et al., qui ont placé le voxel en position supraventriculaire englobant substance blanche et grise, ne retrouvent pas d'association entre les ratios spectroscopique et le développement neurologique à 18-24 mois (21). Les métabolites de la substance grise pourraient perturber le signal spectroscopique et rendre des interprétations erronées. Dans une étude plus ancienne, Kimura et al. en plaçant un voxel dans la substance blanche frontale rapporte une association avec des troubles neurologiques divers et une réduction du rapport NAA / Cho. Cependant, la population évaluée était hétérogène avec des nouveau-nés prématurés et des asphyxies périnatales à terme par exemple (22).

Récemment, Kendall (23) et al. ont montré que l'association du rapport NAA / Cho réduit et du rapport Cho / Cr augmenté chez des enfants avec un retard de développement moteur à 1 an, a une sensibilité de 0,80 et une spécificité de 0,80 ; et est donc plus fiable en terme de pronostic neurodéveloppemental par rapport aux résultats de l'imagerie par résonance magnétique conventionnelle. Ces taux étaient mesurés dans la substance blanche périventriculaire postérieure. De plus, Van Kooij et al. ont montré que les volumes du cervelet et le rapport NAA / Cho dans le cervelet chez le prématuré à terme sont associés à un trouble cognitif à 2 ans mais non corrélé aux anomalies du développement moteur (24).

II. Hypothèses et Objectifs

Il existe très peu de données concernant l'étude des liens entre la spectroIRM du prématuré réalisée à terme et le devenir à long terme de ces enfants.

Il existe également peu de données sur le développement des fonctions exécutives chez le très jeune enfant, période où la plasticité cérébrale sous les effets d'interventions spécifiques pourrait jouer un rôle dans la modification des fonctions cognitives.

Le développement de la spectroscopie du proton permet de comprendre le métabolisme au cours de la maturation cérébrale et ces déviations. Nous pouvons utiliser les spectres et la

quantification des métabolites grâce à la collaboration du Centre d'exploration métabolique par résonance magnétique (CEMEREM), service hospitalier du Pôle d'Imagerie Médicale de l'AP-HM (chef de service Pr Maxime Guye).

1. Hypothèses

Les anomalies neurostructurales spécifiques seront détectées à l'âge du terme corrigé par IRM et SRM sur les nouveau-nés prématurés inclus dans l'étude :

- Anomalie de la substance blanche en IRM conventionnelle ;
- Modifications du volume du cortex frontal et préfrontal à l'IRM volumétrique quantitative ;
- Interruptions ou réduction quantitative des connexions fronto-striatales et des connexions antéro-postérieures de la substance blanche déterminées par l'IRM en tenseur de diffusion (DTI) ;
- Diminution du volume des structures sous corticales : noyaux gris centraux, hippocampe et cervelet ;
- Anomalies des rapports NAA / Cho et/ou NAA / Cr et/ou du lactate dans les régions périventriculaires et/ou dans les noyaux gris et /ou dans le tronc cérébral.

2. Objectif principal

Chez les enfants nés grands prématurés, étudier à l'âge de 2 ans le devenir neurodéveloppemental de l'enfant et le mettre en relation avec les anomalies du métabolisme par spectroscopie du proton réalisée à l'âge du terme.

3. Objectifs secondaires

- Décrire les anomalies cérébrales observées à l'IRM conventionnelle à l'aide d'une grille de lecture standardisée (25) chez les enfants grands prématurés à terme et établir des liens avec les profils spectroscopiques (spectre et rapport).
- Mettre en relation les anomalies cérébrales observées à l'IRM conventionnelle et les résultats de spectroscopie.

III. Plan expérimental (méthodologie)

1. Population concernée

Ce projet de recherche INSERM - EPIPAGE 2 -EPIRMEX (Institut national de la santé et de la recherche médicale - Étude épidémiologique sur les petits âges gestationnels 2 - EPIPAGE2 IRM fonctions exécutives) se focalise sur la spectroIRM à l'âge du terme (39-41 SA), et plus spécifiquement l'émergence des fonctions exécutives à 2 ans objectif principal de l'étude EPIRMEX. Une étude épidémiologique nationale, l'étude EPIPAGE 2 a débuté en France en 2011. Pour atteindre ses objectifs cette étude a été mise en place dans les 22 régions de France métropolitaine, ainsi qu'en Martinique, à la Guadeloupe, la Guyane et la Réunion en 2011. Elle permet de suivre plus de 4467 enfants prématurés jusqu'à l'âge de 11-12 ans.

Le projet EPIRMEX vise à disposer chez les grands prématurés d'informations précises sur les anomalies des structures cérébrales en rapport avec les déficits des fonctions exécutives, du développement du langage et de la régulation émotionnelle. Il complète aussi les données collectées par EPIPAGE 2 et permet d'étudier comment les anomalies neuroanatomiques sont ou non liées à certaines pathologies périnatales. Les centres participant à l'étude EPIRMEX possèdent les ressources nécessaires pour pratiquer les IRM conventionnelles. Dans ces centres, 580 IRM conventionnelles ont été pratiquées dont 120 avec acquisitions spectroscopiques et 88 en région PACA.

2. Population d'étude

Critères d'inclusion :

- 1) Dans les centres participants ont été inclus des nouveau-nés prématurés nés entre 26 SA+0j et 32 SA+6j.
- 2) Enfants inclus dans l'étude EPIPAGE2 et dans EPIRMEX et ayant bénéficié d'une spectroscopie.
- 3) Régions d'intérêt analysées : zone périventriculaire, noyaux gris, tronc cérébral.
- 4) Ayant bénéficié d'un bilan cognitif complet dans EPIRMEX à l'âge de 2 ans.

Critères de non-inclusion

- 1) Enfants avec anomalie grave du caryotype.
- 2) Enfants avec malformation du système nerveux central diagnostiquée en anténatal ou sur les examens réalisés en période néonatale (échographie transfontanellaire et/ou imagerie par résonance magnétique).

Critères d'exclusion

Enfants avec une paralysie cérébrale grave (26) ou neurosensoriel majeur (cécité, surdité profonde...) ne permettant pas aux enfants de passer les tests prévus à l'âge de 2 ans.

3. Type d'étude

Il s'agit d'une étude de cohorte prospective sur un sous-échantillon d'enfants nés prématurés (avant 33 SA) inclus par ailleurs dans la cohorte nationale EPIPAGE 2 et dans EPIRMEX.

4. Investigations principales

Les enfants ont bénéficié d'une IRM conventionnelle à l'âge du terme (39-41 SA), complétée par des séquences spécifiques pour l'analyse microstructurale et par une spectroscopie (Cf Annexe 1 Protocole d'Imagerie par Résonance Magnétique d'EPIRMEX du 22/06/2011). Ces enfants ont été évalués dans le cadre du programme de suivi EPIPAGE 2 à l'âge de 2 ans corrigé, par un questionnaire ASQ (Age and Stage Questionnaire) (27).

Analyse du métabolisme cérébral :

IRM cérébrale

Les enfants ont bénéficié d'une IRM conventionnelle à l'âge du terme (39-41 SA), complétée par des séquences spécifiques pour l'analyse microstructurale en analyse monovoxel (substance blanche, noyaux gris et tronc cérébral), écho court et écho long. L'étude des spectres sera faite de manière quantitative par le laboratoire CEMEREM - UMR 7339 CNRS / Université de la Méditerranée.

Les anomalies cérébrales observées à l'IRM conventionnelle sont caractérisées à l'aide d'une grille de lecture standardisée chez les enfants grands prématurés à terme (25).

Analyse des spectres

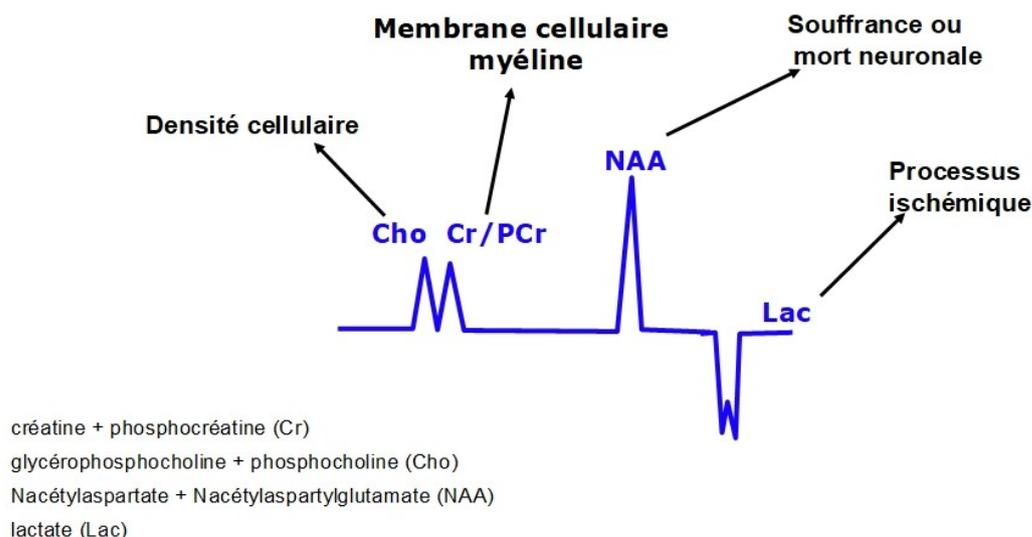
La SRM est une technique qui exploite les propriétés magnétiques de certains noyaux atomiques. Elle est fondée sur le phénomène de résonance magnétique nucléaire et permet l'étude du métabolisme cérébral (Figure 1).

L'acquisition des spectres a été obtenue en même temps que l'IRM conventionnelle à terme. Comme décrit précédemment, une augmentation du lactate et une diminution de NAA sont corrélées à un pauvre développement (19). Kendall et al. ont rapporté une association du rapport NAA / Cho réduit chez des enfants avec retard de développement moteur à 1 an; et était plus

fiable en terme de pronostic neurodéveloppemental par rapport aux résultats de l'imagerie par résonance magnétique conventionnels (23). Ainsi, préalablement le CEMREM quantifiera les métabolites NAA, Cho, Cr et lactates permettant le calcul des rapports de la surface du pic de NAA / Cho, NAA / Cr, Cho / Cr, Lac / Cho, Lac / Cr et Lac / NAA.

Xu et al. ont rapporté en 2012 les taux normaux de métabolites cérébraux, chez 217 nouveau-nés prématurés (18).

Figure 1 : Spectroscopie par résonance magnétique cérébrale : interprétation des métabolites étudiés sur une représentation de spectre



Évaluation neurodéveloppemental : Ages and Stages Questionary (ASQ) (Annexe 2)

Le questionnaire ASQ (28) est un outil de dépistage de retard au développement (cognitif et moteur) de l'enfant, identifiant ainsi des enfants nécessitant par la suite une évaluation approfondie de leur développement. Les scores de l'ASQ sont corrélés aux scores du quotient de développement effectués par des psychologues (Brunet Lézine). L'ASQ est composé de 19 questionnaires pour les enfants âgés de 4 à 60 mois. Chaque questionnaire comporte 30 items divisés selon les cinq sphères suivantes du développement : communication, motricité globale, motricité fine, résolution de problèmes et aptitudes individuelles ou sociales. Chaque questionnaire peut être complété entre 10 et 15 minutes. Il est complété par les parents dans le cadre d'EPIPAGE 2 à l'âge de 2 ans.

5. Recueil des données

Les nouveau-nés inclus dans ce projet font partie de la cohorte EPIPAGE 2 et leurs parents ont accepté l'inclusion de leur enfant dans EPIRMEX et signé un formulaire de consentement éclairé spécifique.

La base de données électronique d'EPIRMEX est couplée à celle de l'étude EPIPAGE 2 à l'aide d'un code commun permettant la mise en commun des données.

Les données recueillies dans le cadre du projet sont complémentaires et les doublons seront évités. Les données générales socioéconomiques, maternelles, obstétricales et néonatales sont recueillies par l'étude EPIPAGE 2, ainsi que les données de suivi à 2 et 5 ans. Les tests

spécifiques sur le dépistage des troubles de fonction exécutive sont recueillis dans le cadre d'EPIRMEX ainsi que les données d'imagerie conventionnelle.

6. Statistiques

Le traitement des données statistiques a été réalisé conformément aux principes directeurs annexes des systèmes informatiques du Guide des Bonnes Pratiques Cliniques de la Communauté Européenne, sous la responsabilité conjointe de l'Unité INSERM 953 Recherche Epidémiologique en Santé Périnatale et Santé des Femmes et des Enfants en collaboration et de l'EA 3279 / Laboratoire de Santé Publique Evaluation des Systèmes de Soins et Santé Perçue du Pr Auquier.

Les analyses statistiques ont été effectuées en utilisant la version du logiciel SPSS 20. Les données descriptives ont été exprimées en nombre et en pourcentage, complétées par les moyennes correspondantes et les écarts types (+/- SD) et médianes le cas échéant.

IV. Résultats et discussion

Les résultats et la discussion de cette étude sont présentés sous forme d'article scientifique en Annexe 3.

V. Conclusion

Dans cette étude nous avons analysé les métabolites SRM de 69 nourrissons prématurés et leur statut neurodéveloppemental à 24 mois a été évalué.

Tout d'abord, nous avons décrit des anomalies cérébrales avec l'IRM conventionnelle.

Ensuite, nous avons montré que les lésions diffuses de la substance blanche sont corrélées avec des changements dans les rapports de NAA / Cho et Cho / Cr ; et que des anomalies de la substance grise sont fortement corrélées avec des variations du rapport Cho / Cr.

La cortico-thérapie anténatale induit des variations des rapports NAA / Cr, Lac / Cho et Lac / Cr dans la substance blanche ; alors que la variation du rapport Cho / Cr dans la substance grise est corrélée avec une forte restriction de croissance intra-utérine.

Dans notre étude, un score ASQ inférieur au seuil a été observé chez 37,2% des enfant à 2 ans (26,6% pour les enfants nés entre 24-26 SG et 33,8% pour les enfants nés entre 27-31 SG). La communication est le domaine le plus souvent impacté.

Un score d'ASQ anormal et des variations du rapport NAA / Cho sont fortement liés aux anomalies de la région ganglionnaire basale.

Enfin, les variations des rapports NAA / Cho et NAA / Cr sont corrélés avec la maturation cérébrale .

En conclusion, nos données mettent en lumière de nouvelles informations sur les valeurs normatives des métabolites cérébraux au début de la période néonatale des nouveau nés prématurés présentant un neurodéveloppement anormal. En perspective, cette étude continuera d'analyser la relation entre les anomalies métaboliques et les résultats cognitifs, langagiers et comportementaux à long terme à l'âge de 5 ans (suite d'EPIRMEX).

A terme, cette étude permettra également de mettre en exergue les facteurs per-nataux péjoratifs sur lequel l'équipe obstétricale dont les sages femmes peuvent jouer pour améliorer le devenir neurodéveloppemental des nouveau-nés prématurés, comme la cortico-thérapie ou le restriction de croissance intra-utérin.

VI. Bibliographie

1. Larroque B, Ancel P-Y, Marret S, Marchand L, André M, Arnaud C, et al. Neurodevelopmental disabilities and special care of 5-year-old children born before 33 weeks of gestation (the EPIPAGE study): a longitudinal cohort study. 2008;371:8.
2. Larroque B, Delobel M, Arnaud C, Marchand L. Devenir à 5 et 8 ans des enfants grands prématurés dans l'étude Épipage: développement cognitif, troubles du comportement et scolarisation. Arch Pédiatrie. juin 2008;15(5):589-91.
3. Marlow N, Hennessy EM, Bracewell MA, Wolke D, for the EPICure Study Group. Motor and Executive Function at 6 Years of Age After Extremely Preterm Birth. Pediatrics. 1 oct 2007;120(4):793-804.
4. Hüppi PS. MR imaging and spectroscopy of brain development. Magn Reson Imaging Clin N Am. févr 2001;9(1):1-17, vii.
5. Hüppi PS. Advances in postnatal neuroimaging: relevance to pathogenesis and treatment of brain injury. Clin Perinatol. 1 déc 2002;29(4):827-56.
6. Hüppi PS, Inder TE. Magnetic resonance techniques in the evaluation of the perinatal brain: recent advances and future directions. Semin Neonatol. avr 2001;6(2):195-210.
7. Dubois J, Benders M, Borradori-Tolsa C, Cachia A, Lazeyras F, Ha-Vinh Leuchter R, et al. Primary cortical folding in the human newborn: an early marker of later functional development. Brain. août 2008;131(8):2028-41.
8. Dubois J, Benders M, Lazeyras F, Borradori-Tolsa C, Leuchter RH-V, Mangin JF, et al. Structural asymmetries of perisylvian regions in the preterm newborn. NeuroImage. août 2010;52(1):32-42.
9. Skranes J, Vik T, Nilsen G, Smevik O, Andersson HW, Brubakk AM. Can Cerebral MRI at Age 1 Year Predict Motor and Intellectual Outcomes in Very-Low-Birthweight Children? Dev Med Child Neurol. 1998;40(4):256-262.
10. Volpe JJ. Brain injury in premature infants: a complex amalgam of destructive and developmental disturbances. Lancet Neurol. 1 janv 2009;8(1):110-24.
11. Rijn AMR, Groenendaal F, Beek FJA, Eken P, Haastert IC van, Vries LS de. Parenchymal Brain Injury in the Preterm Infant: Comparison of Cranial Ultrasound, MRI and Neurodevelopmental Outcome. Neuropediatrics. avr 2001;32(2):80-9.
12. RUTHERFORD MA, PENNOCK JM, COUNSELL SJ, MERCURI E, COWAN FM, DUBOWITZ LMS, et al. Abnormal magnetic resonance signal in the internal capsule predicts poor neurodevelopmental outcome in infants with hypoxic-ischemic encephalopathy. Abnorm Magn Reson Signal Intern Capsule Predicts Poor Neurodev Outcome Infants Hypoxic-Ischemic Enceph. 1998;102(2):323-8.
13. Woodward LJ, Edgin JO, Thompson D, Inder TE. Object working memory deficits predicted by early brain injury and development in the preterm infant. Brain. 1 nov 2005;128(11):2578-87.
14. Isaacs EB, Lucas A, Chong WK, Wood SJ, Johnson CL, Marshall C, et al. Hippocampal Volume and Everyday Memory in Children of Very Low Birth Weight. Pediatr Res. juin 2000;47(6):713-20.

15. Spittle AJ, Cheong J, Doyle LW, Roberts G, Lee KJ, Lim J, et al. Neonatal white matter abnormality predicts childhood motor impairment in very preterm children. *Dev Med Child Neurol.* 2011;53(11):1000-6.
16. Buser JR, Maire J, Riddle A, Gong X, Nguyen T, Nelson K, et al. Arrested preoligodendrocyte maturation contributes to myelination failure in premature infants. *Ann Neurol.* janv 2012;71(1):93-109.
17. Riddle A. Spatial Heterogeneity in Oligodendrocyte Lineage Maturation and Not Cerebral Blood Flow Predicts Fetal Ovine Periventricular White Matter Injury. *J Neurosci.* 15 mars 2006;26(11):3045-55.
18. Xu D, Bonifacio SL, Charlton NN, P. Vaughan C, Lu Y, Ferriero DM, et al. MR spectroscopy of normative premature newborns. *J Magn Reson Imaging.* févr 2011;33(2):306-11.
19. Ancora G, Testa C, Grandi S, Tonon C, Sbravati F, Savini S, et al. Prognostic value of brain proton MR spectroscopy and diffusion tensor imaging in newborns with hypoxic-ischemic encephalopathy treated by brain cooling. *Neuroradiology.* août 2013;55(8):1017-25.
20. Hart AR, Smith MF, Whitby EH, Alladi S, Wilkinson S, Paley MN, et al. Diffusion-weighted imaging and magnetic resonance proton spectroscopy following preterm birth. *Clin Radiol.* août 2014;69(8):870-9.
21. Augustine EM, Spielman DM, Barnes PD, Sutcliffe TL, Dermon JD, Mirmiran M, et al. Can magnetic resonance spectroscopy predict neurodevelopmental outcome in very low birth weight preterm infants? *J Perinatol.* sept 2008;28(9):611-8.
22. Kimura H, Fujii Y, Itoh S, Matsuda T, IWASAKI T, Maeda M, et al. Metabolic alterations in the neonate and infant brain during development : evaluation with proton MR spectroscopy. *Metab Alter Neonate Infant Brain Dev Eval Proton MR Spectrosc.* 1995;194(2):483-9.
23. Kendall GS, Melbourne A, Johnson S, Price D, Bainbridge A, Gunny R, et al. White Matter NAA/Cho and Cho/Cr Ratios at MR Spectroscopy Are Predictive of Motor Outcome in Preterm Infants. *Radiology.* avr 2014;271(1):230-8.
24. Van Kooij BJM, Benders MJNL, Anbeek P, Van Haastert IC, De Vries LS, Groenendaal F. Cerebellar volume and proton magnetic resonance spectroscopy at term, and neurodevelopment at 2 years of age in preterm infants: Cerebellum and Neurodevelopment in Preterm Infants. *Dev Med Child Neurol.* mars 2012;54(3):260-6.
25. Dammann O, Cesario A, Hallen M. NEOBRAIN – An EU-Funded Project Committed to Protect the Newborn Brain. *Neonatology.* 2007;92(4):217-8.
26. Maitre NL, Slaughter JC, Aschner JL. Early prediction of cerebral palsy after neonatal intensive care using motor development trajectories in infancy. *Early Hum Dev.* oct 2013;89(10):781-6.
27. Troude P, Squires J, L'Hélias LF, Bouyer J, de La Rochebrochard E. Ages and Stages Questionnaires: feasibility of postal surveys for child follow-up. *Early Hum Dev.* 2011;87(10):671–676.
28. Squires J, Bricker D, Potter L. Revision of a Parent-Completed Developmental Screening Tool: Ages and Stages Questionnaires. *J Pediatr Psychol.* 1997;22(3):313-28.

**VII. Annexe 1 : Protocole d'Imagerie par Résonance Magnétique d'EPIRMEX du
22/06/2011**

Annexe 1 : Protocole d'Imagerie par Résonance Magnétique (IRM)

Toutes les acquisitions IRM sont effectuées sur des appareils à haut champ magnétique (1,5Tesla minimum) **entre 39 et 41 SA**. L'antenne utilisée est une antenne dédiée de type neurovasculaire ou « tête et cou », selon le constructeur.

Les nouveaux nés sont explorés lors de leur repos postprandial, consécutif à un allaitement ou à la prise d'un biberon, environ 30 minutes avant l'examen. Aucune sédation médicamenteuse ne sera appliquée.

Le protocole est constitué de 2 volets : une exploration de base, et une exploration incluant des techniques d'acquisition plus sophistiquées.

A-Protocole IRM de base (environ 30 minutes d'examen)

- Séquence de repérage consistant en l'acquisition de quelques coupes dans chaque direction de l'espace, servant de localisateur pour les séquences ultérieures.

En dehors du repérage, les coupes ont une **épaisseur de 4 mm au maximum** pour toutes les séquences suivantes :

- **Séquence en écho de gradient pondéré en T2* dans le plan axial** sur l'ensemble de l'encéphale (plan bicommissural CA-CP ou plan bicalleux). Cette séquence, ainsi que le b0 de la séquence de diffusion, permet de visualiser les éventuels saignements.

- **Séquence de diffusion dans le plan axial CACP, $b=1000 \text{ s/mm}^2$.**

- **Séquences pondérées en T2 Fast Spin Echo dans le plan axial CA CP**

- **Séquences pondérées en T2 Fast Spin Echo dans le plan frontal** (coupes parallèles au bord postérieur du tronc cérébral)

- **Séquences pondérées en T1, à visée morphologique, dans les 3 plans de l'espace.** Les séquences utilisées pourront être différentes (IR, FSE ou écho de gradient) selon le constructeur et le paramétrage du site. Selon le constructeur, le réglage et l'agitation de l'enfant, l'acquisition pourra être répétée 3 fois dans un plan différent, ou être d'emblée volumique.

Si les mouvements spontanés de l'enfant rendent les séquences ininterprétables, l'examen sera complété par des séquences d'acquisition rapides ou ultrarapides (single shot, echoplanar) en pondération T2 (type PROPELLER, MultiVane, Blade, JET, Radar..... selon le constructeur) et T1 dans le plan axial au minimum.



B- Protocole IRM avancée (environ 30 à 45 mn supplémentaires)

- Imagerie en tenseur de diffusion, en écho de spin EPI si possible

Selon les difficultés techniques, une matrice de gradients de 6 directions minimum sera obtenue afin d'accéder aux informations d'anisotropie, et de permettre par la suite un éventuel suivi du trajet des fibres cérébrales.

- Quatre échos de SSFSE (Single Shot Fast Spin Echo) en pondération T2 différente (TE de 120, 200, 280 et 360 ms) en axial CACP seront utilisés. Ces séquences nous permettront de calculer a posteriori une série de cartographies T2, permettant une analyse quantitative. Ces séquences ne seront a priori que rarement artefactées par des mouvements éventuels du patient en raison de leur grande rapidité (600ms de lecture pour une coupe). Un contrôle de qualité comportant des acquisitions sur le site sera réalisé avant toute utilisation quantitative des cartographies.
- Séquence 3D en pondération T1, orientation coronale, destinée au calcul de volumétrie.

Selon les difficultés, une étude en spectroscopie monovoxel pourra être effectuée : Séquences en TE long et TE court en substance blanche et dans les noyaux gris, avec et sans suppression d'eau (soit 8 voxels). Le volume du voxel est d'environ 15x15x20 mm.

C- Post traitement des données

Toutes les données seront sauvegardées sur CD-ROM patient par patient, et archivées de façon centralisée.

Les cartographies T2 issues des acquisitions de SSFSE seront calculées à l'aide du logiciel libre ImageJ (<http://rsbweb.nih.gov/ij/>),

Les acquisitions 3D T1 et T2 feront l'objet d'une segmentation automatique (plusieurs logiciels différents sont disponibles) pour une étude volumétrique des structures suivantes : volume intracrânien total, LCR total, substance blanche totale, substance blanche non myélinisée, substance blanche myélinisée, substance grise corticale totale, noyaux gris centraux.

Les acquisitions de tenseurs de diffusion seront post-traitées. Leur exploitation consistera en l'étude de l'anisotropie, afin d'effectuer des comparaisons interindividuelles, et pour la détection de différences de connectivité régionales. Des logiciels dédiés de type Connectoms map (équipe du Pr Hüppi) seront utilisés.

Les acquisitions de spectroscopie pourront être traités au moyen de logiciels dédiés disponibles dans des laboratoires spécialisés (équipe de Marseille Pr Girard, Tours, et/ou Paris...).

La grille de lecture jointe a pour objectif une analyse objective et reproductible des atteintes de la substance blanche et de la substance grise. Les items étudiés sont donc très détaillés par rapport à la littérature existante (72-74).

Une étude de concordance intra et interindividuelle sera effectuée pour chaque item.



Grille de lecture des IRM effectuées à terme chez les enfants nés prématurément

Substance blanche

1. Anomalies de signal, nature et étendue :

- normal
- lésion nodulaire (moins de 5mm) en hypersignal T1
 - o nombre <5 entre 5 et 10 >10
 - o unilatérale bilatérale
 - o antérieure postérieure (frontière au niveau des trous de Monro, Fig. 1)
 - o séquelles ou récentes ?
 - o hémorragique (T2*) oui / non / nombre
- kystes <4 >4 unilatéraux bilatéraux
- calcul ADC dans 3 régions (Fig. 2) : frontal / pariétal / occipital
- plage en hypersignal T2 (appréciée subjectivement) uni ou bilatérale
 - o antérieure postérieure (Fig. 1)
 - o unilatérale bilatérale
 - o associée à un hyposignal T1 oui non
- autre

2. Volume

Ratio carrefour ventriculaire / BIP cérébral (mesures en coupes frontales, Fig. 3a-c)

3. Myélinisation (cf. fig. 4 a et b)

- hypersignal des bras postérieurs des capsules internes en T1 : présent ou absent
- hypersignal T1 du centre semi-ovale : présent ou absent

Ventricules

- dilatation : mesure du carrefour, en coupe frontale (Fig. 3a)
- cornes frontales
 - o aspect normal
 - o aspect dysmorphique, arrondi ou carré)
 - o >5mm (mesurées en avant des trous de Monro (Fig. 3c)
- bords ventriculaires
 - o réguliers
 - o festonnés
- dilatation ventriculaire globale : >1cm sur toutes les cornes occipitales, frontales et temporales
- hémorragie (T2*)
 - o sous épendymaire
 - o intraventriculaire,



Corps calleux

- amincissement localisé sur moins d'1/3 (subjectif)
 - o Ratio tiers moyen/tiers antérieur
 - o Ratio tiers postérieur/ tiers antérieur
- aspect globalement fin (subjectif) oui non

Espaces sous arachnoïdiens

- scissure interhémisphérique : > 5mm < 5mm
- sillon central : > 3mm < 3mm (mesure perpendiculaire à son grand axe, Fig. 5)

Cortex

Anomalie de signal diffuse localisée

Gyration (Fig. 5):

- aspect du sillon central par rapport à un témoin du même âge : normal / retard / autre
- aspect du sillon frontal et précentral qui se rejoignent chez le terme: normal / retard / autre

Noyaux gris et thalamus

- anomalies de signal. Préciser dans quelles séquences
 - o présentes
 - o absentes
 - o unilatérales
 - o bilatérales
- volume par segmentation du thalamus (optionnel) / diamètre bithalamique (coupe axiale, mesure du plus grand diamètre, perpendiculaire au grand axe antéro-postérieur du cerveau, Fig. 6)

Hémorragie méningée

- o présente absente
- o sustentorielle sous-tentorielle

Fosse postérieure

- cervelet
 - o atrophie vermiennes : fissure primaire > 3mm perpendiculairement à son plus grand axe (Fig. 7)
- lésions cérébelleuses
 - o hématome
 - o lésion focale. Décrire

Commentaires



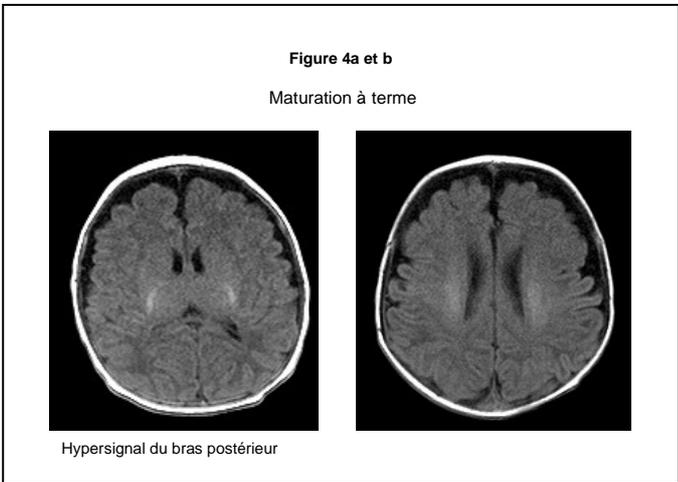
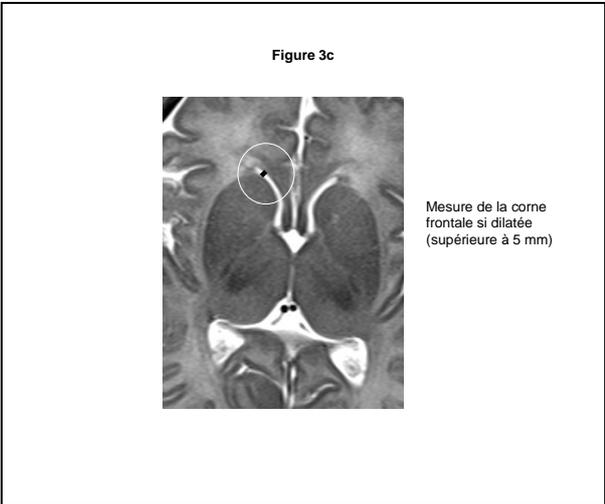
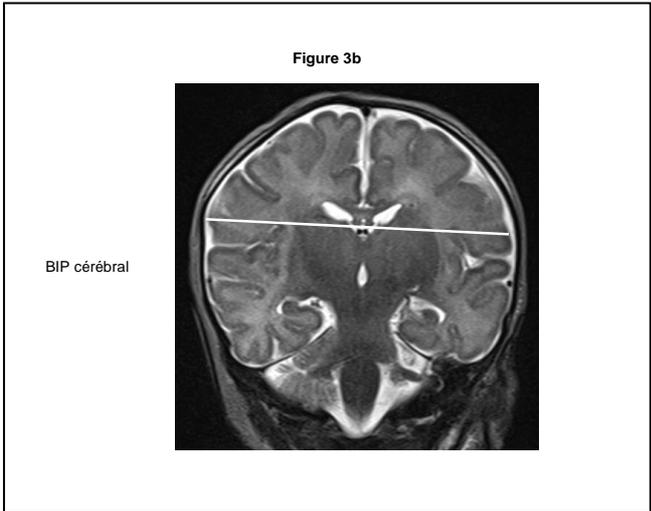
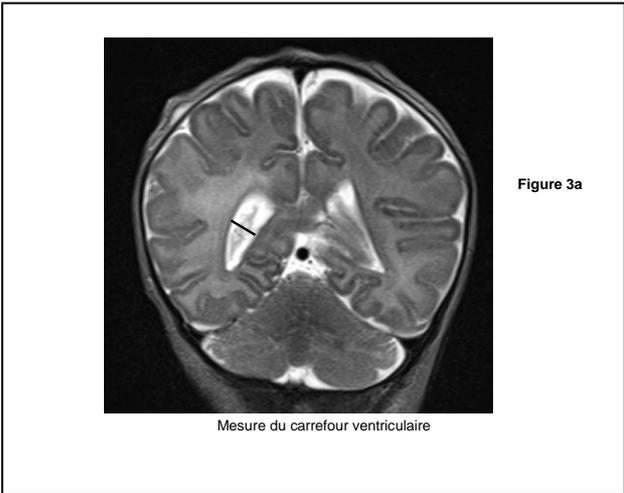
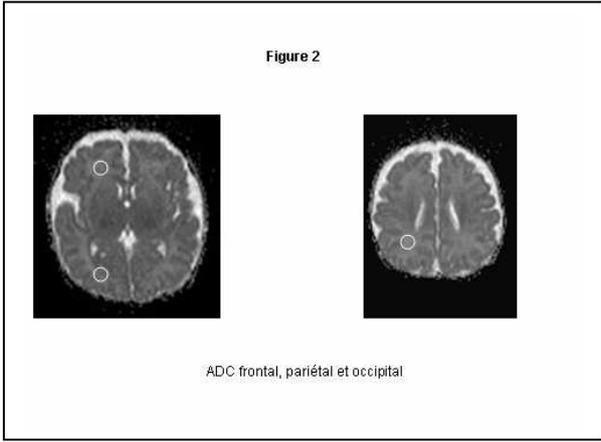
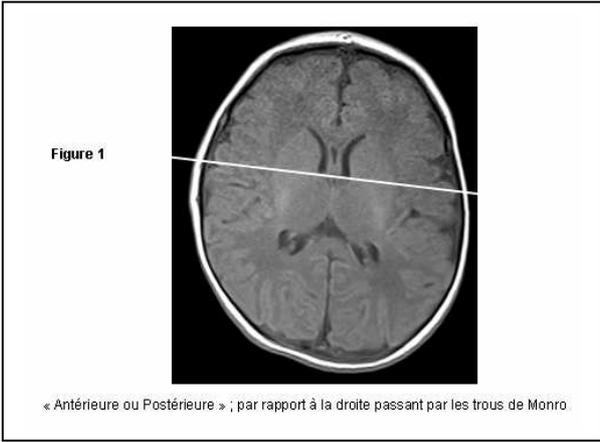


Figure 5
Gyration à terme

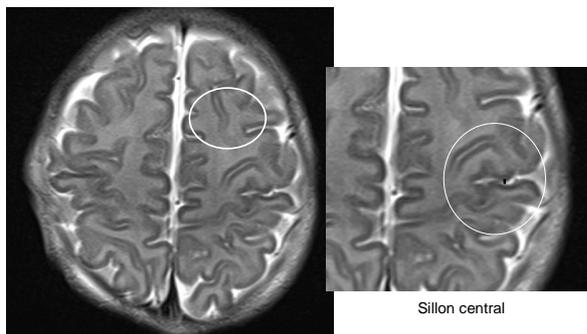
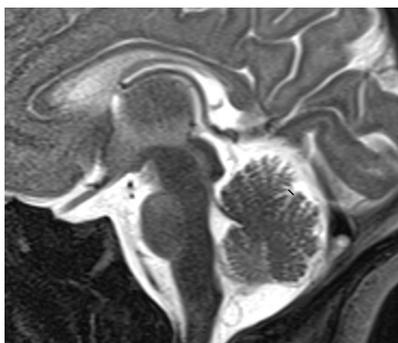


Figure 6



Figure 7



Fissure primaire du vermis



VIII. Annexe 2 : Questionnaire ASQ rempli par les familles

Questionnaires sur les étapes du développement : Évaluation de l'enfant par les parents*

Deuxième édition

par Diane Bricker et Jane Squires

avec la collaboration de Linda Mounts, LaWanda Potter, Robert Nickel, Elizabeth Twombly et Jane Farrell

Traduction et adaptation par Marthe Bonin, Philippe Robaey, Sylvie Vandaele, Georges L. Bastin et Véronique Lacroix

avec le soutien de la Fondation *Invest in Kids*

Copyright © 2000 par Paul H. Brookes Publishing Co.

Questionnaire 24 mois • 2 ans



Vous trouverez dans les pages suivantes des questions portant sur les activités des enfants. Votre petite fille ou votre petit garçon est en mesure d'exécuter un certain nombre ; par contre, il y en a d'autres que votre enfant n'a pas encore réalisées. À chaque question, veuillez cocher la case appropriée, selon que votre enfant fait l'activité souvent, parfois ou pas encore.

Voici quelques points importants à retenir :

- Assurez-vous d'essayer chaque activité avec votre enfant avant de cocher la case appropriée.
- Essayez de faire du questionnaire un jeu amusant pour vous et pour votre enfant.
- Assurez-vous que votre enfant est reposé, nourri et prêt à jouer.
- Veuillez retourner le questionnaire pour le _____.
- Si vous avez des questions au sujet de votre enfant ou du questionnaire veuillez appeler : _____.
- Prévoyez de remplir un nouveau questionnaire dans _____ mois.

Le masculin est utilisé pour désigner les deux sexes, sans discrimination, et dans le seul but d'alléger le texte.

*Translated from the English :
*Ages & Stages Questionnaires : A Parent-Completed,
Child-Monitoring System, Second Edition, Bricker et al.*
© 1999 Paul H. Brookes Publishing Co.



Questionnaires sur les étapes du développement : Évaluation de l'enfant par les parents*
Deuxième édition

par Diane Bricker et Jane Squires

avec la collaboration de Linda Mounts, LaWanda Potter, Robert Nickel, Elizabeth Twombly et Jane Farrell

Traduction et adaptation par Marthe Bonin, Philippe Robaey, Sylvie Vandaele, Georges L. Bastin et Véronique Lacroix

avec le soutien de la Fondation *Invest in Kids*

Copyright © 2000 par Paul H. Brookes Publishing Co.

Questionnaire

24 mois • 2 ans

Veillez répondre aux questions suivantes.

Nom de l'enfant : _____

Date de naissance : _____

Veillez répondre au questionnaire au plus tard le : _____

Qui remplit le questionnaire ? _____

Quel est le lien avec l'enfant ? _____

Votre téléphone : _____

Votre adresse postale : _____

Ville : _____

Province/Département/Canton : _____

Code postal : _____

Veillez indiquer le nom des personnes qui vous aident à remplir le questionnaire : _____

Date à laquelle le questionnaire est rempli : _____

Responsable du programme : _____

*Translated from the English :
*Ages & Stages Questionnaires : A Parent-Completed,
Child-Monitoring System, Second Edition, Bricker et al.*
© 1999 Paul H. Brookes Publishing Co.



Les enfants de cet âge ne se montrent pas toujours coopératifs quand on leur demande de faire quelque chose. Il est possible que vous deviez vous y reprendre à plusieurs fois pour savoir si votre enfant est capable ou non de réaliser les activités suivantes. S'il est capable de faire une activité mais qu'il s'y refuse, répondez « oui » à la question.

OUI PARFOIS PAS ENCORE

COMMUNICATION

Assurez-vous d'essayer chaque activité avec votre enfant.

1. Sans que vous lui montriez, votre enfant *indique-t-il* la bonne image quand vous lui dites, « Montre-moi le petit chat ! » ou « Où est le chien ? » (Il suffit qu'une seule image soit correctement identifiée.) _____

2. Votre enfant imite-t-il une phrase de deux mots ? Par exemple, si vous dites, « Maman mange », « Papa joue » ou « Chat parti ! », votre enfant répète-t-il après vous ces deux mêmes mots ? (Cochez « oui » même si le langage de votre enfant est difficile à comprendre.) _____

3. Sans que vous lui donniez la solution en montrant du doigt ou en faisant des gestes, votre enfant suit-il au moins *trois* de ces directives ? _____
 - a. « Mets le jouet sur la table. » d. « Va chercher ton manteau. »
 - b. « Ferme la porte. » e. « Prends ma main. »
 - c. « Apporte-moi une serviette. » f. « Prends ton livre. »

4. Si vous montrez du doigt à une image représentant un ballon (ou un chat, une tasse, un chapeau, etc.) et demandez à votre enfant, « Qu'est-ce que c'est ? », *nomme-t-il* correctement au moins l'une des images ? _____

5. Votre enfant dit-il à la suite deux ou trois mots qui représentent différentes idées qui sont liées les unes aux autres comme, par exemple, « Regarde chien ! » « Maman maison ! » ou « Chat parti ! ». (Ne comptez pas les combinaisons de mots qui expriment une seule idée comme, par exemple, « Bye-bye ! », « Plus là ! », « Très bien ! » et « Qu'est-ce que c'est ? ».) _____
 Veuillez donner un exemple des combinaisons de mots que fait votre enfant :

6. Votre enfant utilise-t-il correctement au moins deux mots parmi les suivants : « moi », « je », « le mien », « toi » ? _____

TOTAL POUR LA COMMUNICATION _____

MOTRICITÉ GLOBALE

Assurez-vous d'essayer chaque activité avec votre enfant.

1. Votre enfant descend-il les escaliers si vous le tenez par une main ? (Vous pouvez essayer cette activité dans un magasin, au terrain de jeux ou à la maison.) _____

2. Si vous lui montrez comment donner un coup de pied dans un gros ballon, votre enfant essaie-t-il d'en faire autant en lançant la jambe en avant ou en frappant le ballon tout en marchant ? (Si votre enfant donne déjà un coup de pied dans un ballon, cochez « oui ».) _____



OUI PARFOIS PAS ENCORE

MOTRICITÉ GLOBALE (suite)

3. Votre enfant monte-t-il ou descend-il au moins deux marches par lui-même ? Vous pouvez essayer cette activité dans un magasin, au terrain de jeux ou à la maison. (Cochez « oui » même s'il se tient au mur ou à la rampe.)



4. Votre enfant court-il assez bien, s'arrêtant tout seul sans se cogner contre des objets ni tomber ?



5. Votre enfant saute-t-il à pieds joints (en levant les deux pieds en même temps) ?



6. Sans recourir à aucun soutien, votre enfant donne-t-il un coup de pied dans un ballon en lançant la jambe vers l'avant ?



 _____*

TOTAL POUR LA MOTRICITÉ GLOBALE _____

**Si la réponse à la question 6 de cette série portant sur la motricité globale est « oui » ou « parfois », cochez « oui » à la question 2 de cette série.*

MOTRICITÉ FINE Assurez-vous d'essayer chaque activité avec votre enfant.

1. Votre enfant porte-t-il une cuillère à la bouche, du bon côté et, généralement, sans renverser de nourriture ?

2. Votre enfant tourne-t-il les pages d'un livre par lui-même ? (Il est possible qu'il tourne plus d'une page à la fois.)

3. Votre enfant fait-il un mouvement de rotation de la main quand il essaie de tourner des poignées de porte, de remonter le mécanisme des jouets ou de visser et de dévisser des couvercles sur des pots ?

4. Votre enfant allume-t-il et éteint-il la lumière ?

5. Votre enfant empile-t-il tout seul sept petits cubes ou petits jouets ? (Vous pouvez utiliser aussi des bobines de fil, des petites boîtes ou des jouets mesurant environ 2,5 cm.)

6. Votre enfant enfle-t-il une perle ou passe-t-il un lacet dans l'œillet d'un soulier ?



TOTAL POUR LA MOTRICITÉ FINE _____

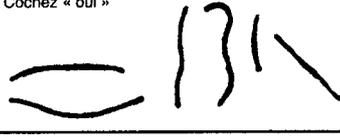
OUI PARFOIS PAS ENCORE

RÉSOLUTION DE PROBLÈMES

Assurez-vous d'essayer chaque activité avec votre enfant.

1. Une fois que vous avez tracé devant lui une ligne de haut en bas sur une feuille de papier avec un crayon, votre enfant vous imite-t-il en traçant à son tour une ligne sur la feuille (*peu importe la direction de cette ligne*) ? Le fait de gribouiller dans tous les sens ne compte pas pour un « oui ».

Cochez « oui »



Cochez « pas encore »



- | | | | | |
|--|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|
| | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
|--|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|
2. Sans que vous lui montriez comment faire, votre enfant reverse-t-il intentionnellement une petite bouteille transparente pour en faire tomber un petit morceau de biscuit ou un Cheerio ? (Vous pouvez utiliser un flacon à comprimés, une bouteille en plastique ou un biberon.)
- | | | | | |
|--|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|
| | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
|--|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|
3. Votre enfant joue-t-il à prendre certains objets pour d'autres ? Par exemple, place-t-il une tasse près de son oreille en disant qu'il s'agit d'un téléphone ? Se met-il une boîte sur la tête en affirmant qu'il s'agit d'un chapeau ? Utilise-t-il un petit cube ou un petit jouet pour mélanger la nourriture ?
- | | | | | |
|--|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|
| | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
|--|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|
4. Votre enfant sait-il où vont les choses ? Par exemple, sait-il que ses jouets vont sur l'étagère à jouets, que sa couverture va sur son lit et que les assiettes vont dans la cuisine ?
- | | | | | |
|--|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|
| | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
|--|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|
5. Si votre enfant veut quelque chose qu'il ne peut pas atteindre, va-t-il chercher une chaise ou une boîte et monte-t-il dessus pour attraper ce qu'il désire ?
- | | | | | |
|--|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|
| | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
|--|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|
6. Sous les yeux de votre enfant, alignez et mettez côte à côte quatre objets (comme des cubes ou des petites voitures). Votre enfant vous imite-t-il et fait-il la même chose avec au moins quatre objets identiques ? (Vous pouvez utiliser aussi des bobines de fil, des petites boîtes ou d'autres jouets.)
- | | | | | |
|--|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|
| | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
|--|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|

TOTAL POUR LA RÉOLUTION DE PROBLÈMES

APTITUDES INDIVIDUELLES OU SOCIALES

Assurez-vous d'essayer chaque activité avec votre enfant.

- | | | | | |
|---|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|
| 1. Votre enfant boit-il à l'aide d'une tasse ou d'un verre et le pose-t-il sans presque rien renverser ? | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| 2. Votre enfant vous imite-t-il, par exemple, d'essuyer un liquide renversé, de balayer ou de faire semblant de se raser ou de se peigner ? | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| 3. Votre enfant mange-t-il avec une fourchette ? | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |

OUI PARFOIS PAS ENCORE

APTITUDES INDIVIDUELLES OU SOCIALES (suite)

- | | | | | |
|--|--------------------------|--------------------------|--------------------------|-----|
| 4. Quand votre enfant joue avec une poupée ou un animal en peluche, fait-il semblant de le bercer, de le nourrir, de lui changer sa couche, de le mettre au lit et ainsi de suite ? | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | ___ |
| 5. Votre enfant pousse-t-il un chariot d'épicerie, une poussette ou une voiturette, contourne-t-il les obstacles rencontrés et recule-t-il avec le chariot s'il ne peut pas tourner dans un coin ? | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | ___ |
| 6. Votre enfant se désigne-t-il lui-même à l'aide des mots « je » ou « moi » plutôt qu'en utilisant son prénom ? Par exemple, dit-il « Je fais telle chose » plutôt que « Pierre fait telle chose ». | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | ___ |

TOTAL POUR LES APTITUDES INDIVIDUELLES OU SOCIALES ___

ÉVALUATION GLOBALE

Les parents et les responsables du programme peuvent ajouter des commentaires en utilisant l'espace qui se trouve ci-dessous ou le verso de cette feuille.

- | | | |
|--|------------------------------|------------------------------|
| 1. Pensez-vous que votre enfant entend normalement ? | OUI <input type="checkbox"/> | NON <input type="checkbox"/> |
| Sinon, veuillez expliquer : _____ | | |
| 2. Pensez-vous que votre enfant parle comme les enfants de son âge ? | OUI <input type="checkbox"/> | NON <input type="checkbox"/> |
| Sinon, veuillez expliquer : _____ | | |
| 3. Comprenez-vous, la plupart du temps, ce que dit votre enfant ? | OUI <input type="checkbox"/> | NON <input type="checkbox"/> |
| Sinon, veuillez expliquer : _____ | | |
| 4. Pensez-vous que votre enfant marche, court et grimpe comme les enfants de son âge ? | OUI <input type="checkbox"/> | NON <input type="checkbox"/> |
| Sinon, veuillez expliquer : _____ | | |
| 5. L'un des parents a-t-il des antécédents familiaux de surdité infantile, partielle ou totale ? | OUI <input type="checkbox"/> | NON <input type="checkbox"/> |
| Si oui, veuillez expliquer : _____ | | |
| 6. Pensez-vous que votre enfant voit normalement ? | OUI <input type="checkbox"/> | NON <input type="checkbox"/> |
| Sinon, veuillez expliquer : _____ | | |
| 7. Votre enfant a-t-il eu des problèmes de santé au cours des derniers mois ? | OUI <input type="checkbox"/> | NON <input type="checkbox"/> |
| Si oui, veuillez expliquer : _____ | | |
| 8. Quelque chose chez votre enfant vous inquiète-t-il ? | OUI <input type="checkbox"/> | NON <input type="checkbox"/> |
| Si oui, veuillez expliquer : _____ | | |

ASQ 24 mois/2 ans : Sommaire des résultats

Nom de l'enfant : _____ Date de naissance de l'enfant : _____
 Personne ayant rempli le questionnaire : _____ Lien avec l'enfant : _____
 Adresse postale : _____ Ville : _____
 Téléphone : _____ Province/Département/Canton : _____ Code postal : _____
 Date à laquelle le questionnaire est rempli : _____ Personne ayant aidé à remplir le questionnaire : _____

ÉVALUATION GLOBALE : Veuillez reporter les réponses inscrites dans la partie intitulée « Évaluation globale » en encerclant « oui » ou « non » et en rapportant les commentaires des parents.

- | | | | | | |
|---|-----|-----|---|-----|-----|
| 1. Audition correcte ?
Commentaires : | OUI | NON | 5. Antécédents familiaux de surdité ?
Commentaires : | OUI | NON |
| 2. Langage comme celui des autres enfants ?
Commentaires : | OUI | NON | 6. Vision correcte ?
Commentaires : | OUI | NON |
| 3. L'adulte comprend-il l'enfant ?
Commentaires : | OUI | NON | 7. Problèmes médicaux récents ?
Commentaires : | OUI | NON |
| 4. Marche, court, grimpe comme les autres enfants ?
Commentaires : | OUI | NON | 8. Autres questions ou problèmes ?
Commentaires : | OUI | NON |

COTATION DES RÉPONSES

- Assurez-vous que toutes les questions comportent une réponse. S'il n'est pas possible de répondre à une question, veuillez vous reporter au mode de calcul des rapports de cotation dans *The ASQ User's Guide*.
- Cotez chaque réponse en écrivant la valeur qui lui correspond sur la ligne appropriée.
OUI = 10 PARFOIS = 5 PAS ENCORE = 0
- Additionnez les cotes attribuées aux réponses pour chaque sphère de développement et notez le total sur la ligne prévue à cet effet.
- Indiquez la cote totale pour chaque sphère de développement en noircissant le cercle approprié dans le tableau ci-dessous. Par exemple, si la cote totale pour la sphère de développement relative à la communication est de 50, noircissez le cercle situé sous le chiffre 50 dans la première rangée.

Total	0	5	10	15	20	25	30	35	40	45	50	55	60
Communication	<input type="radio"/>	<input checked="" type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>						
Motricité globale	<input type="radio"/>	<input checked="" type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>							
Motricité fine	<input type="radio"/>	<input checked="" type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>							
Résol. de problèmes	<input type="radio"/>	<input checked="" type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>							
Apt. indiv. ou soc.	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>							
Total	0	5	10	15	20	25	30	35	40	45	50	55	60

Examinez les cercles noircis pour chaque sphère de développement dans le tableau ci-dessous.

- Si la cote se trouve dans la zone , la performance de l'enfant pour ce type d'activités est normale à cette étape de son développement.
- Si la cote se trouve dans la zone , veuillez consulter un professionnel de la santé. Un examen plus approfondi peut être nécessaire.

OPTIONNEL : Les réponses correspondant à chaque item du questionnaire peuvent être notées dans le tableau ci-dessous.

	Cote	Seuil	Communication			Motricité globale			Motricité fine			Résol. de problèmes			Apt. indiv. ou soc.		
			1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3
24 mois/2 ans	Communication	36,5	<input type="radio"/>														
	Motricité globale	36,0	<input type="radio"/>														
	Motricité fine	36,4	<input type="radio"/>														
	Résol. de problèmes	32,9	<input type="radio"/>														
	Apt. indiv. ou soc.	35,6	<input type="radio"/>														
				O	P	N	O	P	N	O	P	N	O	P	N	O	P

Responsable du programme : _____

IX. Annexe 3 : Article scientifique

“ Magnetic resonance spectroscopy and neurodevelopment at 2 years of age in preterm infants: EPIRMEX cohort study.”

Magnetic resonance spectroscopy and neurodevelopment at 2 years of age in preterm infants: EPIRMEX cohort study.

Tosello B, Benoist M, Favrais G, Marret S, Morel B, Guye M, Chadie A, Bednarek N, Loron G, Gire C, Saliba E

INTRODUCTION

Last decade advances in neonatal care largely improved survival rate of very preterm and extremely low-birth weight (1,2). The majority of these infants survive the neonatal period, however, they risk to develop neurodevelopmental disabilities such as cerebral palsy, cognitive-behavioral or learning impairments is major. Besides, it is now known (3,4) that preterm children lag behind term-born's ones during adolescence and adulthood.

Cranial ultrasonography (US) or conventional magnetic resonance imaging (MRI) are usually the first imaging modalities used in preterm infants to highlight brain abnormalities (5). However, these imaging techniques can't completely exclude later adverse neurologic outcomes when these explorations (anatomical neuroimaging) are normal. Acute and chronic injury at cellular level can be difficult to distinguish from physiology with anatomical imaging, but magnetic resonance spectroscopy (MRS) can be used to assess cellular metabolism and to monitor neurometabolic disorder in brain patient. Therefore, MRS may provide additional diagnostic value to cranial US and MRI in infants. MRS can non-invasively measure various brain metabolites that are known to be altered during rapid brain development in the first year of life (6,7). It provides a qualitative and quantitative analysis of several metabolites participating in the cerebral cellular energy cycle by using the magnetic properties of certain atoms.

In adult brain, there is an association between the extent of astrogliosis and changes in brain metabolism (increase in the cerebral choline (Cho) to total creatine (Cr) ratio and a reduction in N-acetylaspartate (NAA) levels at proton (hydrogen 1 [¹H]) MR spectroscopy). In preterm or equivalent term brain, milder focal or diffuse nondestructive white matter (WM) lesions now predominate (8). These lesions result from disturbed maturation and disturbance of myelination with the oligodendrocyte (9). The associated diffuse astroglial reaction appears to be part of a generalized neuroinflammatory response proportionate to the degree of developmental arrest of the developing oligodendrocyte (10). The posterior periventricular WM is an oligodendrocyte-rich zone. NAA is the brain metabolite reflecting the density and

therefore the functioning of neuronal progenitors such as the oligodendrocytes (NAA/Cho ratio increases with age in all brain regions) (11).

A number of studies, detailed above, show that proton spectroscopy can predict the long-term outcome of neonates with anoxic-ischemic encephalopathy. These studies show that an increase in lactate and a decrease in NAA are correlated with poor development (12,13). Few studies have explored MRS in predicting the outcome of the very preterm infant. These studies report contradictory results. First, Augustine et al. found no association between spectroscopic ratios (voxel in supraventricular position encompassing WM and gray matter-GM) and neurodevelopment at 18-24 month (14). In an earlier study, Kimura et al., placing a voxel in the frontal WM, report an association with various neurological disorders and a reduction in the NAA/Cho ratio in a heterogeneous population of infants (6). Recently, Kendall (15) et al shown that a reduced NAA/Cho ratio combined with an increase in Cho / Cr ratio in children with 1-year motor development delay was more reliable for neurodevelopmental prognosis compared to conventional magnetic resonance imaging results. These ratios were measured in the posterior periventricular WM. Finally, Van Kooij et al. show that cerebellar volumes and NAA/Cho ratio in the cerebellum in term premature infants are associated with cognitive impairment at 2 years but not correlated with motor development abnormalities (16). All these studies on preterm infants did not elucidate children outcome with MRS, but showed the potential use of this imaging technique in cognitive development of premature brains.

In our study, we hypothesized that MRS can be used to predict neurodevelopmental outcomes in preterm infants. Therefore, first, we compare MRS metabolite ratios in preterm infants at term-equivalent age and abnormal MRI. Then, we correlate MRS metabolites and neurodevelopmental outcomes at 24 months corrected age.

METHODS

Study design and patients

Patients were prospectively recruited through the French population-based study EPIPAGE-2 (Etude Epidémiologique sur les Petits Âges Gestationnels-2) (ClinicalTrials.gov Identifier: NCT03078439) (EPIPAGE 2 Writing Group et al., 2014). EPIRMEX is an ancillary study of EPIPAGE-2. EPIRMEX is a cohort-study focused on very preterm infants, *i.e.* with a birth term from 26^{0/7} to 31^{6/7} weeks of gestation, born from July 1, 2011 to October 31, 2012 and treated in 15 French neonatal intensive care units. Principal aim of EPIRMEX cohort-

study was to explore the predictive value of brain MRI performed at term-equivalent age on executive function impairment at age five years (Clinical Trials.gov identifier NCT02083822).

Data concerning patient characteristics, pregnancy course and neonatal morbidities were extracted from EPIPAGE-2 database for each EPIRMEX-included patient. Concerning patient characteristics, gestational age, birth weight, small for gestational age, *i.e* birth weight less than the 10th percentile and sex were used. Concerning pregnancy course, presence of multiple pregnancy or chorioamnionitis or antenatal corticosteroids performing were analysed. Concerning neonatal morbidities, Apgar score at five minutes, postnatal corticosteroids requirement or occurrence of significant necrotizing enterocolitis, *i.e* Bell's stage II or more, retinopathy of premature, early and late onset sepsis, severe brain lesions on US scan, *i.e* high-grade intraventricular-hemorrhages, cystic periventricular leucomalacia or all types of brain parenchyma lesions, and severe broncho-pulmonary dysplasia were addressed. Severe broncho-pulmonary dysplasia was defined by oxygen supplementation at 28 days old associated with fractional inspired oxygen above 30% or mechanical ventilation or non-invasive support at 36^{0/7} weeks of corrected age. Finally, post-menstrual age on brain MRI day, subscription to universal public health insurance reflecting low parental socio-economic level were also used.

Infants exhibited chromosomic abnormalities associated with severe neurologic impairment or central nervous system malformations were excluded.

MRI/MRS protocol

MRI examination of all preterm infants was acquired at term-equivalent age, *i.e* from 39^{0/7} to 40^{6/7} weeks of corrected age. MRI were acquired without sedation, during infants' natural sleep. Infants were positioned inside the scanner wrapped in a vacuum pillow and monitored with electrocardiography and pulse oximetry. Earmuffs were used for noise attenuation.

A standardized scoring system was used to evaluate cerebral WM and cortical GM abnormalities (17).

All of the qualitative and quantitative assessments of MR images were performed by the EPIRMEX group with sufficient experience to assess clinical MR images. Interobserver reliabilities (intraclass correlation coefficients) from 50 scans scored by group of 2 observers were 0.90 in the qualitative assessment. No infant had changed category of scoring between raters.

Data are processed using proprietary software developed on IDL (Interactive Data Language, Research System Inc., Boulder, CO). After an additional water suppression using HLSVD-MRUI FORTRAN code (18), spectra are fitted using AMARES-MRUI FORTRAN code (19).

Developmental assessments at corrected age 24 months

Children underwent structured neurological and developmental assessments at 24 months of age (corrected for the prematurity).

The primary outcome was to evaluate the association of MRS metabolites and a two-year survival without neurosensory impairments, defined as cerebral palsy, deafness and blindness in children born < 34 weeks. Cerebral palsy was defined according to the criteria of the European Surveillance of Cerebral Palsy in Europe (SCPE) network (20).

Auditory and visual impairments were either unilateral or bilateral. The psycho-motor development of those children free from cerebral palsy or sensory deficit was assessed using the 24-month Ages and Stages Questionnaire-2 (ASQ). The ASQ was validated in France and completed by parents. A pathological ASQ score was defined as a score of less than two standard deviations in one of the five domains evaluated (21). ASQ-2 is a 30-item questionnaire assessing five neurodevelopmental domains, *i.e* communication, gross motor functions, fine motor functions, problem solving abilities, personal-social skills. Each item were scored according to infant ability for performing task usually (10 points), sometimes (5 points) or not yet (0 point). Thus, global ASQ-2 and each domain scores may vary from 0 to 300 and from 0 to 60, respectively. Global ASQ-2 and domain scores were considered as continuous variables for this study and these scores were analyzed through linear regression.

Complete follow-up at 24 months of age was assessed in 68 out of the 69 children (98.5%) included in the study.

Statistical analysis

Data were analysed using SPSS for Windows. A p-value of less than 0.05 was considered statistically significant. Categorical variables were described by frequencies and percentages, and continuous variables were described by means of standard deviation or medians and maximum/minimums. Comparative analysis is done using Chi-2 or Fisher test for qualitative variables, and Student test or analysis of variance tests for quantitative variables. Mann-Whitney & Kruskal-Wallis tests were used when the previous tests were not

applicable.

Ethical statement

Data collection and evaluation for this study were approved by Committee for the Protection of Persons (CPP-Ouest-1, 10/03/2013, ref 2011 R19) and written consent was obtained from all participating families.

RESULTS

General aspect of the study

In total, 69 preterm infants were included in this study. The mean GA was 27.9 (+/- 1.6) weeks and birth weight was 1067 (+/- 259.5) g. The maternal-obstetrical and neonatal prevalences are presented in table 1.

Table 1. Characteristics of the studied population

	Total population n = 69, n (%)
<i>Maternal and obstetrical characteristics</i>	
Maternal Age (years, mean +/-SD)	29.2 (2.1)
SES*	
Professional	13 (18.8)
Intermediate	6 (8.7)
Administrative/public service, self-employed or student	13 (18.8)
Shop assistant, service worker	10 (14.5)
Manual worker or unemployed	12 (17.3)
Maternal smoking	15 (21.7)
Complete ACS	40 (57.9)
Cause of preterm birth	
Preterm labor	12 (17.4)
PPROM	5 (7.2)

Spontaneous Prematurity,	12 (17.4)
Vascular Pathology	9 (13)
Maternal infection	17 (24.6)
Metrorrhagia	1 (1.4)
Other causes of preterm birth**	3 (4.3)
Cesarean section	51 (73.9)
<i>Postnatal characteristics</i>	
GA, (weeks, mean +/-SD)	27.9 (1.6)
GA, 24 ^{0/7} -27 ^{6/7} weeks	27 (39.1)
GA, 28 ^{0/7} -31 ^{6/7} weeks	42 (60.9)
Delayed cord clamping	14 (20.3)
Male, n (%)	42 (60.9)
Birth weight, g mean (+/-SD)	1067 (259.5)
Birth weight <3°p	38 (55.1)
Birth weight <10°p	32 (46.4)
Apgar <7	4 (5.8)
Tracheal Intubation	41 (59.4)
Chest compression	8 (11.6)
Severe neonatal morbidity***	27 (39.1)
BPD	26 (37.7)
ROP	1 (1.4)
IVH 1-2	20 (28.9)
IVH 3-4	1 (1.4)
cPLV	3 (4.3)

Abbreviations SES: socio economic status; GA: gestational age; ACS: antenatal

corticosteroid therapy; PPRM: Preterm premature rupture of membranes; BPD: Broncho pulmonary dysplasia; ROP: retinopathy of prematurity; IVH: intraventricular hemorrhage; cPVL : cystic periventricular leukomalacia

* Family SES (socioeconomic status) was recorded according to the national French classification of occupations and social position (<https://www.insee.fr/fr/information/2406153>) and grouped into five categories: 1 professional; 2 intermediate; 3 administrative/public service, self-employed or student; 4 shop assistant, service worker; and 5 manual worker or unemployed. SES was defined as the higher occupation between the two parents or occupation of the mother if she lived alone.

** Other causes of preterm birth including isolated and sporadic causes (acute fatty liver of pregnancy, severe fetal anemia, sickle cell anemia, psychiatric...).

*** Severe neonatal morbidity (defined by IVH \geq grade 3 and/or cPVL and/or BPD and/or ROP \geq stage 3 and/or NEC \geq stage 2).

Brain MRI abnormalities at term-equivalent age (Table 2)

Table 2. MRI abnormality at term-equivalent age

	% (n=67)
Myelination	
M1 Myelination evident in brain stem, cerebellar peduncle, inferior colliculus, cerebellar vermis	0
M2 = M1 + subthalamic nuclei, globus pallidus, ventrolateral thalamus	0
M3 = M2 + caudal portion of the posterior limb of the internal capsule (PLIC)	34,3
M4 = M3 + complete PLIC	61,2
M5 = M4 + optic radiation	1,5
M6 = M5 + corona radiata	3,0
M7 = M6 + anterior limb of internal capsule	0

White matter signal abnormality :

Normal	44,8
Mild abnormality	49,3
Moderate-severe abnormality	6,0

Ventriculare dilatation :

Normal	53,7
Mild dilatation resulting in mild rounding of the frontal...	43,3
Moderate-severe enlargement of the frontal, temporal...	3,0

Periventricular WM loos :

Normal	55,2
Mild abnormality	41,8
Moderate-severe abnormality	3,0

Cystic abnormalities :

No cysts	90,9
Less than 2mm single focal cyst	3,0
Multiple cysts or single larger cyst > 2mm	6,1

Combinaison of WM abnormalities

No abnormality- Total score 5 to 6	41,8
Mild abnormality- Total score 7 to 9	52,2
Moderate abnormality- Total score 10 to 12	6,0

Severe abnormality- Total score 13 to 15	0
Punctate white matter lesions	
Not present	89,6
Present, <6	9,0
Present, >=6	1,5
Presence of gray cortical signal abnormality	
Normal	3,0
Mild abnormality	97,0
Moderate-severe abnormality	0
Quality of gyral maturation :	
Normal for 40 weeks	61,2
2 to 4 weeks delay in gyral development (w36-40)	38,8
More than 4 weeks delay in gyral development	0
Size of subarachnoidal space	
Small subarachnoid space which was barely visible	49,3
Mildly enlarged CSF space with visible enlargement of the space between the major sulci and the interhemispheric space in addition to the extracerebral space	44,8
More substantially enlarged global subarachnoid space with visible cerebrospinal fluid between many gyri as well as interhemispheric and extracerebral.	6,0
Punctate haemorrhages in the cerebellum = cerebelum lesion	
Normal	95,5

Single unilateral left	3,0
Single unilateral right	1,5
Bilateral	0
Multiple involving both hemispheres	0
Associated with volume loss	0
Grade of DESHI	
No DESHI throughout the WM	34,3
Visible only within the crossroads	43,3
Visible in other regions of WM (1 regions)	10,4
Visible in other regions of WM (2 regions)	10,4
Visible in other regions of WM (≥ 3 regions)	1,5
<i>Regional Measurement</i>	
<i>Thinning of the corpus callosum</i>	
None	91,9
Partial (genu/body < 1.3 mm or splium < 2.0mm)	8,1
Global (genu/body < 1.3 mm and splium < 2.0mm)	0
<i>Dilated lateral ventricles</i>	
Both sides Ventricular diameters < 7.5mm	62,5
One side $7.5\text{mm} \leq$ Ventricular diameters $\leq 10\text{mm}$	15,6
Both sides $7.5\text{mm} \leq$ Ventricular diameters $\leq 10\text{mm}$ or one side Ventricular diameters $\geq 10\text{mm}$	20,3
Both sides Ventricular diameters $\geq 10\text{mm}$	1,6

Cerebellum Volume reduction

Transcerebellar diameter \geq 50mm	67,2
50 mm > transcerebellar diameter \geq 47mm	28,1
47 mm > transcerebellar diameter \geq 44mm	3,1
44mm	1,6

Reduction of WM volume

0 = biparietal width \geq 77mm	50,0
1 = 77mm > biparietal width \geq 72mm	25,0
2 = 72mm > biparietal width \geq 67mm	21,9
3 = 67mm > biparietal width	3,1

Extracerebral space

Interhemispheric distance <4 mm	34,4
4mm \leq interhemispheric distance < 5 mm	10,9
5mm \leq interhemispheric distance < 6 mm	15,6
Interhemispheric distance \geq 6mm	39,1

Deep GM volume reduction

Deep GM area \geq 950 mm ²	95,2
1 = 950 > deep GM area \geq 850 mm ²	3,2
2 = 850 > deep GM area \geq 750 mm ²	1,6
3 = 750 > deep GM area	0

Abbreviations: PLIC: caudal portion of the posterior limb of the internal capsule, WM:

white matter, CSF: cerebrospinal fluid, DESHI: Diffuse excessive high signal intensity, GM: gray matter

Term equivalent MRI brain abnormality were analyzed for 67 children. Periventricular white matter lesions and WM signal abnormality are mainly normal or with mild abnormality. Thus, combination of WM abnormalities is majority with mild abnormality. Presence of GM signal abnormality present predominantly mild abnormality and quality of gyral maturation is globally normal for 40 weeks. There is almost no cerebellum lesion (normal at 95%), and regional measurement is normal in most cases.

Comparison of MRS metabolite ratios and Brain MRI abnormalities (Table 3)

Table 3. Relation between metabolite peak area ratios and brain MRI abnormality at term-equivalent age

	Peak area ratios			
	NAA/ Cho	NAA/ Cr	Cho/Cr	Lac/NAA
Brain MRI abnormality	P value	P value	P value	P value
WM injury score, n= 38	0.51	0.91	0.65	0.08
GM injury score, n= 15	0.12	0.11	0.58	0.03
Presence of DESHI, n= 38	0.006	0.30	0.014	0.86
Lateral ventricular dilation, n= 23	0.18	0.31	0.64	0.47
Cerebellum volume reduction, n= 20	0.24	0.53	0.78	0.70
Reduction of WM volume, n= 30	0.73	0.95	0.98	0.59
Increased extracerebral space, n= 38	0.75	0.19	0.25	0.98
Deep GM volume reduction, n= 13	0.49	0.92	0.18	0.009

Term equivalent MRI brain abnormality were compared to MRS peak area ratio (table 3). Diffuse excessive high signal intensity (DESHI) that reflects diffuse WM injury is correlated with NAA/Cho and Cho/Cr changes. These results are particularly relevant, showing the accuracy of our data.

GM abnormality is strongly correlated with Cho / Cr change.

MRS metabolite ratios and per-natal factors

Prematurity itself has a minor influence on neurodevelopmental fate, while per-natal factors have a predominant role in predicting their outcome. These factors include intrinsic factors such as intrauterine growth restriction, or extrinsic factors such as antenatal cortico-therapy. NAA/Cr, Lac/Cho and Lac/Cr peak area ratios variation in WM are correlated with antenatal cortico-therapy (P= 0,025, 0,046 and 0,022). Moreover Cho/Cr peak area ratios variation in GM is correlated with strong intrauterine growth restriction (<3e percentile, P= 0,033).

MRS metabolites and neurodevelopment in preterm infants at 24 months

Neurodevelopment outcome by ASQ at 24 months of age was assessed in 59 out of the 69 children (85.5%) included in the study. Parental questionnaires were collected at a median of 24 months corrected age (interquartile range 23-25.2). In our cohort, an ASQ score below threshold was observed in 37.2%. An ASQ score below threshold was observed in 26.6% and 33,8% of children born at 24-26 and 27-31 weeks' gestation, respectively. Six infants (8.8%) had a score below threshold in at least 3 ASQ domains. The domain most frequently scoring below threshold was communication. One infant (0.6%) born before 27 weeks and 5 infants (11.3%) born between 27-31 weeks had at least three abnormal domains. The table 3 summarizes the results of the ASQ score. Regarding the ASQ results, there was no significant difference between the two weeks gestational age groups.

Table 4: Neurodevelopmental assessment at 2 years

Parameter	n = 59, n (%)
ASQ assessment	
Age, months (median [IQR])	26.5 [25.7-29]
Corrected age, months (median [IQR])	24 [23-25.2]
Score total ASQ	
Mean (+/SD)	231.2 (61.3)
Median [IQR]	245 [195-280]
Abnormal ASQ	22 (37.2)
Abnormal Communication	22 (37.2)

Abnormal Gross Motor	6 (10.1)
Abnormal Fine Motor	6 (10.1)
Abnormal Problem Solving	6 (10.1)
Abnormal Personal and Social Skills	6 (10.1)
<i>24-26 weeks' gestation</i>	n = 15, n (%)
Abnormal ASQ	4 (26.6)
Abnormal Communication	3 (5.0)
Abnormal Gross Motor	1 (1.6)
Abnormal Fine Motor	1 (1.6)
Abnormal Problem Solving	1 (1.6)
Abnormal Personal and Social Skills	1 (1.6)
<i>27-31 weeks' gestation</i>	n = 44, n (%)
Abnormal ASQ	20 (33.8)
Abnormal Communication	19 (32.2)
Abnormal Gross Motor	5 (8.4)
Abnormal Fine Motor	5 (8.4)
Abnormal Problem Solving	5 (8.4)
Abnormal Personal and Social Skills	5 (8.4)

The metabolite ratios NAA/Cho and NAA/Cr in GM and, Lac/Cho and Lac/Cr in WM were different between children with more than one domain altered at ASQ vs. one domain (P=0.08, P=0.039, P=0.048 and P=0.031, respectively).

For data in WM, the pathological communication domain was significantly associated with a lower NAA/Cr ratio (P=0.05) and the presence of high [Lac] was significantly associated with pathological domains except communication (P=0.01 for abnormal "gross motor", "fine motor", "problem solving" and "personal and social skills" domains).

Finally for data in GM, a lower NAA/Cr ratio was found for pathological domains (except communication) without significant difference (P=0.06).

Significant correlations were found between NAA/Cho and Cho/Cr ratio and ASQ scores for gross motor and fine motor domains . After correcting for gestational age at birth, the NAA/Cho still showed significant correlation with fine motor domains (r = 0.38, P = 0.02).

Abnormal ASQ score and metabolite NAA/Cho peak area ratios at term-equivalent age was the most strongly related with abnormalities in basal ganglion region (P=0.06; OR IC (95%) 0.439 [0.186-1.034]) (Table 5).

Table 5. Abnormal ASQ score and metabolite peak area ratios at term-equivalent age in relation with abnormalities in basal ganglion region and WM region.

		Basal ganglion injury			White matter injury	
		P value	OR IC (95%)		P value	OR IC (95%)
Abnormal ASQ*	NAA/Cho	0.68	0.780	[0.231-2.629]	0.06	0.439 [0.186-1.034]
	NAA/Cr	0.76	1.061	[0.720-1.562]	0.54	0.962 [0.850-1.089]
	Cho/Cr	0.92	1.010	[0.825-1.236]	0.77	1.013 [0.928-1.105]

Finally, NAA/Cho and NAA/Cr peak area ratios are correlated with brain maturation (P= 0,005 and 0,034 respectively).

DISCUSSION

We analyzed MRS metabolites of 69 preterm infants and neurodevelopmental outcome at 24 months was assessed. Important findings were noted.

First, we described brain abnormality with conventional IRM. Our results showed the same brain abnormalities as previous studies (17).

Then, we show that diffuse WM injury is correlated with NAA/Cho and Cho/Cr changes. And GM abnormality is strongly correlated with Cho/Cr change.

Antenatal cortico-therapy induce change in NAA/Cr, Lac/Cho and Lac/Cr peak area ratios variation in WM; whereas Cho/Cr peak area ratios variation in GM is correlated with strong intrauterine growth restriction.

In our study, an ASQ score below threshold was observed in 37.2% (26.6% for 24-26 GA children and 33,8% for 27-31 GA children). And the domains most frequently scoring below threshold was communication.

Abnormal ASQ score and metabolite NAA/Cho peak area ratios at term-equivalent age was the most strongly related with abnormalities in basal ganglion region.

Finally, NAA/Cho and NAA/Cr peak area ratios are correlated with brain maturation.

NAA, a marker for neuronal activity, increases gradually from 24 weeks gestation with brain maturity (22). Concurrently, Cho, a marker for membrane turnover and myelination, decrease with age as the rapid brain growth of the neonate slows in infancy (19,20). Xu et al demonstrated that NAA/Cho significantly increased with age for all the regions of interest across the entire premature newborn brain (11). The studies on MRS development from the preterm and neonatal period are contradictory concerning the relationship of MRS cerebral metabolites and neurodevelopment in preterm infants. There doesn't seem to have a consensus on the prognostic utility of MRS in preterm infants among studies. In Bapat's study (23), NAA/Cho ratios in the subventricular zone and cortex also exhibited significant correlation with a primary outcome of Bayley mental scores and secondary outcome of Bayley language scores. A large study of 177 preterm newborns with MRS obtained at both 32 and 40 weeks' corrected age reported that slower increases in NAA/Cho was related to increasing severity of motor and cognitive outcomes at 18 months (24). Two reported studies examined this relationship and did not identify any correlations between MRS metabolites ratios and Bayley mental and psychomotor scores at 18-24 months' corrected age (14,25). Recently, Hyodo et al. found reduced NAA/Cho ratios in the frontal white matter of preterm infants compared with term infants and they found a significantly lower NAA/Cho ratio in the thalamus of preterm infants with mild developmental delay than preterm infants with normal development (26). Despite the small number of infants (n=9) with abnormal neurodevelopmental outcomes, the authors found meaningful correlations, although the regions of interest differed among studies. In the future, it is necessary to specify the region of interest for measuring brain metabolites in order to predict later neurodevelopmental outcomes.

Kendall et al. had shown that a combination of a reduced NAA/Cho ratio and an increased Cho/Cr ratio identified infants with delayed motor development at 1 year, with a sensitivity of 0.80 and specificity of 0.80 (15). Cho is a putative marker of cellularity and cell turnover, and reduced Cho concentration may be associated with delayed myelination (27,28).

Several authors have argued that the metabolite concentrations examined in the neonatal period, including the preterm period and their changes with age, are clinically useful indices of neonatal brain development(15,23,26,29–31).

However, some studies had follow-up only until 12– 24 months. Only few studies had evaluated MRS metabolite ratio in preterm infants older than 4 years. Recently, two studies did not find differences in the MRS metrics between groups (32,33). In Taylor's study, as our cohort, the MRS were acquired longitudinally, at birth and at term-equivalent but also at 4 years of age. Seventy infants were scanned at term-equivalent and 45 at 4 years of age. Brain injury was reported in 23 of the 45 infants followed (7 with germinal matrix haemorrhage \geq grade III and 11 infants had both white matter lesions and germinal matrix haemorrhage). In our study, we reported only MRS and outcomes of preterm children free of major brain injury. However, the author concluded that MRS metrics early in the infant's life do not appear to predict these longer-term outcomes (33). Conversely, Gimenez et al reported significant relationships between gestational age and different metabolites and the hippocampal volume. Their results demonstrated that prematurity affects brain metabolites, related to structural changes and suggesting that the cerebral changes persisted until adolescence (4).

In conclusion, our data provide new information about the normative values of brain metabolites in the early neonatal period of preterm infants with abnormal development. Therefore, this study will be continued studying the relationship between metabolite abnormalities and long-term cognitive, language and behavioral outcomes at 5 years old.

References

1. Lemons JA, Bauer CR, Oh W, Korones SB, Papile L-A, Stoll BJ, et al. Very Low Birth Weight Outcomes of the National Institute of Child Health and Human Development Neonatal Research Network, January 1995 Through December 1996. :10.
2. Stoll BJ, Hansen NI, Bell EF, Shankaran S, Laptook AR, Walsh MC, et al. Neonatal Outcomes of Extremely Preterm Infants From the NICHD Neonatal Research Network. PEDIATRICS. 1 sept 2010;126(3):443-56.

3. Aarnoudse-Moens CSH, Weisglas-Kuperus N, van Goudoever JB, Oosterlaan J. Meta-Analysis of Neurobehavioral Outcomes in Very Preterm and/or Very Low Birth Weight Children. *PEDIATRICS*. 1 août 2009;124(2):717-28.
4. Aarnoudse-Moens CSH, Duivenvoorden HJ, Weisglas-Kuperus N, Goudoever JBV, Oosterlaan J. The profile of executive function in very preterm children at 4 to 12 years. *Dev Med Child Neurol*. 2012;54(3):247-53.
5. Panigrahy A, Wisnowski JL, Furtado A, Lepore N, Paquette L, Blüml S. Neuroimaging biomarkers of preterm brain injury: toward developing the preterm connectome. *Pediatr Radiol*. janv 2012;42(S1):33-61.
6. Kimura H, Fujii Y, Itoh S, Matsuda T, IWASAKI T, Maeda M, et al. Metabolic alterations in the neonate and infant brain during development: evaluation with proton MR spectroscopy. *Metab Alter Neonate Infant Brain Dev Eval Proton MR Spectrosc*. 1995;194(2):483-9.
7. Panigrahy A, Nelson MD, Blüml S. Magnetic resonance spectroscopy in pediatric neuroradiology: clinical and research applications. *Pediatr Radiol*. janv 2010;40(1):3-30.
8. Buser JR, Maire J, Riddle A, Gong X, Nguyen T, Nelson K, et al. Arrested preoligodendrocyte maturation contributes to myelination failure in premature infants. *Ann Neurol*. janv 2012;71(1):93-109.
9. Riddle A, Dean J, Buser JR, Gong X, Maire J, Chen K, et al. Histopathological correlates of magnetic resonance imaging-defined chronic perinatal white matter injury. *Ann Neurol*. sept 2011;70(3):493-507.
10. Riddle A. Spatial Heterogeneity in Oligodendrocyte Lineage Maturation and Not Cerebral Blood Flow Predicts Fetal Ovine Periventricular White Matter Injury. *J Neurosci*. 15 mars 2006;26(11):3045-55.
11. Xu D, Bonifacio SL, Charlton NN, P. Vaughan C, Lu Y, Ferriero DM, et al. MR spectroscopy of normative premature newborns. *J Magn Reson Imaging*. févr 2011;33(2):306-11.
12. Ancora G, Testa C, Grandi S, Tonon C, Sbravati F, Savini S, et al. Prognostic value of brain proton MR spectroscopy and diffusion tensor imaging in newborns with hypoxic-ischemic encephalopathy treated by brain cooling. *Neuroradiology*. août 2013;55(8):1017-25.
13. Hart AR, Smith MF, Whitby EH, Alladi S, Wilkinson S, Paley MN, et al. Diffusion-weighted imaging and magnetic resonance proton spectroscopy following preterm birth. *Clin Radiol*. août 2014;69(8):870-9.

14. Augustine EM, Spielman DM, Barnes PD, Sutcliffe TL, Dermon JD, Mirmiran M, et al. Can magnetic resonance spectroscopy predict neurodevelopmental outcome in very low birth weight preterm infants? *J Perinatol.* sept 2008;28(9):611-8.
15. Kendall GS, Melbourne A, Johnson S, Price D, Bainbridge A, Gunny R, et al. White Matter NAA/Cho and Cho/Cr Ratios at MR Spectroscopy Are Predictive of Motor Outcome in Preterm Infants. *Radiology.* avr 2014;271(1):230-8.
16. Van Kooij BJM, Benders MJNL, Anbeek P, Van Haastert IC, De Vries LS, Groenendaal F. Cerebellar volume and proton magnetic resonance spectroscopy at term, and neurodevelopment at 2 years of age in preterm infants: Cerebellum and Neurodevelopment in Preterm Infants. *Dev Med Child Neurol.* mars 2012;54(3):260-6.
17. Kidokoro H, Neil JJ, Inder TE. New MR Imaging Assessment Tool to Define Brain Abnormalities in Very Preterm Infants at Term. *Am J Neuroradiol.* nov 2013;34(11):2208-14.
18. Pijnappel WWF, van den Boogaart A, de Beer R, van Ormondt D. SVD-based quantification of magnetic resonance signals. *J Magn Reson* 1969. mars 1992;97(1):122-34.
19. Vanhamme L, van den Boogaart A, Van Huffel S. Improved Method for Accurate and Efficient Quantification of MRS Data with Use of Prior Knowledge. *J Magn Reson.* nov 1997;129(1):35-43.
20. Surveillance of Cerebral Palsy in Europe. Surveillance of Cerebral Palsy in Europe: a Collaboration of Cerebral Palsy Surveys and Registers. *Dev Med Child Neurol.* 2000;42(12):816–824.
21. Squires J, Twombly, E, Bricker DD, Potter L. Ages and stages questionnaires user's guide. <http://products.brookespublishing.com/Ages-Stages-Questionnaires-Third-Edition-ASQ-3-P569.aspx>. Accessed December 28, 2016. Brookes Publishing Company; 2009.
22. Kato T, Nishina M, Matsushita K, Hori E, Mito T, Takashima S. Neuronal maturation and N-acetyl-l-aspartic acid development in human fetal and child brains. *Brain Dev.* mars 1997;19(2):131-3.
23. Bapat R, Narayana PA, Zhou Y, Parikh NA. Magnetic Resonance Spectroscopy at Term-Equivalent Age in Extremely Preterm Infants: Association With Cognitive and Language Development. *Pediatr Neurol.* juill 2014;51(1):53-9.
24. Chau V, Synnes A, Grunau RE, Poskitt KJ, Brant R, Miller SP. Abnormal brain maturation in preterm neonates associated with adverse developmental outcomes. *Neurology.* 10 déc 2013;81(24):2082-9.
25. Gadin E, Lobo M, Paul DA, Sem K, Steiner KV, Mackley A, et al. Volumetric MRI and MRS and Early Motor Development of Infants Born Preterm: *Pediatr Phys Ther.* 2012;24(1):38-44.

26. Hyodo R, Sato Y, Ito M, Sugiyama Y, Ogawa C, Kawai H, et al. Magnetic resonance spectroscopy in preterm infants: association with neurodevelopmental outcomes. *Arch Dis Child - Fetal Neonatal Ed.* mai 2018;103(3):F238-44.
27. Alkan A, Kutlu R, Yakinci C, Sigirci A, Aslan M, Sarac K. Delayed myelination in a rhizomelic chondrodysplasia punctata case: MR spectroscopy findings. *Magn Reson Imaging.* janv 2003;21(1):77-80.
28. Kreis R, Hofmann L, Kuhlmann B, Boesch C, Bossi E, Hüppi PS. Brain metabolite composition during early human brain development as measured by quantitative in vivo ¹H magnetic resonance spectroscopy: Brain Composition in Early Human Development. *Magn Reson Med.* déc 2002;48(6):949-58.
29. Brossard-Racine M, Murnick J, Bouyssi-Kobar M, Coulombe J, Chang T, Limperopoulos C. Altered Cerebellar Biochemical Profiles in Infants Born Prematurely. *Sci Rep.* déc 2017;7(1):8143.
30. Koob M, Viola A, Le Fur Y, Viout P, Ratiney H, Confort-Gouny S, et al. Creatine, Glutamine plus Glutamate, and Macromolecules Are Decreased in the Central White Matter of Premature Neonates around Term. Lundberg P, éditeur. *PLOS ONE.* 22 août 2016;11(8):e0160990.
31. Wisnowski JL, Schmithorst VJ, Rosser T, Paquette L, Nelson MD, Haynes RL, et al. Magnetic resonance spectroscopy markers of axons and astrogliosis in relation to specific features of white matter injury in preterm infants. *Neuroradiology.* sept 2014;56(9):771-9.
32. Gasparovic C, Caprihan A, Yeo RA, Phillips J, Lowe JR, Campbell R, et al. The long-term effect of erythropoiesis stimulating agents given to preterm infants: a proton magnetic resonance spectroscopy study on neurometabolites in early childhood. *Pediatr Radiol.* mars 2018;48(3):374-82.
33. Taylor MJ, Vandewouw MM, Young JM, Card D, Sled JG, Shroff MM, et al. Magnetic resonance spectroscopy in very preterm-born children at 4 years of age: developmental course from birth and outcomes. *Neuroradiology.* oct 2018;60(10):1063-73.

Malgré les progrès dans la survie des enfants nés très prématurément, leur développement neurocognitif reste préoccupant. Mais la prématurité elle-même a une influence mineure sur le devenir neurodéveloppemental, alors que des facteurs per-nataux ont un rôle prédominant dans la prédiction de leur devenir. Ces facteurs incluent des facteurs intrinsèques comme la restriction de croissance intra-utérine, ou extrinsèques comme la corticothérapie anténatale. Ainsi, l'identification précoce (terme corrigé) des nourrissons à haut risque de trouble du neurodéveloppement permettra une prise en charge adaptée et précoce.

Néanmoins, des marqueurs pronostiques précis manquent à l'heure actuelle pour apprécier ce risque. La spectroscopie par résonance magnétique (SRM) permet objectivement de mesurer la biochimie cérébrale in vivo. La SRM est une technique d'imagerie permettant une étude du métabolisme cérébral et des variations de concentration des métabolites qui est déjà utilisée pour caractériser différentes pathologies comme l'encéphalopathie anoxo ischémique. Par conséquent, nous pensons que les métabolites tissulaires peuvent servir en tant que biomarqueurs diagnostiques et pronostiques précoces importants. Mais peu d'études ont exploré la SRM à terme dans la prédiction du devenir du nouveau-né grand prématuré.

Le projet EPIPAGE2-EPIRMEX nous a permis d'étudier par SRM les métabolites cérébraux de 69 nouveau-nés grands prématurés, ainsi que leur neurodéveloppement à 2 ans.

Despite progress in the survival of preterm children, their neurocognitive development remains a concern. Prematurity itself has a minor influence on neurodevelopmental fate, while per-natal factors have a predominant role in predicting their outcome. These factors include intrinsic factors such as intra-uterine growth restriction, or extrinsic factors such as antenatal cortico-therapy. Thus, the early identification (corrected term) of infants at high risk of neurodevelopmental disorder will allow appropriate and early support.

However, precise prognostic markers are currently lacking to assess this risk. Magnetic resonance spectroscopy (MRS) objectively measures brain biochemistry in vivo. MRS is an imaging technique studying cerebral metabolism and variations in the concentration of metabolites, which is already used to characterize various pathologies such as anoxo-ischemia encephalopathy. Therefore, we believe that tissue metabolites can serve as important early diagnostic and prognostic biomarkers. But few studies have explored SRM over time to predict the fate of the very premature.

The EPIPAGE2-EPIRMEX project allowed us to study by brain SRM the brain metabolites of 69 preterm infants, as well as their neurodevelopment at 2 years old.