

Université Libre de Bruxelles
Faculty of Medicine

Xin Kang

PERINATAL VIRTUAL AUTOPSY

Dissertation submitted in fulfilment of the requirements of the
PhD degree in Medical Sciences

Thesis jury:

Georges CASIMIR
Jacques JANI
Mieke CANNIE
Elsbeth WHITBY
Frédéric CHANTRAINE
Myriam REMMELINK
Serge ROZENBERG
Paolo SIMONI

Université Libre de Bruxelles, Chair
Université Libre de Bruxelles, Secretary
Vrije Universiteit Brussel
Royal Hallamshire Hospital, Sheffield
Université de Liège
Université Libre de Bruxelles
Université Libre de Bruxelles
Université Libre de Bruxelles

Dépôt légal : D/2019/Kang Xin, éditeur

ISBN 978-2-9602496-0-6

Imprimé en Belgique

Tous droits de reproduction, d'adaptation ou de traduction, par quelque procédé que ce soit, réservés pour tous pays, sauf autorisation de l'éditeur ou de ses ayants droit.

*To my dearest parents,
Yan Cao and Shun Kang.*

ACKNOWLEDGEMENTS

Une thèse ne peut pas être le produit des efforts d'une personne unique mais bien le fruit de rencontres, de collaborations, et du soutien de nombreuses personnes auxquelles j'adresse ces remerciements.

Avant tout, je voudrais remercier le Prof. Jacques Jani, mon promoteur, et la Prof. Mieke Cannie, ma co-promotrice, qui sont devenus de véritables amis au fil des années. Je vous remercie pour votre enseignement, votre exigence, ces discussions scientifiques passionnées et motivantes, votre disponibilité et surtout pour votre soutien tant pour mes projets scientifiques et professionnels que pour certains moments plus difficiles dans ma vie privée.

I would like to acknowledge the members of the jury, Prof. Elspeth Whitby, Prof. Frédéric Chantraine, Prof. Georges Casimir, Prof. Myriam Rummelink, Prof. Serge Rozenberg and Prof. Paolo Simoni for their critical and constructive review of this manuscript.

Among the many collaborators of this thesis, I would like to thank my dear friends from Great Ormond Street Children Hospital in London: Dr. Owen Arthurs, Dr. Ciaran Hutchison, Dr. Suzan Shermeldine and Prof. Neil Sebire. It has been a pleasure working with you throughout all these projects, and I sincerely hope that many others will follow.

Mes pensées vont ensuite au Docteur Teresa Cos, une véritable mère pour tous les médecins qui passent par le service de médecine fœtale. Tu m'as transmis ta passion pour l'échographie prénatale et pour l'échographie 3D. Je te remercie pour ton expérience, tes conseils et ton aide précieuse dans toutes mes études.

J'adresse un remerciement particulier à tous les parents, qui, malgré leur douleur, ont compris l'importance de ces recherches. Pour eux, je désire exprimer ma reconnaissance à toutes les sages-femmes de la médecine fœtale, de la salle d'accouchement et de l'unité de grossesses à hauts risques. Votre humanité, douceur, discrétion et professionnalisme ont permis à tous ces parents de vivre

l'impensable de manière plus sereine. Je remercie tout particulièrement les sages-femmes de l'unité de grossesses à hauts risques qui m'ont aidée à gérer la logistique souvent difficile des examens post-mortem qui doivent être réalisés dans un délai de temps très court.

Je remercie les technologues de radiologie Maxime Demanet, Maxime Degroof, Patrick Shyaka, Davide Telese et Serge Benjou pour leur disponibilité et leur expertise technique à tenter d'améliorer continuellement la qualité des images obtenues.

Ma gratitude va également aux fœtopathologistes Drs. Valérie Segers et Sophie Lecomte, ainsi qu'aux généticiennes Drs. Kathelijn Keymolen et Kim Van Berkel pour nos réunions multidisciplinaires enrichissantes et votre aide précieuse dans cette thèse.

Je ne pourrais pas oublier ma « *Brugmann Family* » constituée de tous mes collègues du service de gynécologie obstétrique du CHU Brugmann. Vous êtes une véritable famille pour moi. Nous nous chamaillons parfois, mais je retiens surtout l'entre-aide au fur et à mesure des projets de recherche de chacun, la cohésion d'équipe dans les moments difficiles d'organisation, le stress commun lorsque l'un d'entre nous fait une présentation orale à un congrès, et nos fêtes pour les petits et grands succès de la vie privée ou professionnelle. Travailler au CHU Brugmann est un bonheur continu grâce à vous, et je vous en remercie du fond du cœur! Je remercie particulièrement Drs. Andrew Carlin, Elisa Bevilacqua, Caroline Kadji et Serena Resta pour votre aide dans la réalisation des projets de cette thèse et dans la rédaction de ce manuscrit.

Je tiens également à exprimer toute ma reconnaissance au Prof. Naeije et PhD Laurence Dewachter pour votre initiation à la réflexion et à l'écriture scientifique lors de mon mémoire de fin d'études en médecine. Vous m'avez donné la passion pour la recherche et l'envie de poursuivre par une véritable thèse.

This accomplishment would not have been possible without the support and encouragement of friends and family.

I would like to thank Dr. Lin Shi who has motivated me to pursue my medical studies and who has been a real mentor through every step of my career.

Je n'oublierais pas ma chère amie Florence Verbanck qui a été la garantie de ma santé mentale pendant toutes ces années.

I am especially grateful to my parents who gave me all the love, support and comfort that I need. I'll never forget the sacrifices that you have made to give me the opportunities to realise this achievement. Therefore, I dedicate this work to you !

My final words will go to Lei, my dearest husband, and my two lovely children Xiangwei and Wenxin. Thank you for your patience, your understanding, your encouragement and your unconditional love !

ABSTRACT

Despite progress in prenatal diagnosis, fetal invasive autopsy remains crucial for diagnosis and counselling for recurrence risk in a subsequent pregnancy. However, a decline in parental consent rate has been repeatedly reported in recent years, mainly due to concerns about body disfigurement. Consequently, non-invasive postmortem imaging technologies have been studied as a possible alternative or adjunct to invasive autopsy.

However, the accuracy of the most studied 1.5-T magnetic resonance imaging (MRI) was poor for small fetuses and cardiac examination. Furthermore, only one large study had been published at the beginning of the present thesis, and other data were from small series or case reports.

Therefore, the objectives of this thesis were to investigate the performance of postmortem MRI (PMMRI) using 1.5-T and 3-T magnets, to evaluate the contribution of postmortem ultrasound (PMUS) and to explore specific alternatives for small fetuses, such as microfocus computed tomography (micro-CT).

We began by investigating the comparative accuracy of 1.5-T and 3-T PMMRI with autopsy in a prospectively acquired sample of 135 fetuses. 3-T PMMRI presented better image quality with increased tissue contrast and provided higher accuracy and diagnostic rate, particularly for fetuses ≤ 20 weeks of gestational age (GA) and for cardiac examination. We demonstrated that training influenced the performance of PMMRI and a diagnostic accuracy similar to that obtained by an expert radiologist could be achieved after a period of self-directed learning.

To increase access to postmortem imaging, we prospectively evaluated the diagnostic accuracy of 2D ultrasound using high-frequency probes in 2 studies including 163 and 160 fetuses. 2D PMUS provided acceptable accuracy of 78% when performed by operators blinded to prenatal diagnosis. In direct comparison with 3-T PMMRI, PMUS was more often non-diagnostic, although it presented comparable accuracy when both techniques were diagnostic. To assess the factors increasing the

non-diagnostic rate of PMUS, we retrospectively analysed the data of all fetuses terminated ≥ 20 weeks GA. We identified several factors that were associated with an increased risk of a non-diagnostic PMUS. Longer delays between fetocide and delivery adversely affected the diagnostic rates for the brain, and both intracardiac injection and advancing gestational age were related to non-diagnostic cardiac PMUS.

However, the examination of fetuses ≤ 20 weeks of GA remained unsatisfactory using 3-T PMMRI or PMUS. Therefore, we explored the feasibility of micro-CT for whole-body postmortem imaging in early gestational fetuses. This technology, initially used in industry, was recently applied in human pathology. We demonstrated a 97% agreement with invasive autopsy in a group of 20 fetuses between 11 and 21 weeks of GA. Micro-CT also produced images comparable to low-power histology in a 7-week human embryo. Unfortunately, access to micro-CT machines for human studies, is currently limited to a few specialist centres. We therefore explored the effect of gadolinium staining before 3-T PMMRI in 5 fetuses ≤ 16 weeks, however, this method did not improve the image contrast.

Finally, in order to initiate the research on the clinical implementation of minimally invasive autopsy, including postmortem imaging and biopsies, we evaluated the parental acceptance rate of such an approach and demonstrated a 20% increase compared to autopsy.

In conclusion, our research has defined the diagnostic accuracy of different clinically accessible postmortem imaging technologies, suggesting the best clinical indications for each method. Further research is needed to assess the optimal diagnostic approach using all possible postmortem investigations in order to achieve the maximal diagnostic yield and as a consequence, improved parental counselling.

RESUME

Malgré les progrès récents des techniques de diagnostic anténatal, l'autopsie fœtale invasive reste primordiale pour obtenir le diagnostic final et établir le risque de récurrence pour les grossesses suivantes. Le nombre d'autopsies fœtales ne cesse de diminuer ces dernières années en raison du refus des parents pour lesquels la défiguration corporelle que le geste entraîne est insupportable. C'est pourquoi, un intérêt croissant pour les technologies non-invasives par imagerie post-mortem a été rapporté dans la littérature, considérées comme des alternatives ou des compléments à l'autopsie invasive.

L'imagerie par résonance magnétique (IRM) à 1,5-T post-mortem est la technique la plus étudiée chez le fœtus. Cependant, la performance diagnostique est moindre pour les foetus ≤ 20 semaines d'aménorrhée et pour l'examen du coeur foetal. Quant à la littérature, seule une étude avec un large échantillon avait été publiée au début de ce travail, pour le reste il s'agit de description de cas clinique ou de petites séries.

Dans ce contexte, la présente thèse a pour objectif d'investiguer les performances diagnostiques de l'IRM post-mortem à 1,5-T et à 3-T, d'évaluer la contribution de l'échographie à haute fréquence en post-mortem, et d'explorer des alternatives spécifiques pour les foetus < 20 SA telles que la tomodensitométrie micro focale (micro-CT).

Nous avons d'abord comparé la performance diagnostique de l'IRM post-mortem à 1,5-T et à 3-T avec l'autopsie classique sur 135 foetus recrutés prospectivement. Nous avons ainsi démontré que l'IRM 3-T offrait une meilleure qualité d'images en augmentant le contraste tissulaire, permettant plus fréquemment un examen diagnostique, particulièrement pour les foetus < 20 SA et dans les anomalies cardiaques fœtales. Par ailleurs, nous avons également montré que l'entraînement influençait la performance de l'IRM post-mortem: une performance diagnostique similaire à celle d'un expert pouvait être obtenue après une période de 18 mois d'auto-apprentissage.

Afin de faciliter l'accès à l'imagerie post-mortem, nous avons évalué la performance diagnostique de l'échographie bidimensionnelle en utilisant des sondes à hautes fréquences dans 2 études prospectives incluant respectivement 163 et 160 fœtus. L'échographie post-mortem a présenté une précision diagnostique acceptable de 78% quand elle était réalisée par des opérateurs en aveugle. Mais quand elle est comparée à l'IRM post-mortem 3-T, nous avons pu déterminer que l'échographie était plus souvent non-diagnostique. Cependant, quand les deux techniques obtenaient un diagnostic, l'échographie offrait une sensibilité et une spécificité comparables à l'IRM. Ensuite, afin d'évaluer les facteurs influençant le taux d'examen non contributifs par l'échographie post-mortem, nous avons analysé rétrospectivement les données de fœtus issus d'interruptions médicales de grossesses après 20 semaines d'aménorrhée, chez qui un foeticide préalable était réalisé. Nous avons démontré d'une part qu'un long délai entre le foeticide et l'accouchement augmentait le taux d'examen non concluant pour le cerveau ; d'autre part un foeticide par injection intracardiaque et un âge gestationnel avancé conduisaient à des examens cardiaques non-diagnostiques.

Quant à l'examen des fœtus ≤ 20 semaines d'aménorrhée, les résultats apportés par l'IRM post-mortem à 3-T ou l'échographie post-mortem restaient insuffisants. Dès lors, nous avons exploré la faisabilité du micro-CT pour l'imagerie du corps entier chez les fœtus à un âge gestationnel précoce. Cette technologie, qui était initialement utilisée en industrie, a trouvé récemment des applications en anatomopathologie humaine. Nous avons obtenu par micro-CT une concordance diagnostique de 97% avec l'autopsie invasive pour un groupe de 20 fœtus âgés de 11 à 21 semaines d'aménorrhée. Le micro-CT était également capable de produire des images de qualité comparable à des coupes histologiques à faible grossissement pour un embryon humain de 7 semaines d'aménorrhée. Cependant, l'accès aux machines de micro-CT reste limité actuellement à certains centres spécialisés. C'est pourquoi, nous avons investigué l'effet d'une immersion dans une solution de gadolinium avant une IRM post-mortem 3-T sur 5 fœtus ≤ 16 semaines d'aménorrhée. Cette méthode n'a pas pu démontrer une amélioration du contraste des images.

Enfin, pour initier la recherche sur une future application clinique des autopsies mini-invasives, incluant une imagerie post-mortem et des biopsies, nous avons demandé l'avis des parents faisant face à une perte foetale. Nous avons montré une augmentation de 20% du consentement pour l'autopsie mini-invasive comparée à celui de l'autopsie classique.

En conclusion, nos recherches ont décrit la performance diagnostique de différentes technologies d'imagerie post-mortem accessibles en clinique, en suggérant les meilleures indications cliniques pour chaque méthode. Des recherches ultérieures sont nécessaires pour investiguer la meilleure approche diagnostique possible en utilisant toutes les technologies post-mortem accessibles afin d'obtenir un rendement diagnostique maximal, pour un meilleur conseil de récurrence aux parents endeuillés.

TABLE OF CONTENTS

ACKNOWLEDGEMENTS	I
ABSTRACT	V
RESUME	VII
CHAPTER 1. GENERAL INTRODUCTION	1
1.1. PRENATAL DIAGNOSIS	1
1.1.1. <i>Prenatal Ultrasound (US)</i>	1
1.1.2. <i>Prenatal fetal magnetic resonance imaging (MRI)</i>	2
1.1.3. <i>Prenatal genetic tests</i>	3
1.2. POSTMORTEM EXAMINATIONS	4
1.2.1. <i>Conventional autopsy</i>	4
1.2.2. <i>Non-invasive or Minimally invasive autopsy (MIA)</i>	5
1.3. SCOPE AND OUTLINE OF THE THESIS	8
CHAPTER 2. DIAGNOSTIC ACCURACY OF CLINICAL POSTMORTEM MAGNETIC RESONANCE IMAGING	11
2.1. POSTMORTEM WHOLE-BODY MAGNETIC RESONANCE IMAGING OF HUMAN FETUSES: A COMPARISON OF 3-T VS. 1.5-T MR IMAGING WITH CLASSICAL AUTOPSY	11
2.2. LEARNING EFFECT ON PERINATAL POSTMORTEM MAGNETIC RESONANCE IMAGING REPORTING: SINGLE REPORTER DIAGNOSTIC ACCURACY OF 200 CASES	25
CHAPTER 3. ROLE OF 2-DIMENSIONAL ULTRASOUND IN WHOLE-BODY POSTMORTEM IMAGING OF HUMAN FETUSES	37
3.1. POSTMORTEM EXAMINATION OF HUMAN FETUSES: A COMPARISON OF TWO-DIMENSIONAL ULTRASOUND WITH INVASIVE AUTOPSY	37
3.2. POSTMORTEM FETAL IMAGING: A PROSPECTIVE BLINDED COMPARISON STUDY OF 2-DIMENSIONAL ULTRASOUND WITH MR IMAGING	51
3.3. IMPACT OF THE DELAY BETWEEN FETAL DEATH AND DELIVERY ON THE SUCCESS OF POSTMORTEM ULTRASOUND FOLLOWING TERMINATION OF PREGNANCY	65
CHAPTER 4. NOVEL POSSIBILITIES FOR POSTMORTEM IMAGING OF FETUSES ≤ 20 WEEKS OF GA	73
4.1. POSTMORTEM MICROFOCUS COMPUTED TOMOGRAPHY FOR EARLY GESTATION FETUSES: A VALIDATION STUDY AGAINST CONVENTIONAL AUTOPSY	73

4.2. NOVEL USAGE OF MICROFOCUS COMPUTED TOMOGRAPHY (MICRO-CT) FOR VISUALISATION OF HUMAN EMBRYONIC DEVELOPMENT-IMPLICATIONS FOR FUTURE NON-INVASIVE POSTMORTEM INVESTIGATION.....	87
4.3. EFFECT OF STAINING USING GADOLINIUM AND FORMALDEHYDE ON FETAL WHOLE-BODY POSTMORTEM 3-T MAGNETIC RESONANCE IMAGING.	95
CHAPTER 5. PARENTAL ACCEPTANCE OF MINIMALLY INVASIVE FETAL AND NEONATAL AUTOPSY COMPARED WITH CONVENTIONAL AUTOPSY	103
CHAPTER 6. GENERAL DISCUSSION AND PERSPECTIVES.....	111
6.1. PERFORMANCE OF FETAL POSTMORTEM IMAGING	111
6.1.1. PMMRI	111
6.1.2. PMUS	120
6.1.3. Micro-CT.....	123
6.1.4. Postmortem CT (PMCT) and X-ray	125
6.1.5. MIA and less invasive autopsy	126
6.2. FUTURE INDICATIONS OF POSTMORTEM EXAMINATIONS	127
6.2.1. Progress in prenatal diagnosis and its consequences for fetal postmortem examinations	127
6.2.2. Is postmortem examination necessary in all cases?	128
6.2.3. Proposed guidelines for postmortem examinations	129
6.3. GENERAL CONCLUSION	132
LIST OF ABBREVIATIONS.....	133
LIST OF TABLES.....	135
LIST OF FIGURES.....	135
REFERENCES (INTRODUCTION AND DISCUSSION)	137
LIST OF PUBLICATIONS	159