



**ORAUX**

**Recueil des Résumés**

# PLÉNIÈRE - BLOOD-BRAIN BARRIER (BBB) OPENING WITH AN IMPLANTABLE ULTRASOUND DEVICE : A SAFE AND EFFICIENT TECHNOLOGICAL INNOVATION FOR BRAIN DISEASE

Prof. Alexandre Carpentier

*PU-PH, AP-HP, CARTHERA - Sorbonne Universités*

The blood-brain barrier (BBB) limits penetration of systemically administered therapies to brain pathologies. Low intensity pulsed ultrasound (LIPU), with concomitant intravenous microbubble injection, can temporarily disrupt the BBB for 6-24 hours and allow for enhanced delivery of drugs to the brain. In our pre-clinical work, it was shown that intracerebral carboplatin concentrations can be enhanced by 5x using this technique (Goldwirt L, Cancer Chemother Pharmacol 2016). Not only BBB opening increases the chemo brain uptake, but it allows for immune system to recognize the tumor, it permits albumin entry that stimulates microglial cells, and it allows for endogenous antibodies to enter the brain. It has showed that ultrasound and microbubbles can promote dendritic cells maturity and potentially mediate adaptive immunity against glioma, independent of drug delivery. Additionally, natural killer lymphocytes are increased in the tumor and in the surrounding area.

In our initial clinical studies, an 11.5-mm diameter ultrasound (US) device, SonoCloud-1, was implanted in a burr hole and used to disrupt the BBB in 19 patients. This First-in-Man study determined the Maximum Tolerated Dose of acoustic parameters and sonication regimen in the context of micro-bubble injection with concomitant carboplatin (Carpentier A et al, SciTransl Med 2016). Sixty-five monthly sonications were performed in patients with recurrent glioblastoma (rGBM) prior to carboplatin chemotherapy infusion (AUC4-6). This study demonstrated BBB disruption using MRI contrast enhancement of sonicated areas. This phase 1 study showed significant trends for PFS and OS increase (Idbaih A et al, Clin Cancer Res 2019) in the cohort of patients with clear BBB opening. Our next trial will use a nine emitter implantable device, SonoCloud-9, designed to cover all the tumor and surrounding infiltrative regions to gain efficacy. Enrollment in this trial will begin in 2019, with a planned enrollment of 18-30 patients at four clinical sites in the US and France. [ClinicalTrials.gov](https://clinicaltrials.gov/ct2/show/study/NCT03744026): NCT03744026.

# PLENIERE - INNOVATION TECHNOLOGIQUE EN SANTE ET RECHERCHE TRANSLATIONNELLE

**A. Moreau-Gaudry, PU-PH**

*Coordinateur du CIC-Innovation Technologique de Grenoble, du CIC de Grenoble (CIC1406) et - du réseau national des CIC-IT. Directeur adjoint du TIMC-IMAG-CNRS UMR5525*

Contribuer à la maturation d'une Innovation Technologique en Santé peut s'avérer difficile et complexe, en particulier dans le cadre de référentiels en constante évolution. De nouvelles approches sont ainsi à concevoir, mettre en œuvre et évaluer afin de faciliter ce processus de maturation.

L'exposé proposé s'attachera, via le prisme de la Recherche Translationnelle, à présenter de nouvelles approches méthodologiques actuellement en cours de formalisation et maturation. Ces approches, rendues possibles, entre autre, par la mise à disposition de nouvelles technologies matures aux services d'acteurs de Santé, doivent pleinement s'intégrer dans l'ensemble des outils dédiés à l'évaluation objective du service médical associé à l'Innovation, pour, à terme, être à même d'encore mieux promouvoir ce domaine des Innovations Technologiques en Santé dans le respect de cadres évolutifs non choisis.

Mots clés : Cycle de maturation, ClinMed, Approche CML, Recherche Translationnelle, PREDIMED, Observatoire des DM, Matéριο-épidémiologie.



# Vectorisation Physique des Médicaments

# Drug releasing nanoplatforms activated by alternating magnetic fields

Olivier Sandre \* <sup>1</sup>

<sup>1</sup> Laboratoire de Chimie des Polymères Organiques (LCPO) – Université de Bordeaux, Ecole Nationale Supérieure de Chimie, de Biologie et de Physique (ENSCBP), Institut polytechnique de Bordeaux, Centre National de la Recherche Scientifique : UMR5629 – 16, Avenue Pey Berland 33607 PESSAC CEDEX, France

Dr. O. Sandre is tenured researcher since 2001 and senior researcher since 2014 (DR2 CNRS), at the Laboratoire de Chimie des Polymères Organiques (LCPO), Université de Bordeaux/CNRS, France. He has more than 2 decades experience in the combination of magnetic nanoparticles and organic self-assemblies to prepare multifunctional colloids, in particular for biological applications (MRI contrast agents, magnetically induced drug delivery...). His research at LCPO covers the synthesis and study of magnetic nanoparticles (MNPs) and their association with polymers either as individual MNPs with polymer shell or to obtain multi-MNP self-assemblies such as magnetic poly ionic complex (PIC) micelles. In particular, copolymer micelles and vesicles named magnetic polymersomes were introduced in 2005 with Pr. S. Lecommandoux by inserting MNPs into the hydrophobic core of copolymer micelles or the membrane of vesicles. He received the 2012 Young Researcher award of the Physical Chemistry division of the French Chemical Society (SCF) and French Physics Society (SFP) for his research on self-assembled polymer composites. He serves in the editorial boards of MDPI Nanomaterials and IOP Nanotechnology.

# DRUG DELIVERY TO THE HUMAN AIRWAYS

Laurent Vecellio (1,2)

1. CEPR, INSERM U1100, Université de Tours, Faculté de Médecine, Tours, France

2. Namera, La Verpillière, France

Aerosols and sprays are the preferred means by which drugs can be administered into the airways.

Aerosol is defined as a system of low-velocity fine particles in a gas which can penetrate in the lungs. Aerosols are mainly used for topical effect to treat asthma, Chronic Obstructive Pulmonary Disease (COPD) and Cystic fibrosis patients. Lung delivery can also be used for vaccination and systemic effect as an alternative to injection that causes little discomfort to patients.

Sprays produce larger particles than aerosols and are used for nose and throat.

The intranasal route of administration is commonly used for treating various diseases; from allergic rhinitis to breakthrough cancer pain. On one hand, nasal delivery is an attractive option for locally acting medications which treat allergic rhinitis and nasal congestion. The nose is also the entry point for systemic delivery for pain treatment or nasal vaccination. Central nervous system disorders like Alzheimer's disease and autism could be treated using the nose to brain pathway.

Therapeutic efficiency depends on the drug used and the physical and chemical particle properties, as well as the patient's breathing pattern, airways anatomy and physiology. The aerosol's physical properties are mainly determined by the aerosol generator, and different techniques can be used. Dry powder inhalers (DPIs) are portable and deliver small or large doses of drug in a form of powder. They require a high inspiratory flow rate by the patients (>30L/min).

Pressurized Metered dose inhalers (MDIs) are portable and deliver small doses of solution or suspensions. Their efficacy is limited by an important deposition of aerosol in the mouth and the need for the patient to synchronize manual actuation with inspiratory phase.

Soft mist inhaler (SMI) is portable and deliver small dose of solution. In comparison with pMDI, it reduces mouth deposition and the risk of synchronisation error.

Nebulisers are medical devices delivering high dose. Mesh nebulizers are becoming smaller and more portable. Nebulizers are used for lung targeting and nasal targeting. Nasal sprays deliver smaller dose of liquid and powder. They can be multi dose or mono dose drug delivery device.

In this presentation, we will discuss the advantages and limitations of drug delivery to the airways.

We will present new concepts in development and how the addition of electronic and connectivity on inhalers and nasal sprays may improve the device efficiency, the adherence of patients and consequently, treatment efficacy in the future.



A



C



B



D



E



F

Figure 1: Drug delivery devices for lung treatment (A : Dry Powder Inhaler, B : Pressurized Metered Dose Inhaler, C : Soft Mist Inhaler, D : Mesh nebulizer) and nasal treatment (E : Nasal spray pump, F: Nasal nebulizer)

# Pre-clinical investigation combining partial irreversible electroporation and interleukin-12 gene-electro-therapy against melanoma

Lise Pasquet<sup>1</sup>, Elisabeth Bellard<sup>1</sup>, Sophie Chabot<sup>1,2</sup>, Marie-Pierre Rols<sup>1</sup>, Justin Teissie<sup>1</sup>, Muriel Golzio<sup>\*† 1</sup>

<sup>1</sup> Institut de Pharmacologie et Biologie Structurale, IPBS, Université de Toulouse, CNRS, UPS, Toulouse – Université de Toulouse Paul Sabatier – France

<sup>2</sup> Urosphere, Parc technologique du canal, Canal Biotech II, Toulouse, France – Urosphere – France

**Purpose:** Melanoma is the deadliest of skin cancers as frequently diagnosed at a metastatic stage. Until recently, only few treatment options with significant increases in overall survival were available for patients with advanced or metastatic melanoma. Immunotherapies held tremendous promises for improving melanoma treatment. One strategy is to boost the activation of cytotoxic cells and increase the visibility of tumor antigens by immune cells, as melanoma is a low immunogenic tumor type. The aim of our study was to develop a new therapeutic approach, increasing the accessibility of melanoma antigens to effector T cells and improving their level of activation to enhance their efficacy.

**Experimental Design:** We evaluated the efficacy of a two-step protocol based on the use of electric field pulses on the B16F10 syngenic mouse model of melanoma. First, a high voltage electric field pulse was applied on the tumor inducing a partial Irreversible Electroporation (pIRE) of the tumor cells, leading to the release of hidden tumor antigens. We showed that pIRE induced apoptosis and necrosis of tumor cells. The second step consisted of the Gene-Electro-Transfer (GET), in the healthy skin directly surrounding the tumor, of a plasmid encoding a well-known activator of immune cells: IL-12. IL12-GET was shown to be safe as the plasmid was detected only at the site of injection (skin) during a limited period of time (50 days) [1].

**Results:** pIRE treatment alone induced a transient decrease in the tumor volume, resulting in a 20 days increase of mouse survival compared to untreated mice. A single pIRE treatment combined with pIL-12-GET led to a significant and stable regression of melanoma growth in a curative protocol (50% survival over 100 days). This was associated with secretion of Interferon-gamma. This treatment reduced the growth of untreated distant tumor mass suggesting a systemic activation of the immune system. Moreover, when challenged on the opposite side, 50% of the complete responders were resistant to the development of a new tumor [2]. We observed that the GET induced a migration of dermal and epidermal dendritic cells from treated skin to the draining lymph nodes

---

\*Intervenant

†Auteur correspondant: [muriel.golzio@ipbs.fr](mailto:muriel.golzio@ipbs.fr)

**Conclusion:** Our work demonstrated that the combination pIRE/pIL-12-GET induced an efficient activation of the anti-tumor immune response leading not only to tumor eradication but also establishment of an immune memory and long term protection. This approach would provide a new low cost therapeutic strategy for a safe and efficient melanoma treatment.

**References :**

Safe and efficient novel approach for non-invasive gene electrotransfer to skin. Lise Pasquet, Sophie Chabot, Elisabeth Bellard, Bostjan Markelc, Marie-Pierre Rols, Jean-Paul Reynes, Gérard Tiraby, Franck Couillaud, Justin Teissie, Muriel Golzio (Sci Rep. 2018 Nov 15;8(1):16833).

Immunotherapy against melanoma by pIRE-IL12 electro-gene-therapy: a pre-clinical investigation L. Pasquet, E. Bellard, S. Chabot, MP. Rols, J. Teissie, M. Golzio (in preparation).

*Thanks to Jean-Paul Reynes and Gérard Tiraby from Invivogen for their scientific discussions; grants of the Region Midi-Pyrénées (no 11052700 et no 13050740) and of the EU FP7 Oncomirs (Grant 201102); "Toulouse Réseau Imagerie" and "Anexplo" core IPBS facilities (Genotoul, Toulouse, France). Research was conducted in the scope of the EBAM European Associated Laboratory (LEA) and resulted from the networking efforts of the COST Action TD1104 (<http://www.electroporation.net>).*

**Mots-Clés:** IRE, Electroporation, interleukine, 12, melanoma, EGT



# Enhanced antibiotics diffusion with ultrasound and microbubbles in the condensed lung

Francis Remerand \*† 1,2

<sup>1</sup> UMR1253, iBrain, Université de Tours, Inserm, Tours, France – Université de Tours – France

<sup>2</sup> CHRU de Tours, Tours, France – CHRU de Tours – France

Pneumonias remain challenging to treat due to the poor antibiotics diffusion in condensed lung tissue. The interactions between ultrasound waves and intravenous gas microbubbles (USMB protocol) induce sonoporation. Sonoporation increases diffusion of numerous drugs in various tissues. Two recent experimental studies demonstrated that an USMB protocol may also increase amikacin diffusion in lung and muscle tissues. This approach may open new therapeutic fields against infection, notably in intensive care medicine.

**Mots-Clés:** Sonoporation, Drug delivery, Lung, Antibiotics

---

\*Intervenant

†Auteur correspondant: francis.remerand@univ-tours.fr

# Spectroscopie Vibrationnelle

## 1

# Apport de la spectroscopie Raman en Histopathologie

Alain Fautrel <sup>\*† 1</sup>

<sup>1</sup> Plateforme H2P2 – Université de Rennes 1, UMS Biosit – UMR Numecan – Université de Rennes 1 – France

Les liaisons chimiques possèdent des fréquences de vibration qui leur sont propres. La **spectroscopie Raman** permet d'observer les raies d'absorptions spécifiques des liaisons chimiques présentes dans un échantillon en utilisant la lumière visible pour accéder au spectre vibrationnel des molécules qui interagissent avec un faisceau lumineux. Cette technique a bénéficié de progrès importants, en optique avec une nouvelle génération de lasers, en électronique avec des détecteurs de très haute sensibilité (CMOS, EMCCD), dans le pilotage avec des microscopes confocaux équipés de platine de très haute précision. Ces évolutions technologiques permettent une meilleure utilisation de cette technique en Biologie avec la notion d'imagerie par cartographie. La plateforme d'histopathologie de Rennes (H2P2) c'est équipé récemment d'un **imageur microspectromètre Raman confocal DXR2xi** de (Thermo Fisher) pour compléter notre capacité d'analyse des tissus biologiques. Nous possédons une grande expérience dans le traitement des tissus biologiques et leurs analyses. A partir de coupes fines, nous caractérisons les **modifications structurales** (fibrose, stéatose, nécrose...) à l'aide de colorations spécifiques. Nous pouvons mettre en évidence des types cellulaires des **protéines d'intérêt ou des transcrits** sur nos automates par des techniques immunohistochimie et d'immunofluorescence, ainsi nous visualisons jusqu'à 6 marqueurs sur la même lame. Notre expérience en microdissection par capture laser est également démontrée sur de nombreux modèles animaux et végétaux et nous pouvons par cette technique étudier le **transcriptome de populations cellulaires** sélectionnées sur coupes de tissus.

La microspectroscopie Raman nous permet d'avoir une approche différente pour la caractérisation d'échantillons. Cette technique nous permet de mettre en évidence des variations " phénotypiques " sans a priori et ainsi d'identifier des **signatures spectrales spécifiques** de Bactéries, de tissus tumoraux (seins, cerveaux, ...), ou de populations cellulaires dans les tissus sains. Nous avons également pu mettre en évidence la localisation de métabolites dans des tissus végétaux.

## Conclusion :

La microspectroscopie Raman permet de différencier des populations cellulaires sans a priori. Cette technologie a un avenir évident en clinique pour l'aide au diagnostic et la mise en place de traitements, en médecine personnalisée. Elle peut également servir de support au chirurgien dans l'identification des zones malades lors de l'exercice.

---

\*Intervenant

†Auteur correspondant: Alain.fautrel@inserm.fr

# DIAGNOSTIC DES MALADIES DU FOIE PAR SPECTROSCOPIE INFRAROUGE

François Le Naour

*Inserm U1193, Université Paris-Sud, Villejuif 94800 France*

## Introduction

Le foie est sujet à diverses pathologies chroniques conduisant progressivement à la cirrhose qui peut évoluer vers le carcinome hépatocellulaire. Il existe un besoin urgent de marqueurs diagnostiques des maladies chroniques du foie.

## Méthodes

Les approches basées sur la spectroscopie peuvent fournir une vision globale de la composition chimique d'un tissu, offrant la possibilité d'étudier les modifications chimiques associées aux états pathologiques. Nous avons appréhendé par spectroscopie infrarouge (IR) sur coupes de tissus le diagnostic de la cirrhose et du cancer ainsi que l'évaluation de la stéatose.

## Résultats

L'hépatocarcinogénèse est un processus à plusieurs étapes caractérisé par la progression de nodules régénératifs vers des lésions précancéreuses suivies d'un carcinome hépatocellulaire (CHC). Des altérations profondes de la composition biochimique du foie pathologique ont été mises en évidence par microspectroscopie IR. Des changements spectaculaires ont été observés concernant les lipides, les protéines et les sucres, mettant en évidence la reprogrammation métabolique au cours de la carcinogénèse. Des marqueurs spectraux quantifiables ont été caractérisés par le calcul de ratios à partir de bandes spécifiques dans les spectres IR. Ces marqueurs ont permis la discrimination des nodules cirrhotiques, des lésions précancéreuses et du CHC [1].

La stéatose est l'un des facteurs les plus importants pour la fonction des allogreffes hépatiques. La méthode de référence pour évaluer la stéatose hépatique lors de transplantation est l'examen histologique sur coupes congelées par un pathologiste. Cette méthode est imparfaite et peu reproductible. Nous avons démontré que la progression de la stéatose correspond non seulement à l'accumulation de lipides, mais également à des changements spectaculaires dans la composition qualitative du tissu. Nous avons observé que des changements biochimiques drastiques se produisent dans la partie non stéatosique du tissu malgré son aspect histologique normal, ce qui suggère que tout le tissu reflète le degré de stéatose [2]. Nous avons ensuite développé une méthode de quantification de la teneur en lipides sur coupe de tissu qui peut être utilisée pour une évaluation fiable de la qualité du greffon [3].

## Discussion

La spectroscopie IR peut être utilisée à l'hôpital pour des applications diagnostiques.

## Références

[1] Peng C, Kaščáková S, Chiappini F, Olaya N, Sandt C, Yousef I, Samuel D, Dumas P, Guettier C, Le Naour F. Discrimination of cirrhotic nodules, dysplastic lesions and hepatocellular carcinoma by their vibrational signature. *J Transl Med*, 14:9, 2016.

[2] Peng C, Chiappini F, Kaščáková S, Danulot M, Sandt C, Samuel D, Dumas P, Guettier C, Le Naour F. Vibrational signatures to discriminate liver steatosis grades. *Analyst*, 140:1107-18, 2015

[3] Le Naour F, Gadea L, Danulot M, Yousef I, Vibert E, Wavelet M, Kaščáková S, Castaing D, Samuel D, Dumas P, Guettier C. Quantitative assessment of liver steatosis on tissue section using infrared spectroscopy. *Gastroenterology*, 148:295-297, 2015.

# DIFFERENTIATION ENTRE MALADIES NEURODEGENERATIVES BASEE SUR LE SPECTRE INFRAROUGE DU SERUM

Youssef El-Khoury \*† <sup>1</sup>

<sup>1</sup> Laboratoire de bioélectrochimie et spectroscopie, UMR 7140 Université de Strasbourg/CNRS, 4 rue Blaise Pascal, 67000 Strasbourg, France. – université de Strasbourg – France

## Introduction

La spectroscopie infrarouge est une méthode analytique basée sur les vibrations des liaisons dans les molécules. Elle est très sensible à l'environnement des molécules ainsi qu'aux changements structuraux. Malgré sa sensibilité, cette technique reste aujourd'hui peu connue dans le domaine médical. Quelques études ont montré l'intérêt de la spectroscopie infrarouge dans la discrimination entre des échantillons malades et des échantillons sains comme par exemple quelques cancers<sup>1,2</sup> ainsi que la malaria<sup>3</sup>. Ici on propose la spectroscopie infrarouge comme outil de différenciation entre patients atteints d'une ou d'une autre maladie neurodégénérative et des contrôles. Ces deux maladies partagent des symptômes semblables surtout au début de la maladie, il serait donc essentiel de faire le bon diagnostic pour pouvoir offrir le bon traitement. Pour montrer la puissance de la spectroscopie infrarouge dans la discrimination entre les deux maladies étudiées et les contrôles, nous avons étudié les spectres infrarouges de sérums de 32 patients de chaque maladie ainsi que 80 sérums des contrôles. Les spectres infrarouge sont ensuite classés par le biais de la chimie informatique.

## Méthodes

Les spectres infrarouge de 2.5  $\mu$ L de sérum sont enregistrés sur un ATR de diamant avec une résolution de 4  $\text{cm}^{-1}$ . 144 échantillons (80 contrôles et 64 malades) de sérums différents sont étudiés. Les dérivées secondes de ces spectres sont classées par une méthode statistique appelée forêts aléatoires en validation croisée.

## Résultats

Les Spectres infrarouge des différents sérums montrent une grande similitude. Néanmoins, il est possible de déceler des différences minimales entre les trois groupes de sérums.

La méthode statistique permet de classer les différents spectres selon leur origine (i.e. malade ou contrôle) avec un minimum de biais. Le classement montre qu'il est possible de différencier l'une des maladies neurodégénératives de l'autre ainsi que des contrôles. Les résultats montrent que la spécificité vis-à-vis des deux maladies neurodégénératives étudiées ici dépasse les 97%.

---

\*Intervenant

†Auteur correspondant: elkhoury@unistra.fr

## Discussion

La classification de spectres infrarouge de sérums par la méthode des forêts aléatoires en validation croisée permet de différencier les différents groupes de patients avec une spécificité très élevée. En d'autres termes, un sérum de patient classé comme atteint d'une des deux maladies neurodégénératives, a une probabilité qui dépasse 97% d'être atteint de cette maladie. D'autre part, un patient qui n'est pas atteint de l'une ou l'autre de la maladie ne sera pas diagnostiqué à tort comme atteint de l'une de ces deux maladies. La méthode qu'on présente ici est un outil puissant de discrimination entre sérums de patients et malades et pourra s'ajouter à l'arsenal d'outils de diagnostics pour minimiser les erreurs et peut être elle permettra de remplacer les ponctions de liquides céphalorachidiens par une simple prise de sang.

## Références

1. Lewis, P. D. et al. *Bmc Cancer*, 10:640-650, 2010.
2. Kar, S. et al. *Spectrochim Acta A Mol Biomol Spectrosc*, 208: 85-96, 2019.
3. Roy, S. et al. *Anal Chem*, 89:5238-5245, 2017.

# Imagerie Biomédicale

## 1

# DATA QUALITY IN MULTIFREQUENCY BRAIN MR-ELASTOGRAPHY

Fatiha Andoh (1), Marion Tardieu (1,2), Claire Pellet-Barakat (3), and Xavier Maître (1)

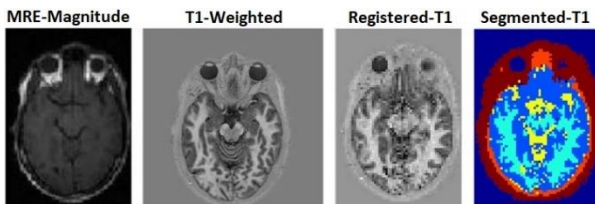
1. Imagerie par Résonance Magnétique Médicale et Multi-Modalités, IR4M, CNRS, Univ. Paris-Sud, Université Paris-Saclay, Orsay ; 2. Institut du Cancer de Montpellier, ICM ; 3. Imagerie Moléculaire In Vivo, IMIV, Inserm, CEA, CNRS, Univ. Paris-Sud, Université Paris-Saclay, Orsay

## Introduction

Mechanical properties of the brain are promising key biomarkers of neural health. Magnetic Resonance Elastography (MRE) can potentially assess these properties *in vivo*. Optimizing MRE data acquisition and reconstruction is critical for absolute mechanical quantitation as reported by Yue *et al.* [1]: sampling of 6 to 9 voxels per wavelength in isotropic and homogeneous media was shown to be optimal. This study proposes to evaluate these validity conditions for brain MRE by analyzing data acquired over a broad range of frequencies in the brain, which is expected to be mechanically complex, with heterogeneous and anisotropic structures.

## Methods

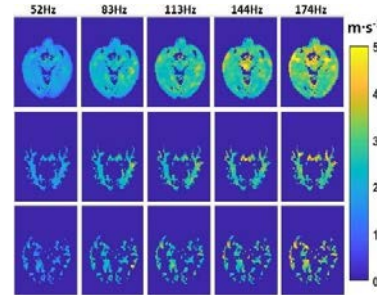
Shear waves were generated at frequencies  $f = \{52, 83, 113, 144, 174\}$  Hz in a volunteer's brain by pressure waves guided into the buccal cavity [2]. Associated displacement fields were acquired in a 1.5 T Achieva system equipped with a 8-channel head coil (Philips, Netherlands) at four time offsets by MRE refocused field echo with standard bipolar motion-encoding gradients, which duration was equal to the mechanical excitation period, and which amplitude was  $2.1 \text{ mT} \cdot \text{m}^{-1}$ . Seven axial slices were selected deep in the brain along the ventricles with isotropic voxels of size  $a = 2.94 \text{ mm}$ . Data quality,  $Q$ , was calculated upon the rotational displacement field and  $Q$ -averaged shear velocity,  $V_S$ , maps were extracted from the three motion-encoded directions by inversion of the Helmholtz equation [1]. An additional  $T_1$ -weighted whole brain image served as anatomical reference (**Fig. 1**). It was segmented and registered to MRE magnitude images with SPM12 (UCL, United-Kingdom). Thereof, masks of grey matter (blue), white matter (light blue), and brain (blue and light blue) were inferred after removal of CSF (yellow), bone, background tissue (red and light red) and air in **Fig. 1**. Voxel-wise  $V_S$  was then plotted as a function of voxel  $Q$  for each excitation frequency,  $f$ , in the brain. Regional mean  $\langle V_S \rangle$  and related dispersion were plotted as a function of  $f$  (**Fig. 2**).



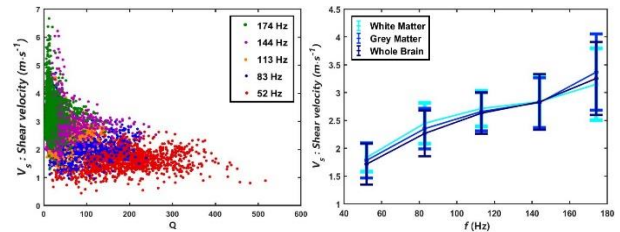
**Figure 1:** Brain axial slice of (left to right) MRE-magnitude image, T1-weighted image, registered-T1 and segmented-T1 (see text).

## Results

As expected for a mechanically-dispersive tissue,  $V_S$  increases with  $f$  in the brain parenchyma ( $\langle V_S \rangle_{52 \text{ Hz}} = (1.71 \pm 0.49) \text{ m} \cdot \text{s}^{-1}$  to  $\langle V_S \rangle_{174 \text{ Hz}} = (3.25 \pm 0.34) \text{ m} \cdot \text{s}^{-1}$ ), in the white matter and in the grey matter (**Fig. 2**).



**Figure 2:** Shear wave velocity maps in brain parenchyma, white and grey matter for  $f = \{52, 83, 113, 144, 174\}$  Hz.



**Figure 3:** Left: Voxel  $Q$ -averaged shear velocity,  $V_S(Q)$ , in the brain parenchyma, with respect to voxel data quality,  $Q$ ; Right:  $V_S(f)$  in the brain parenchyma, white and grey matters.

$Q$  decreases and  $V_S$  dispersion is enhanced in the brain parenchyma when  $f$  increases, namely when the induced shear wave amplitude is reduced (**Fig. 3 Left**). It is similar for white and grey matter.

## Discussion

Due to  $Q$  degradation, higher excitation frequency data exhibit lower measurement precision. However, beyond  $Q$ ,  $V_S$  dispersion in the brain parenchyma can be minimized for the optimal intermediate frequency  $f = 113 \text{ Hz}$  (**Fig. 3 Right**) leading to an estimated  $\langle V_S \rangle$  of  $2.63 \text{ m} \cdot \text{s}^{-1}$ , corresponding to a wavelength,  $\lambda$ , of  $23.3 \text{ mm}$  and thus a ratio  $\lambda/a$  of  $7.9$  which, despite the medium complexity, falls within the range recommended by Yue *et al.* [1].

Beyond the natural protective barriers of the skull and the meninges, which are hardly trespassed by mechanical waves, brain MRE is challenging as the tissue is expected to be highly anisotropic and heterogeneously viscoelastic. Nevertheless, multifrequency brain MRE performed here at the millimetre scale seems to indicate that the brain behaves with respect to frequency,  $f$ , voxel size,  $a$ , and data quality,  $Q$ , like an isotropic and homogeneous elastic medium as shown in Yue *et al.* [1] on simulated and experimental isotropic data. Optimal data conditioning can be found to minimize both systematic error and dispersion of the mechanical measurement.

## References

- [1] Yue *et al.* Phys. Med. Biol. **62** (22), 8655 (2017)
- [2] Tardieu, PhD thesis, Univ Paris-Sud (2014)

## Acknowledgements

France Life Imaging (FLI, ANR-11-INBS-0006)



# L'APPORT DE L'ETUDE DES FLUX EN IRM DE VELOCIMETRIE 4D POUR LA CARACTERISATION DE LA DILATATION AORTIQUE

Sophia Houriez--Gombaud-Saintonge<sup>1,2</sup>, Ariel Pascaner<sup>4</sup>, Gilles Soulat<sup>4</sup>, Umit Gencer<sup>4</sup>, Thomas Dietenbeck<sup>1</sup>, Damian Craiem<sup>5</sup>, Emilie Bollache<sup>1</sup>, Yasmina Chenoune<sup>2</sup>, Elie Mousseaux<sup>4</sup>, Nadja Kachenoura<sup>1</sup>

1. Sorbonne Université, INSERM, CNRS, Laboratoire d'Imagerie Biomédicale (LIB), Paris 2. ESME Sudria Research Lab, Paris 4. Hopital Européen Georges Pompidou, Paris 5. Universidad Favaloro, Buenos Aires

## Introduction

La dilatation aortique constitue un risque majeur de rupture pouvant être fatale pour le patient. Elle est caractérisée en clinique grâce à des mesures de diamètre réalisées en IRM ou le plus souvent en scanner. Cependant, des études ont montré que 20 à 30 % des patients dont l'aorte se disséquait avaient un diamètre aortique inférieur au seuil chirurgical [1]. Ainsi, la mesure du diamètre seule semble insuffisante pour une prise en charge optimale des patients. Par ailleurs, le développement de biomarqueurs hémodynamiques est possible grâce à l'évolution de l'IRM de flux 3D+t (4D) qui permet d'imager non seulement l'anatomie, mais aussi les vitesses de l'écoulement sanguin dans les trois directions de l'espace au cours du cycle cardiaque. Cette étude a pour objectif de quantifier l'apport de ces indices de débit aortique en présence de dilatation pathologique lorsqu'ils sont combinés au diamètre.

## Méthodes

57 sujets sains âgés (50±17 ans) ainsi que 20 patients avec une dilatation de la racine aortique et une valve tricuspide (TAVd) (66±12 ans) ont eu un examen d'IRM de flux 4D. Les aortes ont été segmentées par interpolation linéaire, après le positionnement manuel de neuf plans permettant de diviser l'aorte en 3 portions : 1) l'aorte ascendante (AA), 2) l'arche et 3) l'aorte descendante (AD). Les courbes de débit net, positif et négatif ont été extraites tous les 5 mm le long de la ligne centrale de l'aorte puis moyennées pour chaque portion. Les pics de ces débits ( $M_{net}$ ,  $M_{neg}$ ,  $M_{pos}$ ) et les volumes de remplissage ( $VR_{net}$ ,  $VR_{neg}$ ,  $VR_{pos}$ ), définis comme les aires sous les courbes,  $P_{\%}$  ( $100 * M_{neg} / M_{pos}$ ) et  $B_{\%}$  ( $100 * VR_{neg} / VR_{pos}$ ), le pourcentage de débit rétrograde à antérograde ont été calculés. Par ailleurs, le diamètre moyen  $D$  dans chaque section aortique a été estimé grâce à une segmentation semi-automatique de l'aorte sur des données anatomiques hautement résolues. Une analyse ROC des indices de débit et du diamètre a été réalisée fournissant les seuils optimaux

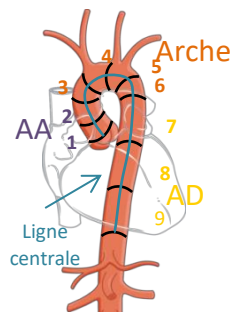


Fig. 1 Positionnement des plans dans l'aorte

$S_i$  permettant de séparer la population saine des TAVd. A partir de ces seuils, nous avons construit l'indice  $\Sigma_p$  qui est la somme pondérée des indices normalisés par  $S_i$  lorsqu'ils sont supérieurs à 1.

## Résultats

La figure 2 présente la capacité des différents indices à séparer les sujets normaux des TAVd.

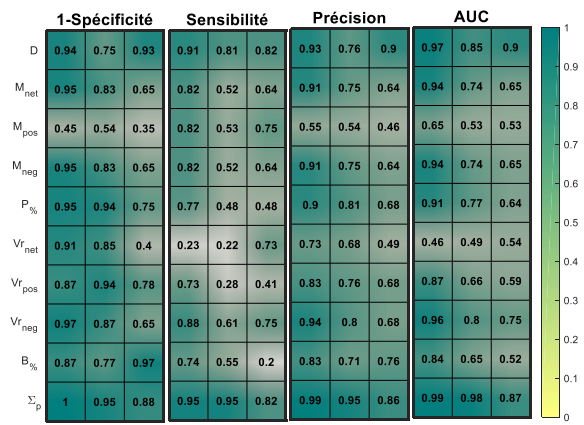


Fig. 2 Paramètres des ROC. AUC : aire sous la courbe

## Discussion

L'indice  $\Sigma_p$  combinant le diamètre et le flux permet d'obtenir de meilleurs résultats que le diamètre seul. Cet apport du flux accentué au niveau de la partie proximale de l'aorte peut s'expliquer par une désorganisation de l'écoulement liée à la dilatation au niveau de l'AA, ce qui se propagerait vers l'arche et qui s'atténuerait dans l'AD. Ceci montre un intérêt potentiel de combiner géométrie et écoulement pour une meilleure compréhension des mécanismes de la dilatation aortique.

## Référence

1. L. A. Pape *et al.*, "Aortic diameter  $\geq 5.5$  cm is not a good predictor of type A aortic dissection: observations from the International Registry of Acute Aortic Dissection (IRAD)," *Circulation*, vol. 116, no. 10, pp. 1120–1127, Sep. 2007.

## Remerciements

Nous remercions l'ESME Sudria et ECOS-SUD pour leur financement

# EVALUATION DES PERFORMANCES D'ANTENNES DEDIEES A L'ACQUISITION D'IMAGES IRM EN POSITION DE TRAITEMENT

Pauline Hinault (1,3), Isabelle Gardin (1,2), Pierrick Gouel (2), Henri Souchay (3), Pierre Vera (1,2), David Gensanne (2)

1. LITIS (EA 4108) Université de Rouen Normandie, Rouen; 2. Centre Henri Becquerel, Rouen; 3. GE Healthcare, Buc

## Introduction

La planification de traitement de radiothérapie à partir de données IRM nécessite l'acquisition d'images en position de traitement. Les antennes réceptrices standard utilisées n'étant pas toutes adaptées aux contentions choisies lors du TDM de mise en place, les constructeurs ont développé des antennes dédiées pour les acquisitions en position de traitement [1]. Ces antennes flexibles et mobiles nécessitent une mise en place spécifique afin d'obtenir des images destinées à la délimitation des tumeurs. L'objet de ce travail est d'évaluer les performances de ces antennes en termes de qualité image.

## Méthodes

Cette étude est réalisée sur un imageur à 1.5T Optima MR450w GE®. Les images d'un fantôme homogène constitué d'une solution paramagnétique sont acquises au moyen d'une séquence écho de gradient 3D avec deux types d'antennes : une antenne crâne utilisée en diagnostic et les antennes dédiées radiothérapie disponibles sur notre installation. Ces dernières étant mobiles, nous avons étudié l'impact de leur positionnement sur la qualité image, et plus notamment sur le rapport signal sur bruit [2]. De plus, une étude des distorsions géométriques a été réalisée à l'aide du fantôme MAGPHAN® SMR170 et du logiciel d'analyse Artiscan®. Ces dernières ont été évaluées avant et après l'application du filtre de correction 3D fourni par le constructeur.

## Résultats

D'une manière générale, les antennes de radiothérapie présentent un rapport signal sur bruit (RSB) jusqu'à 2 fois plus faible que l'antenne diagnostique (Figure 1) ce qui se traduit par une qualité d'image légèrement inférieure. Ce phénomène est d'autant plus marqué que la distance (d) entre le fantôme et la position des antennes croît. Par exemple, pour des distances de 1.2 cm et 2.4 cm, la diminution du RSB atteint 10 % et 14 %, respectivement. Une dégradation du RSB de l'ordre de 5 % est aussi observée dans la direction cranio-caudale au niveau de la zone de jonction entre les antennes crânes et susclaviculaire. La distorsion globale obtenue avec les antennes de radiothérapie avant correction est de 0.27%. Lorsque le filtre de correction est appliqué, la distorsion globale est de 0.09%.

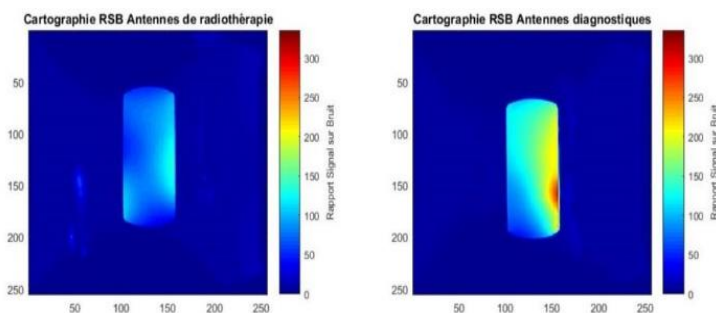


Figure 1: Cartographies du Rapport Signal sur Bruit obtenues lors d'acquisitions avec les antennes de radiothérapie et les antennes diagnostiques.

## Discussion

Dans le cadre d'acquisitions en position de traitement de radiothérapie, cette étude a permis de montrer l'importance du positionnement des antennes dédiées afin d'obtenir une qualité image optimale pour la délimitation des tumeurs. A défaut, la perte de signal et les distorsions géométriques observées dans certaines zones d'intérêts peuvent rendre plus difficile la détection et la délimitation de petites lésions à faible contraste ce qui pourrait nuire à la qualité du traitement de radiothérapie.

## Références

1. Liney et al, Br J Radiol, 86:20130150, 2013.
2. Firbank et al, Phys Med Biol, 44(12) :N261-41, 1999.

# PROCEDURE AUTOMATISEE POUR NORMALISER DES IRM CEREBRALES CLINIQUES : APPLICATION EN NEUROONCOLOGIE

Jessica Goya Outi (1), Hélène Urien (2), Alexis Pister (1), Cathy Philippe (2), Antoine Grigis (2), Raphael Calmon (3), Nathalie Boddart (3), Jacques Grill (4), Vincent Frouin (2), Frédérique Frouin (1)

1. Laboratoire IMIV, Inserm/CEA/CNRS/Univ Paris Sud, SHFJ, Orsay, France; 2. Neurospin, CEA-Saclay, France; 3. Service de Radiologie, Hôpital Necker, Paris, France ; 4. Gustave-Roussy, Villejuif, France.

## Introduction

En neuro-oncologie, l'IRM multi-modale représente un outil de choix pour effectuer le suivi longitudinal des patients et optimiser leur prise en charge. Etant donné la grande variabilité des intensités de signal mesurées en IRM dans un contexte clinique, il est utile de normaliser ces images pour proposer des indices quantitatifs autres que ceux liés à la taille tumorale en vue de mieux caractériser l'évolution de la maladie chez un sujet et de faciliter des analyses inter sujet. Nous avons récemment proposé une chaîne de traitement entièrement automatique (pipeline) adaptée aux études de neuro-oncologie pour normaliser les examens d'IRM à partir de l'intensité mesurée dans la matière blanche (1). L'objectif de ce travail a été d'appliquer le pipeline à une base de donnée conséquente et de proposer un contrôle de qualité pour n'avoir à vérifier la normalisation que sur un nombre réduit d'examens.

## Méthodes

Suite à une étude clinique portant sur le suivi longitudinal d'enfants atteints de gliomes infiltrants du tronc cérébral, tous les examens IRM acquis ont été anonymisés, triés et réorganisés en suivant le modèle BIDS (2). Le pipeline de normalisation défini en (1) a été appliqué à l'ensemble des données structur  es disponibles (jusqu'à 4 modalités d'images : pondérées T1, pondérées T2, pondérées T1 après injection de contraste, pondérées FLAIR). Un critère de qualité a été défini pour estimer la qualité de la normalisation. En s'appuyant sur les masques de matière blanche et de matière grise définis dans le pipeline, une distribution moyenne de l'intensité dans ces deux structures a été définie sur 30 examens après normalisation et après vérification systématique de la qualité de la normalisation sur ces 30 cas. Les distances de Hellinger entre la distribution moyenne et les histogrammes individuels ont été calculées pour la matière blanche. Lorsque la distance est supérieure à la distance maximale observée pour les 30 examens de référence dans la matière blanche ou quand la moyenne de la distribution dans la matière grise est trop proche de celle de la matière blanche, le critère de qualité est mis à 0, nécessitant un contrôle visuel de l'examen normalisé.

## Résultats/ Discussion

Actuellement 86 patients ont été introduits dans la base de données, chacun ayant eu en moyenne entre 5 et 6 examens. Au total 1602 volumes d'images structur  es ont été normalisés par le pipeline. En suivant le critère de qualité, 88% des volumes images ont été jugés normalisés de façon satisfaisante. Les alertes les plus fréquentes ont concerné : des volumes d'images de moindre qualité avec un contraste insuffisant entre matière blanche et matière grise ; b) des faux positifs liés à l'aspect entièrement automatique du contrôle de qualité. En effet, il s'est avéré que le masque estimant la matière blanche pouvait être biais  . Comme il est estimé à partir de l'atlas MNI après un recalage non rigide, il peut être contaminé par les ventricules cérébraux lorsque ceux-ci sont très dilatés. L'estimation de la distribution d'intensité dans ce masque est alors fauss  e. Une étape de correction de cette contamination est nécessaire et devra faire appel à une segmentation plus spécifique.

## Conclusion

Appliqué à plus de 1600 volumes d'images, le pipeline de normalisation que nous avons proposé (1) s'est avéré robuste dans plus de 90% des cas. De plus, le contrôle de qualité défini permet de réduire le nombre de cas, pour lesquels la qualité de cette normalisation doit être vérifiée visuellement. Cette étape de normalisation est essentielle pour établir de nouveaux indices radiomiques, permettant par exemple de caractériser par IRM multimodale certaines anomalies génomiques (3), ayant un impact diff  rent sur la survie des patients.

## Références

- (1) Goya Outi et al. Computation of reliable textural indices from multimodal brain MRI: suggestions based on a study of patients with diffuse intrinsic pontine glioma *Phys Med Biol* 2018;63:105003.
- (2) Grigis et al. Neuroimaging, genetics, and clinical data sharing in Python using the CubicWeb framework *Front Neuroinform* 2017;11:18.
- (3) Goya Outi et al. Can MRI radiomics predict the type of histone H3 mutations in diffuse intrinsic pontine glioma? *Cancer Imaging* 2018;18(S):29.

# Nanomédecine et Imagerie

## 1

# NANOPARTICULES ORGANIQUES PHOTOACTIVES: DE LA BIO-IMAGERIE VERS LA VECTORISATION DE PRINCIPES ACTIFS

Joanna Boucard<sup>1</sup>, Camille Linot<sup>2</sup>, Thibaut Blondy<sup>2</sup>, Christophe Blanquart<sup>2</sup>, Philippe Hulin<sup>3</sup>, Steven Nedellec<sup>3</sup>, Rym Boudjema<sup>4</sup>, Karine Steenkeste<sup>4</sup>, Marie-Pierre Fontaine<sup>4</sup>, Eléna Ishow<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Université de Nantes, CEISAM-UMR CNRS 6230, 44 322 Nantes. <sup>2</sup>INSERM CRCINA, INSERM U1232, Université de Nantes, Université d'Angers, 44007 Nantes. <sup>3</sup>INSERM UMS 016-UMS CNRS 3556, 44007 Nantes. <sup>4</sup>ISMO UMR CNRS 8214, Université Paris-Saclay, 91405 Orsay 91405.

## Introduction

Les nanomatériaux organiques fonctionnels (FONs), restreints initialement aux domaines de l'affichage et de l'éclairage, sont entrés en force en nanomédecine depuis à peine une dizaine d'années. Ils sont composés de polymères ou de molécules  $\pi$ -conjugués fluorescents et fondés sur des structures auto-assemblées amphiphiles. Ils présentent une brillance élevée grâce au confinement spatial de leur grande densité d'unités émissives et sont dépourvus de métaux lourds cytotoxiques, à l'inverse des quantum dots les plus usuels. Ils se sont donc rapidement imposés en bio-imagerie optique comme marqueurs de cellules cancéreuses après internalisation cellulaire par endocytose le plus souvent. Étonnamment, peu d'études rapportent d'autres modalités comme la vectorisation de principes actifs, la combinaison thérapeutique / diagnostic, le ciblage de récepteurs, ou encore l'imagerie de bactéries en plus de celle de cellules eukaryotes.

## Méthode

De petits fluorophores, dotés d'un fort transfert de charge et d'unités hydrophiles (acide carboxylique / phosphonique, carbohydrates), ont été synthétisés. La formation de FONs procède par nanoprecipitation dans l'eau de solutions concentrées de fluorophores. Des modèles de drogues ou de la doxorubicine ont été encapsulés dans les FONs durant la nanoprecipitation. Des nanoassemblages bimodaux ont été obtenus par couverture en surface de FONs par des nanoparticules (NPs) superparamagnétiques d'oxyde de fer. Ils ont été bioconjugués avec diverses protéines (streptavidine, EGF). Les essais cellulaires ont été réalisés sur des lignées cellulaires du mésothéliome pleural malin (meso 11, 13), du cancer du poumon (ADCA 117), ou du sein (MDA-MB-468). Ils ont été étendus au marquage de bactéries (*S. aureus* and *E. coli*). Les interactions des FONs avec leur environnement et leur devenir à long terme ont été examinés par différentes techniques (microscopie confocale de fluorescence, microscopie électronique, relaxométrie magnétique, IRM).

## Résultats

Des FONs ultra-brillants ont été obtenus et présentent une internalisation cellulaire élevée sur 3 à 24 h en fonction du revêtement en surface.[1] Une érosion

progressive en unités individuelles par interaction avec l'environnement enzymatique ou chimique a été notée grâce à des modifications importantes de l'intensité ou de l'énergie de l'émission. Ce phénomène a été exploité pour la délivrance de principes actifs, retardée d'un jour comparée aux principes en solution.[2] Une couverture en surface des FONs par des NPs d'oxyde de fer et des chaînes de polyélectrolyte a permis d'assurer une stabilité colloïdale élevée, et d'apporter des potentialités de suivi *in vivo* et d'hyperthermie.[3] La bioconjugaison de nanoassemblages magnéto-fluorescents (FONmag) avec le facteur de croissance épidermique (EGF) a abouti à la reconnaissance spécifique en moins de 30 min. du récepteur transmembranaire EGFR de l'EGF, surexprimé dans des cellules cancéreuses agressives du cancer du sein.[4] La multivalence en surface des FONs a été exploitée pour marquer des bactéries de manière sélective et contrastée (Figure 1).[5]

## Discussion

La grande modularité des FONs provient des possibilités synthétiques infinies permises par la chimie organique. La dissociation de FONs et de FONmag par interaction avec la membrane lipidique des compartiments endosomaux / lysosomaux provient du caractère non-covalent de leur structure auto-assemblée.

## Figure

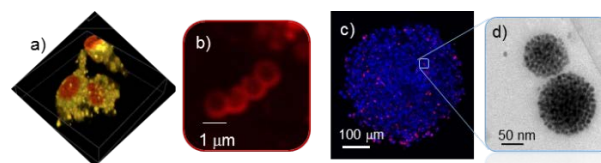


Figure 1: a) Cellules cancéreuses de méso, traitées par des FONs dopées en doxorubicine. b) FONs après 5 min d'incubation avec *S. aureus*. c) Sphéroïdes transparents après internalisation de nanoparticules magnéto-fluorescentes (FONmag). d) Images TEM de FONmag.

## Références

1. C. Linot et al, ACS Appl. Mater. Interfaces, 9:14242-14257, 2017.
2. J. Boucard et al, Small, 14:1802307, 2018.
3. A. Faucon et al, Nanoscale, 9:18094-18106, 2017.
4. J. Boucard et al, ACS Omega, 3: 17392-17402, 2018.
5. A. Faucon, J. Coll. Int. Sci., 479: 139-149, 2016.

20-22 mai 2019

## Ingénierie de nanoparticules magnétiques dendronisées pour une thérapie guidée par imagerie

**G. Cotin, C. Bordeianu, Dinh-Vu NGuyen, F. Pertont, D. Felder-Flesch and S. Begin-Colin\***

Université de Strasbourg, CNRS, Institut de Physique et Chimie des Matériaux de Strasbourg, UMR 7504, F-67034 Strasbourg, France

Bien que de nombreux progrès ont été réalisés dans le traitement du cancer, de nouvelles approches sont nécessaires pour améliorer les techniques de traitement existantes ou pour développer de nouvelles techniques, ceci afin de minimiser les effets secondaires délétères et d'augmenter le taux de survie des patients. Par conséquent, il existe un réel besoin médical de développer de nouveaux nano-objets efficaces pour le traitement du cancer. Aujourd'hui, il est reconnu que la combinaison de thérapies est un moyen d'augmenter considérablement l'efficacité d'un traitement anti-cancer. Par ailleurs, le suivi de la thérapie par imagerie est également d'une importance capitale, car il apporte des informations spatiales précieuses et en temps réel permettant d'optimiser l'efficacité de la thérapie. Aujourd'hui de nombreux espoirs reposent sur l'utilisation de nanoparticules magnétiques d'oxyde de fer pouvant être utilisées pour le diagnostic en tant qu'agent de contraste en IRM et/ou pour la thérapie par hyperthermie magnétique. Toutefois de nombreux challenges sont à surmonter pour la synthèse de ces nanoobjets « theranostiques » dont les propriétés magnétiques sont centrales et doivent être optimisées, notamment par le contrôle de la taille, de leur forme et de leur composition. Un autre challenge est leur fonctionnalisation qui doit assurer leur biocompatibilité et leur furtivité dans le corps humain ; les molécules greffées ne doivent pas se désorber *in-vivo*, la taille moyenne des particules en suspension doit être inférieure à 100 nm et les propriétés magnétiques non altérées par cette étape de fonctionnalisation.

Dans ce contexte, nous avons développé le concept de nanoparticules (NPs) dendronisées. Le greffage de dendrons à la surface de NPs de 10 nm en utilisant un groupe phosphonate comme agent de couplage a conduit à une nouvelle génération d'agents de contraste pour l'IRM *in vivo* présentant une bonne biodistribution et une élimination hépatobiliaire rapide avec une élimination urinaire faible sans captation par le système réticuloendothélial. Ces NPs dendronisées ont également été démontrées être prometteuses pour un ciblage actif après injection intraveineuse. Une start-up « SUPERBRANCHE » est en cours de création.

Des fonctions thérapeutiques ont ensuite été ajoutées en optimisant le cœur magnétique en modifiant sa forme et sa composition pour introduire de la thérapie par hyperthermie magnétique ou hyperthermie induite par un laser. Cette optimisation du cœur magnétique nous a conduits à étudier le mécanisme de synthèse des NPs et en particulier la décomposition thermique de différents précurseurs du fer. Cette étude combinée à de la modélisation nous a permis d'établir des protocoles reproductibles de synthèse de NPs de différentes tailles, formes et composition et de réaliser un « scaling-up » de cette synthèse. L'étude, après leur dendronisation, de leur biodistribution *in vivo* et de leurs propriétés en thérapie, a mis en évidence à nouveau un effet dendron « antifouling » et a permis de sélectionner des agents theranostiques prometteurs.

# INFLUENCE OF THE APTAMER GRAFTING ON ITS CONFORMATION AND ITS INTERACTION WITH TARGETED PROTEIN

Celia Arib, 1 Qiqian Liu, 1,3 Nadia Djaker<sup>1</sup>, Marc Lamy de la Chapelle<sup>‡,2,3\*</sup> Jolanda Spadavecchia<sup>‡1\*</sup>

1. Université Paris 13, Sorbonne Paris Cité, UFR SMBH, Laboratoire CSPBAT, CNRS (UMR 7244), 74 rue Marcel Cachin, F-93017 Bobigny, France.

2. Université du Mans, Laboratoire IMMM UMR6283, Avenue Olivier Messiaen 72085 Le Mans Cedex9

3. Department of Clinical Laboratory Medicine, Southwest Hospital, Third Military Medical University, Chongqing, China

Aptamers (APT), are functional small single-stranded oligonucleotides (DNA or RNA), that show high affinity in order to bind target biomolecules selectively through the formation of secondary structures and shapes. In the present study we develop an aptamer-based direct detection method for target protein as manganese superoxide dismutase (MnSOD). We exploit two different chemical strategies (carbodiimide chemistry and thiol-covalent-bond) to grafting the APT molecules onto pegylated gold nanoparticles (PEG-AuNPs).

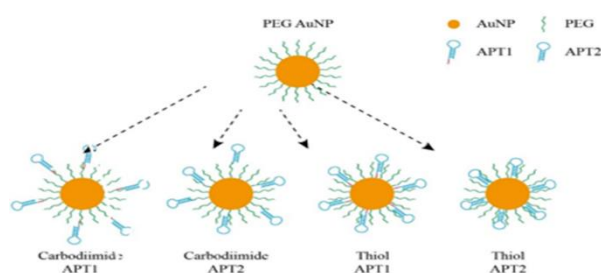


Figure 1: Schematic representation of the aptamer grafting on the AuNPs

The resulting nanoparticles have been characterized by Surface Enhanced Raman Spectroscopy (SERS) and UV-Vis before and after bioconjugation with aptamers called APT1 and APT2 with and without a spacer of 15 thymines (T), respectively in order to maximize the interaction with MnSOD in a range of concentration (from 0 to  $10^{-8}$ M, from  $10^{-7}$  to  $4 \times 10^{-7}$ M, from  $10^{-6}$  to  $10^{-5}$ M). The degree of interaction was performed by localized surface plasmon spectroscopy (LSPR) with a characteristic color-change of colloidal solutions. This methodology could be exploited for the realization of label-free-colorimetric-biosensors platform for direct detection of proteins and several biomolecules of interest.

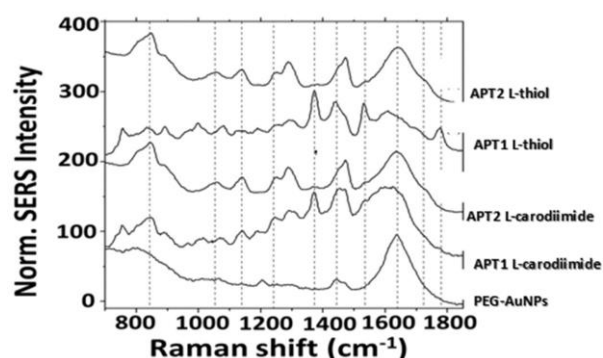


Figure 2: Raman spectra of the APT1 PEG-AuNPs.

## References

1. Arib, Celia, et al. "Influence of the Aptamer Grafting on its Conformation and its Interaction with Targeted Protein." *Plasmonics*, 1-10 (2018).
2. Cottat, M. *et al.* High sensitivity, high selectivity SERS detection of MnSOD using optical nanoantennas functionalized with aptamers. *J. Phys. Chem. C* 119, 15532–15540 (2015)
3. Spadavecchia, J. *et al.* Targeted polyethylene glycol gold nanoparticles for the treatment of pancreatic cancer: from synthesis to proof-of-concept in vitro studies. *Int. J. Nanomedicine* 11, 791 (2016).

## ACKNOWLEDGMENT

The authors acknowledge the ANR P2N PIRANEX project (ANR-12-NANO-0016) and the ANR LOUISE project (ANR-15-CE04-0001) for financial support. This work has been partly performed on the CNanoMat platform of the University Paris 13.

# OPTIMISATION DE NANOVECTEURS MAGNETIQUES POUR LE CIBLAGE ACTIF DU CANCER DU SEIN HER2+

Vinh NGUYEN<sup>1</sup>, Katel Hervé-Aubert<sup>1</sup>, Nicolas Aubrey<sup>2</sup>, Igor Chourpa<sup>1</sup>, Émilie Allard-Vannier<sup>1</sup>

1. EA6295 Nanomédicaments et Nanosondes, Université de Tours, Tours, France

2. ISP UMR 1282, INRA, équipe BioMAP, Université de Tours, Tours, France

## Introduction

Les nanovecteurs magnétiques (NVM) à base de nanoparticules d'oxydes de fer superparamagnétiques (SPIONs) apparaissent comme un système prometteur pour l'administration ciblée de médicaments (1) et comme agents d'imagerie (2). On parle alors de nanoparticules théranostiques. Le ciblage des tumeurs à l'aide de NVM peut-être amélioré par le greffage de ligands biologiques comme des fragments d'anticorps de type scFv (single chain variable fragment) (3). L'avantage des scFv comparé aux anticorps entiers est qu'ils sont de petites tailles, non-immunogènes tout en conservant la capacité de fixation à l'antigène spécifique (4). Pour le diagnostic, les NVM peuvent être utilisées en tant qu'agents de contraste en imagerie par résonance magnétique (IRM) ou détectées en imagerie de fluorescence grâce au couplage d'un fluorochrome proche infrarouge (fluoPIR) à la surface. Cette étude s'intéresse au choix du fluoPIR et à la chimie de greffage du scFv sur les NVM pour un ciblage actif du cancer du sein HER2+. Deux types de fluoPIRs (Dylight 680 et SulfoCyanine 5) et de scFv (une ou deux molécules de cystéine introduites à l'extrémité du scFv) sont utilisés pour synthétiser les NVM. Ensuite, nous avons évalué et comparé l'impact de ces facteurs sur l'interaction avec les cellules du cancer du sein HER2+.

## Matériel et Méthodes

Les NVM sont synthétisés selon un protocole développé au laboratoire (4). Les NVM sont caractérisés par diffusion dynamique de la lumière (DLS) et zétamétrie. La concentration en fer est déterminée par spectrométrie d'absorbance atomique (SAA). La quantité de scFv greffée en surface des NVM est déterminée à l'aide de la technique de Bradford et qualitativement évaluée avec un test d'ELISA directe. La fonctionnalité des scFv greffés est évaluée par une méthode d'ELISA indirecte suite à l'immobilisation de la protéine HER2. L'internalisation des NVM est analysée par microscopie confocale sur une lignée humaine de cancer mammaire HER2+ (lignée SK-BR3) après une incubation de 1h, 4 h et à 24 h.

## Résultats et Discussion

Les SPIONs-fluoPIR-PEG-scFv ont une taille de  $86,4 \pm 13,2$  nm avec un PDI de  $0,21 \pm 0,04$  et un potentiel zéta de  $-2,5 \pm 3,1$  mV. Leur faible taille (inférieure à 200 nm) et leur charge neutre permettent de réduire l'interaction avec les protéines sanguines et de favoriser leur

accumulation par effet EPR (Enhanced Permeability and Retention effect).

Après 1h et 4h d'incubation avec les cellules SK-BR3, aucune fluorescence n'a été observée pour les NVM avec sulfocyanine5. Après 24 h d'incubation, quelques points fluorescents de faible intensité ont été détectés. En revanche, une fluorescence intracellulaire a été observée dans les cellules traitées avec les NVM marqués au dylight680 après chaque temps d'incubation (Fig 1). De plus, après 24 h d'incubation, l'intensité de fluorescence de Dylight680 est plus élevée que celle de la sulfocyanine5. Le signal fluorescent ponctué et qui ne diffuse pas dans tout le cytoplasme montre que les NVM sont bien internalisés dans les cellules et se localisent dans les endosomes.

La quantification du scFv sur les NVM par la technique de Bradford montre qu'on greffe 1,2 fois plus de scFv avec deux cystéines que ceux avec une cystéine ( $16,78 \pm 2,89$  contre  $13,83 \pm 0,86 \mu\text{g}$  de scFv/ $\mu\text{g}$  de Fe). Néanmoins, l'ELISA indirect montre que le scFv avec 2 cystéines est moins fonctionnel.

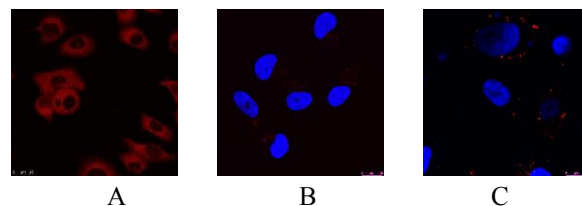


Figure 1 : Localisation des NVM dans les cellules SK-BR3 après 24 h d'incubation observées en microscopie confocale. A) FluoPIR libre. B) NVM avec sulfocyanine5 C) NVM avec Dylight680.

## Conclusion

Cette étude montre le succès du ciblage actif des cellules HER2+ avec les SPIONs-fluoPIR-PEG-scFv. De plus, nous avons montré que le choix du fluoPIR et de la chimie du scFv peut impacter l'efficacité d'internalisation de ces nanovecteurs. En effet, les NVM avec le Dylight680 entrent plus dans les cellules comparé aux nanoparticules avec sulfocyanine 5. En présence de 2 cystéines, on greffe plus de scFv sur les nanoparticules mais celui-ci semble être moins fonctionnel.

## Références

1. Sun *et al*, Adv Drug Deliv Rev, 2008.
2. Xiet *et al*, Curr MedChem, 2009.
3. Alric *et al*, J Nanobiotechnology, 2018
4. Alric *et al*, RSC Advances, 2016



# Spectroscopie Vibrationnelle

## 2

# IMAGERIES HYPERSPECTRALES ET ANALYSES CUTANÉES: APPORTS EN DERMATOLOGIE ET DERMO-COSMETIQUE

Ali TFAYLI (1), Sana TFAILI (1), Rime MICHAEL-JUBELI (1), Arlette BAILLET-GUFFROY (1)

1. Unité interdisciplinaire lipides : systèmes analytiques et biologiques, lip(Sys)<sup>2</sup>, EA7357, UFR Pharmacie, Université Paris-Sud, Université Paris-Saclay. 5 rue J.B. CLEMENT, 92290 Châtenay-Malabry

Les spectroscopies vibrationnelles, infrarouge et Raman, sont des méthodes utilisant les photons pour l'étude intégrative des processus moléculaires. Elles mettent en évidence les vibrations des liaisons et conduisent ainsi à des informations de haute qualité sur la structure et l'environnement moléculaire et permettent de constituer une véritable « empreinte digitale » caractéristique des systèmes étudiés. Elles présentent de nombreux avantages comme le caractère non invasif et non destructif de l'analyse, et ne nécessitent pas de préparation, ni de marquage de l'échantillon.

Les images hyperspectrales ou "images chimiques" résultent du couplage entre les spectromètres conventionnels et des systèmes permettant une localisation spatiale (ou temporelle) le plus souvent à une échelle micrométrique.

Elles donnent la possibilité de visualiser la répartition des différentes molécules au sein d'un échantillon. Chaque molécule ayant une signature spectrale spécifique, une image hyperspectrale rassemble l'ensemble de ses signatures obtenues à chaque point de l'image (pixel). Une couleur artificielle est attribuée à chaque pixel conférant à l'image la possibilité de révéler la répartition de différents composés présents dans l'échantillon.

Les images hyperspectrales permettent ainsi d'analyser des coupes tissulaires ou des cellules et d'observer leur composition, des changements de structure ou l'évolution vers un état pathologique. Un exemple illustrant la richesse de l'information contenue dans ce type d'imagerie est présenté dans la figure 1. A partir d'une seule image hyperspectrale nous pouvons obtenir des images de la distribution de différents composés moléculaires présents dans l'épiderme et également des images fonctionnelles tel que l'imagerie de l'ordre conformationnel des lipides mettant en évidence la fonction barrière au niveau du stratum corneum.

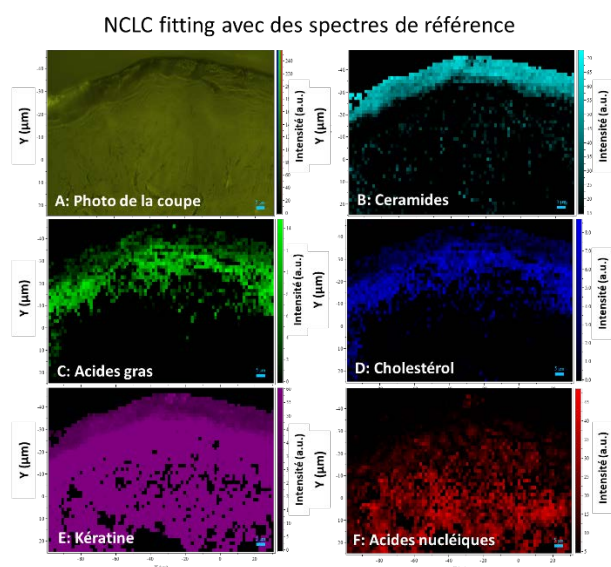


Figure 1: Image visible (lumière blanche) d'une coupe d'épiderme humain (A) ; images pseudocouleur de différents marqueurs moléculaires, structuraux et organisationnels issu de la même image hyperspectrale (B-F)

# ETUDE PAR SPECTROSCOPIE RAMAN DE LA QUALITE OSSEUSE DANS DE L'OSTENECROSE DE LA TETE FEMORALE

Guillaume Falgayrac (1) ; Tristan Pascart (1,2), Henri Migaud (1,3), Jean-François Quinchon (4), Laurene Norberciak (5), Jean-François Budzik (1,6), Julien Paccou (1,7), Anne Cotten (1,8), Guillaume Penel (1), Bernard Cortet (1,7)

1. Univ. Lille, EA 4490, PMOI, 59000 Lille; 2. Rhumatologie, Hopital Saint-Philibert, 59160 Lomme; 3. Chirurgie Orthopédique, CHRU de Lille, 59000 Lille; 4. Anatomopathologie, Hopital Saint-Philibert, 59160 Lomme; 5. Biostatistiques, Hopital Saint-Philibert, 59160 Lomme; 6. Radiologie, Hopital Saint-Philibert, 59160 Lomme; 7. Rhumatologie, CHRU de Lille, 59000 Lille; 8. Radiologie, CHRU de Lille, 59000 Lille.

## Introduction

L'ostéonécrose non-traumatique de la tête fémorale (ONTF) est une pathologie musculosquelettique invalidante qui touche une population jeune et active [1]. L'ONTF induit un effondrement de la tête fémorale et évolue vers la pose d'une prothèse de hanche dans 60% des cas [1]. Sa physiopathogénie est mal connue et différentes hypothèses existent dont une impliquant l'os trabéculaire et sous-chondral est proposées [2]. Cependant, les modifications de la qualité osseuse à l'échelle moléculaire n'ont pas été explorée à ce jour.

La microspectrométrie Raman est la technique de choix pour l'étude de la qualité osseuse à l'échelle moléculaire [3]. Elle permet l'analyse simultanée de la composition minérale et organique. Des paramètres physico-chimiques (PPC) permettent de quantifier la qualité osseuse. De plus, la technique est non destructrice.

L'objectif de cette étude est d'évaluer les modifications de la qualité de l'os sous-chondral et trabéculaire au cours de l'ONTF par microspectrométrie Raman sur des échantillons humains.

## Méthodes

Cette étude a reçu l'approbation de la Direction Générale de la recherche et l'innovation (DC-2008-642). Un groupe control (CTL) est constitué 11 de têtes fémorales issues du laboratoire d'anatomie de l'Université de Lille. Un groupe ONTF est constitué de 11 têtes fémorales de patients traités par prothèse de hanche. Pour chaque tête fémorale, 3 biopsies sont prélevées en périphérie de la tête suivant 3 localisations (Fig.1a) de manière à prélever de l'os sous-chondral et trabéculaire: une à proximité de la zone de nécrose (Nec.), une à distance de la zone de nécrose (Dist.) et une intermédiaire entre les zones de nécrose et distante (Int.). Les biopsies sont analysées sur le microspectromètre Raman LabRAM (HR800, HORIBA JY, France). Le temps d'acquisition par spectre est de 5 min avec un laser à  $\lambda=785$  nm. Trente spectres sont acquis par biopsie. Cinq PPC sont calculés par biopsies: Mineral/Organique, Carbonatation Type B, Cristallinité et la qualité du collagène (Maturité et rapport Hydroxyproline/Proline) [3]. En raison du faible effectif, le test non-paramétrique Mann-Whitney est utilisé pour comparer les PPC des 3 biopsies, à

l'intérieur de chaque groupe et entre les groupes. Seules les valeurs  $p<0.20$  sont reportée.

## Résultats

Pour l'os trabéculaire, les PPC entre les 3 localisations ou entre les groupes CTL vs ONTF, ne sont pas différents. Dans l'os sous-chondral ONTF, le Minéral/Organique est inférieur dans la zone Nec par rapport à Dist (Fig.1b). L'hydroxyproline/Proline est supérieure dans la zone Nec par rapport à Int (Fig.1c). Des différences sont observées entre l'os sous-chondral CTL et ONTF concernant l'organique.

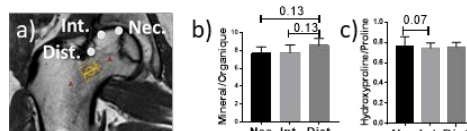


Figure 1: a) Image IRM d'une ONTF avec le repérage des 3 localisations; b) Comparaison du Mineral/Organique et de c) l'Hydroxyproline/Proline dans le groupe ONTF pour les 3 localisations.

## Discussion

La composition moléculaire de l'os trabéculaire n'est pas modifiée entre les 3 localisations, ni dans les stades tardifs de l'ONTF. Nos résultats sont en accords avec des études en  $\mu$ Tomographie [2] et nanoindentation [4]. L'os trabéculaire n'est pas impliqué dans la physiopathogénie de l'ONTF. Par contre, la diminution du rapport minéral/organique est associée à une diminution de la dureté [5]. Cette diminution peut induire un défaut biomécanique dans l'os sous-chondral. Cette tendance reste à confirmer avec l'inclusion de plus de patients. Nos futurs travaux se focaliseront sur l'analyse de la qualité osseuse de l'os sous-chondral par microspectroscopie Raman.

## Références

1. Fukushima, W., et al. Clin. Orth. and Rel. Res., 468(10), 2715-2724, 2010
2. Tingart, et al J Orthop Res, 27(9), 1175-1181, 2009
3. Pascart, T., et al, Sci Rep, 7(1), 97, 2017.
4. Wang, C., PLoS ONE, 9(5), e96361, 2014.
5. Donnelly, E., et al J. Biomed. Mat. Res. Part A, 92(3), 1048-1056., 2010

# VALIDATION DE NOUVELLES SONDÉS POUR SERS BIOANALYTIQUE

Mathias Pacaud (3), Katel Hervé-Aubert (3), Martin Soucé (3), Amir Fahmi (1), Alexey Feofanov (2) and Igor Chourpa (3)

1. Université Rhein-Waal des Sciences Appliquées, Marie-Curie Strasse 1, 47533 Kleve, Allemagne; 2. Institut de Chimie Bioorganique Shemyakin and Ovchinnikov, Ulitsa Miklukho-Maklaya, 16/10, K.7, 117198 Moscou, Russie; 3. UFR des Sciences Pharmaceutiques, 31 avenue Monge, 37200 Tours, France

## Introduction

La spectroscopie de diffusion Raman exaltée de surface (SERS, comme surface-enhanced Raman scattering)<sup>1</sup> est activement développée comme technique bio-analytique ayant une sensibilité, une spécificité et une sélectivité moléculaire élevées. L'excitation dans la région des 630 à 850 nm est favorable aux applications bio-analytiques, car cette plage de longueurs d'onde permet un compromis entre une interaction minimale de la lumière avec les tissus biologiques<sup>2</sup> et une bonne efficacité des sources laser et des détecteurs CCD<sup>3</sup>.

L'effet SERS implique que la longueur d'onde d'excitation coïncide avec la bande de résonance des plasmons de surface localisés (LSPR) de nanoparticules (NP) de métal noble. Les NPs d'or conventionnelles ayant leur bande LSPR autour de 530 nm, leur utilisation pour le SERS avec des sources d'excitation de longueurs d'onde supérieures implique leur agrégation<sup>4</sup>, i.e. perte de la stabilité colloïdale. Pour contourner cette limitation, nous avons développé des colloïdes stables de nanofleurs d'or anisotropes (AuNFs) ayant la position de leur bande de LSPR ajustable à des valeurs désirées dans la plage 630-900 nm.

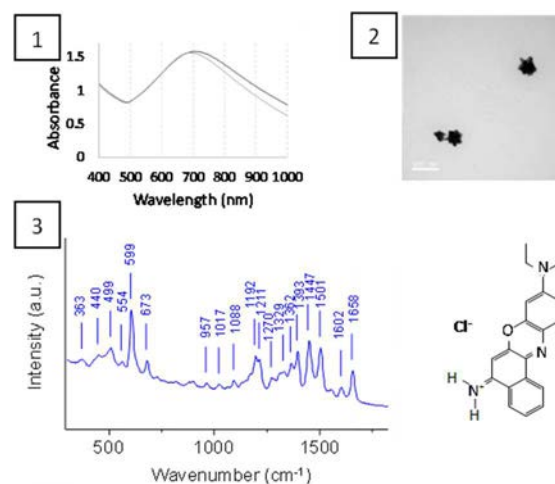
## Méthodologie

Les AuNFs ont été obtenues par réduction d'un précurseur d'or, l'acide tétrachloroaurique (HAuCl<sub>4</sub>), avec deux agents réducteurs bien connus, l'hydroxylamine (NH<sub>2</sub>OH) et le citrate de trisodium (Na<sub>3</sub>Cit), à température ambiante. Les colloïdes d'AuNFs ont été simplement mélangés aux solutions d'analytes pour préparer les échantillons pour le SERS. Aucune agrégation de colloïdes n'a été observée. Les spectres ont été enregistrés sous l'objectif 10x d'un microspectromètre LabRam (Horiba SA, Villeneuve d'Ascq, France) munid'une source laser à 691 nm.

## Résultats et discussion

Pour la résonance avec l'excitation à 691 nm, nous avons utilisé des AuNFs ayant la bande LSPR située autour de 700 nm (Fig. 1.1) et la taille en MET d'environ 60 nm (Fig. 1.2). Les colloïdes stabilisés contre l'agrégation par une couche de PVP procuraient l'effet SERS pour des solutions sub-micromolaires de colorants non-thiolés comme le Bleu de Nile (Fig.1.3). Nous présenterons également nos données sur les AuNFs stabilisées par une couche de polyéthylène glycol (PEG) qui non seulement protège les nanosondes

contre l'agrégation mais également améliore leur compatibilité pour des applications bio-analytiques *in vitro* et *in vivo*.



**Figure 1:**

- 1) Bandes LSPR des AuNFs fraîchement préparées sans PVP (courbe noire) et 12 heures après incubation en présence de PVP (courbe grise).
- 2) Image MET d'AuNFs correspondantes.
- 3) Spectre SERS (moyenne de 16 scans de 1 seconde) et structure chimique du Bleu de Nile (BN).

## Références

1. L.E. Jamieson et al., *Annu Rev Anal Chem (Palo Alto Calif)*, **10**, 415, 2017
2. R. Weissleder. *Nature Biotechnol.*, **19**, 316, 2001
3. A. Smith et al., *Nat Nanotechnol.*, **4**, 710, 2009.
4. E. Boisselier et al., *Chemical Society Reviews*, **38**, 1759-1782, 2009.

## Remerciements

Ce travail a été financé par le projet MINERVA (programme ERA-NET RUS PLUS): RFBR 16-54-76013 (Russie), 01DJ16019 (Allemagne) et MENESR N ° 321 (France). Les auteurs remercient la Dr. Stéphanie David pour son aide à la conception expérimentale, Julien Burlaud-Gaillard (Centre de microscopie électronique IBI SA de l'Université de Tours) pour les images MET et Hiba Chamekh pour son assistance technique. Ils remercient aussi l'aide financière apportée par le conseil départemental 37 permettant de compléter la 3<sup>e</sup> année de thèse de M. Pacaud.

# Imagerie Biomédicale

## 2

# IMAGERIE SIMULTANEE DES ACTIVITES CALCIQUE ET ELECTRIQUE DANS LES VEINES PULMONAIRES EN MACROSCOPIE

Victoire Courtillé<sup>1</sup>, Claire Guilloteau<sup>1</sup>, Christophe Vandier<sup>2</sup>, Véronique Maupoil<sup>1</sup>, Côme Pasqualin<sup>1</sup>

1. CNRS EA7349 STIM, Equipe Transferts Ioniques et Rythmicité Cardiaque, Groupe Physiologie des Cellules Cardiaques et Vasculaires, Tours, France ; 2. Université de Tours, Inserm Nutrition Croissance et Cancer UMR1069, Tours, France

## Introduction

Chez l'Homme, la fibrillation auriculaire (FA) est le trouble du rythme cardiaque le plus fréquent. Les épisodes de FA sont déclenchés par une activité électrique anormale initiée dans les cardiomyocytes (CM) des veines pulmonaires (VP) qui se propage à l'oreillette gauche (OG) et perturbe son fonctionnement [1]. Chez le rat, la superfusion de noradrénaline sur des préparations *ex vivo* de VP entraîne une activité électrique automatique en salves dans les CM [2]. L'objectif était donc de développer une technique d'imagerie multimodale afin 1) de réaliser une caractérisation spatiotemporelle des potentiels d'action (PA) et des activités calciques déclenchés dans les CM de VP par la noradrénaline et d'étudier leur propagation dans le tissu entier de VP et d'OG ; 2) d'analyser l'effet des oscillations calciques intracellulaires des CM sur leur potentiel électrique membranaire.

## Méthodes

Les activités calcique et électrique de la préparation ont été révélées par les sondes fluorescentes Rhod-2 et Di-4-ANEPPS. La fluorescence a été enregistrée avec une caméra sCMOS (ANDOR Zyla 4.2 PLUS) montée sur un microscope (Olympus MVX10) équipé d'une source lumineuse (CoolLED pE-300). L'enregistrement quantitatif de l'activité électrique de la préparation a été réalisé avec des microélectrodes intracellulaires (amplificateur Biologic VF-180). L'acquisition des données de fluorescence et de microélectrode ont été synchronisées et analysées avec ImageJ.

## Résultats

Nous avons développé une technique permettant d'explorer les activités électrique et calcique à grande vitesse et haute résolution spatiale dans les tissus de VP et d'OG. En y associant la technique de microélectrode intracellulaire, nous avons pu enregistrer simultanément les PA de manière quantitative. Cette nouvelle technique a ainsi permis la caractérisation des activités électrique et calcique induites par la noradrénaline dans les CM de VP. Nous avons notamment mis en évidence :

- l'origine des foyers électriques anormaux dans les VP ;
- la vitesse de conduction et l'anisotropie de propagation des activités électrique et calcique dans les VP et l'OG ;
- l'existence inconstante de phénomènes de micro-réentrées pendant les salves de PA arythmogènes ;

-l'existence d'oscillations électriques indépendantes d'activités calciques dans les zones de la préparation où les PA arythmogènes ne sont pas conduits.

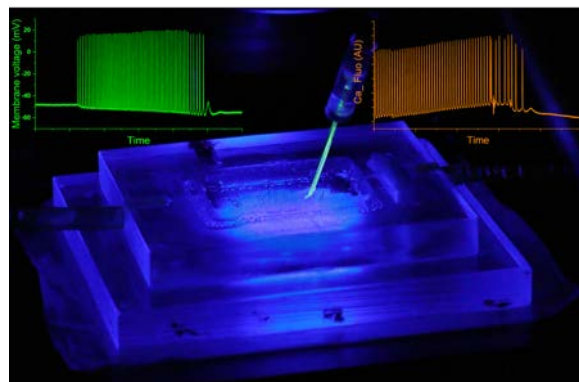


Figure 1 : montage expérimental présentant la cuve contenant la préparation, positionnée sous le microscope afin d'enregistrer les dynamiques calciques (en orange) et le potentiel de membrane des cardiomyocytes (en vert) avec la micro-électrode.

## Discussion

Cette nouvelle technique ajoute une dimension spatiale à l'étude des arythmies déclenchées par la noradrénaline dans les VP. Elle permet notamment la localisation précise des zones où les CM génèrent des PA arythmogènes et offre ainsi la possibilité de caractériser les propriétés de ces CM.

Le développement de cette technique d'imagerie rend également possible l'exploration de stratégies innovantes pour isoler électriquement les OG des VP et ainsi bloquer la propagation des PA arythmogènes dans l'OG.

## Références

1. Haissaguerre et al, N Engl J Med, 339 :659-666, 1998.
2. Doisne et al, Am J Physiol Heart Circ Physiol, 297:102-108, 2009.

# IMAGERIE DE FLUORESCENCE ET PHOTOACOUSTIQUE POUR LE SUIVI DU DEVELOPPEMENT DES METASTASES HEPATIQUES

Jonathan Lavaud <sup>\*† 1,2</sup>, Maxime Henry <sup>1,2</sup>, Pascal Gayet <sup>3</sup>, Julien Vollaire <sup>1,2</sup>, Jean-Luc Coll <sup>1,2</sup>, Veronique Josserand<sup>‡ 1,2</sup>

<sup>1</sup> Institute for Advanced Biosciences / Institut pour l'Avancée des Biosciences (Grenoble) – Centre Hospitalier Universitaire [Grenoble], Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale : U1209, Etablissement français du sang - Auvergne-Rhône-Alpes, Centre National de la Recherche Scientifique : UMR5309, Université Grenoble Alpes – France

<sup>2</sup> Optimal, small animal imaging facility – Plateforme OPTIMAL, institute for Advanced Biosciences, INSERM U1209, Grenoble – France

<sup>3</sup> Fluoptics – Fluoptics – France

## Introduction

L'imagerie photoacoustique (PAI) est une technologie émergente qui combine les caractéristiques les plus intéressantes de l'imagerie optique et des ultrasons, offrant ainsi un contraste et une résolution élevés en profondeur dans les organismes vivants [1]. La PAI présente un grand potentiel pour l'exploration non-invasive des tissus biologiques, en tirant parti des différences dans l'absorption optique des composants tissulaires comme l'hémoglobine, qui présente des signaux photoacoustiques spécifiques dont la détection aboutit à la cartographie des vaisseaux sanguins et de la saturation en oxygène tissulaire (StO<sub>2</sub>) [2]. La PAI permet également d'identifier des molécules exogènes et est donc intrinsèquement capable de donner des informations moléculaires[3]sur un processus physiopathologique d'intérêt via l'utilisation d'un agent de contraste. Historiquement, le vert d'IndoCyanine (ICG) est l'un des seuls agents de contraste organique largement utilisé pour sa capacité à générer un signal photoacoustique. Cet agent de contraste est néanmoins un agent de contraste **non spécifique** qui n'est donc pas capable de renseigner sur des processus moléculaires. Il apparaît que des efforts de recherches restent essentiels pour la recherche et le développement d'agents de contraste **spécifiques** utilisables en PAI afin d'exploiter le plein potentiel de cette nouvelle modalité d'imagerie.

## Méthodes

Un modèle de métastases hépatiques de cancer colorectal est développé par l'implantation splénique d'une lignée de cellules de carcinome colorectal puis résection de la tumeur primaire après quelques semaines. Ce modèle conduit au développement de métastases hépatiques qui envahissent progressivement le foie. Le développement tumoral a été caractérisé par imagerie

---

\*Intervenant

†Auteur correspondant: jonathan.lavaud@univ-grenoble-alpes.fr

‡Auteur correspondant: veronique.josserand@univ-grenoble-alpes.fr

multimodale en combinant la bioluminescence, le microCT (avec injection d'agent de contraste Nano6000), la PAI par contraste endogène (mesures de l'hémoglobine totale et de l'oxygénation tissulaire) et l'imagerie moléculaire à partir d'agents de contraste (ICG et Angiostamp<sup>TM</sup>800) détectables à la fois en fluorescence (fDOT) et en PAI par contraste exogène.

## Résultats

La PAI par contraste endogène a mis en évidence la mise en place de la vascularisation et de l'hypoxie tissulaire au cours du développement métastatique. Par l'utilisation d'un agent de contraste capté par les macrophages hépatiques le microCT a rendu possible la distinction entre les foies sains et les foies présentant des métastases, en revanche, cette modalité d'imagerie n'a pas permis de faire la distinction entre deux stades de développement métastatiques. L'état pathologique du foie a également été mis en évidence par l'étude des pharmacocinétiques sanguines de l'ICG qui renseigne ainsi, de façon indirecte, sur la présence de métastases. Au niveau du foie, l'imagerie de l'ICG (fDOT et PAI) a permis de distinguer un état physiologique d'un état pathologique mais pas de discriminer deux stades de développement métastatique. Au contraire, l'Angiostamp<sup>TM</sup>800, a permis de distinguer deux stades pathologiques avec les 2 modalités d'imagerie (fDOT et PAI).

## Conclusion

Cette étude a rapporté l'utilisation de deux agents de contraste compatibles en fluorescence et en PAI et présentant ou non une spécificité pour un biomarqueur tumoral, pour le suivi du développement tumoral dans un modèle préclinique de métastases hépatiques du cancer du côlon. C'est la première fois que ces deux modalités d'imagerie moléculaire sont étroitement associées et ce parallèle a permis de mettre en lumière leurs forces et complémentarités respectives. Ce travail a permis le développement de nouvelles méthodologies d'imagerie pour le suivi et la stadification non-invasive du développement tumoral ce qui représente un outil de choix pour le développement et l'évaluation préclinique de nouvelles stratégies thérapeutiques pour lutter contre le cancer.



# SUPER-RESOLUTION D'IMAGES INFRA-ROUGE BASSE RESOLUTION POUR LA DETECTION DE CHUTE

Yannick Wend Kuni Zoetgnande (1), Javad Alirezaie (2), Jean-Louis Dillenseger (1)

1. Univ Rennes, Inserm, LTSI - UMR 1099, F-35000 Rennes, France ; 2. Ryerson University, 350 Victoria St, Toronto, ON M5B 2K3

## Contexte

Chaque année, plus d'un quart des personnes âgées sont victimes de chutes causant des blessures sérieuses. Pour prévenir et détecter les chutes, nous proposons un système stéréo de caméras thermiques qui ont l'avantage de garantir l'anonymat des personnes tout en fonctionnant jour et nuit.

Afin d'assurer une plus grande démocratisation de l'application finale, nous utilisons des caméras de très faibles résolution (80x60). Cependant cette faible résolution induit une perte de précision lors de la reconstruction stéréoscopique. À cette faible résolution, une erreur de localisation de l'ordre du pixel dans le traitement des images, entraîne une incertitude en profondeur de l'ordre de 50 cm). Une solution consiste à augmenter la taille des images afin de garantir une meilleure précision de localisation dans les images. Nous nous proposons de résoudre ce problème appelé super-résolution sur une base de réseau de neurones profond.

## Méthode

L'idée principale de notre méthode appelée EFTS est de faire précéder un réseau classique utilisé pour la super-résolution basé sur les blocs résiduels [1] par des modules d'extraction de contours. Ces modules permettent d'amener notre réseau de neurones profond à mettre l'accent, une saillance, sur les contours des objets et des personnes. La figure 1 représente notre module d'extraction de contours d'images. À la suite de ce module se trouve un module de fusion, puis des blocs résiduels et enfin un bloc d'élargissement de l'image.

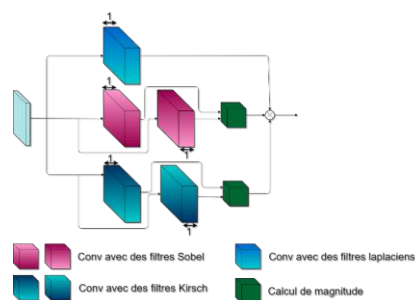


Figure 1: Module d'extraction de contours.

L'apprentissage du réseau de neurones se fait sur des paires d'images haute et basse résolution. Les images sous-résolues ont été obtenues à partir d'images haute résolution par un modèle floutage/décimation et bruit, avec un choix aléatoire des paramètres de floutage et de bruit fin d'assurer une meilleure généralisation.

## Résultats

La table 1 représente la valeur moyenne du PSNR de 30 images reconstruites en utilisant une interpolation bicubique classique, une méthode utilisant aussi des blocs résiduels, RDN, mais sans saillance de contours [1] et une méthode considérée comme une référence pour des images infrarouges CNN [2].

Bicubique	RDN [1]	CNN [2]	EFTS
36.36	39.64	38.92	40.28

Table 1 : Comparaison de qualité de reconstruction en utilisant le PSNR comme métrique.

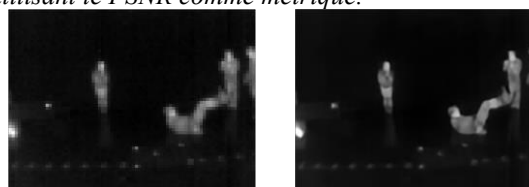


Figure 2 : À gauche l'image originale et à droite l'image super-résolue avec notre méthode

## Discussion

La Table 1 montre que notre méthode obtient de meilleurs résultats que les autres. Contrairement à ces méthodes, nous introduisons une saillance qui permet une meilleure reconstruction des contours. L'apprentissage de notre réseau sur des images obtenues par de multiples modèles de dégradation assure également une meilleure robustesse des résultats.

Nos tests avec la camera Lepton2 (Fig. 2) prouvent que l'on pourra utiliser notre modèle afin d'améliorer sensiblement la résolution des images thermiques utilisées la surveillance médicalisée des personnes âgées.

## Références

1. Y. Zhang, Y. Tian, Y. Kong, B. Zhong, and Y. Fu, "Residual dense network for image super-resolution," in CVPR, 2018.
2. P. Bhattacharya, J. Riechen, and U. Zolzer, "Infrared image enhancement in maritime environment with convolutional neural networks.," in VISIGRAPP, pp. 37–46, 2018.

## Remerciements

Ce travail est effectué dans le cadre du projet ANR PRuDENCE (ANR-16-CE19-0015) et a été soutenu par Mitacs (Canada) et Campus France dans le cadre du programme de mobilité de recherche Globalink (numéro de subvention IT10912).

# IMAGERIE TEP DYNAMIQUE UTILISANT UN FILTRAGE 4D AU SEIN DE L'ALGORITHME DE RECONSTRUCTION

Rudy Delaplace (1), Simon Stute (2), Clovis Tauber (1)

1. UMR 1253, Brain Université de Tours, Inserm, Tours, France; 2. UMR 1023 Inserm, IMIV-CEA-SHFJ, Orsay, France

## Introduction

La Tomographie par Émission de Positron (TEP) peut détecter et mesurer la distribution et la concentration de radiotracteur dans le corps. Cela indique la fonctionnalité et la physiologie des tissus observés, en particulier lors d'acquisitions dynamiques. Cependant, l'inconvénient des images TEP dynamiques, en comparaison avec les images TEP statiques, est qu'elles souffrent d'un bruit plus important dû au nombre d'événements plus bas utilisés lors de la reconstruction de l'image ce qui peut aussi induire du biais.

Dans le but de contrer ces effets, nous avons développé une méthode qui combine la robustesse des algorithmes EM et le gain en réduction de bruit des filtres dynamiques. Pour ce faire, nous avons introduit la régularisation dynamique au sein même de l'algorithme de reconstruction pour que les bénéfices soient pris en compte à chaque itération de reconstruction.

## Dynamic Regularization Expectation Maximization (DREaM)

Notre méthode est donnée par l'équation itérative suivante :

$$\begin{aligned} u_{k+1/2} &= u_k K^T m / (K u_k) \\ u_{k+1} &= f_{4D}(u_{k+1/2}) \end{aligned} \quad (1)$$

Où  $u_k$  est l'image reconstruite à la  $k^{\text{ième}}$  itération,  $K$  est la matrice du système,  $m$  les données mesurées et  $f_{4D}$  le filtre dynamique. La première ligne de l'équation correspond à l'étape EM et la deuxième correspond à l'étape de régularisation.

Nous considérons deux méthodes différentes : DREaM qui applique les deux étapes à chaque itération et DREaM\* qui n'applique pas l'étape de régularisation à la dernière itération de reconstruction. DREaM met l'accent sur la régularisation et la réduction de bruit tandis que DREaM\* se concentre plus sur l'attache au données et la réduction de biais.

4 différents filtres dynamiques de la littérature ont été testés avec cette méthode.

## Simulations d'images

Nous considérons le fantôme de tête Zubal [2] qui nous servira de vérité terrain. De ce fantôme, des simulations analytiques [3] ont été effectuées selon l'évolution théorique du radiotracteur FDG. Cette séquence est composée de cadres temporels de 5 x 60s, puis 5 x 120s, puis 2 x 150s et 8 x 300s.

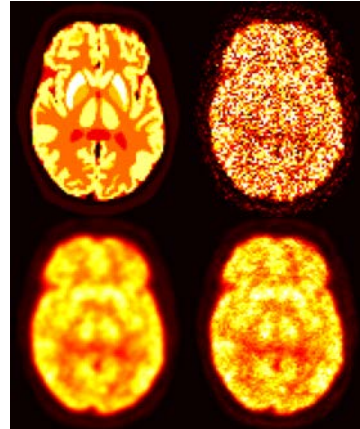


Figure 1: Images reconstruites pour chaque méthode pour le radiotracteur FDG. Haut-gauche = Vérité terrain, haut-droite = EM, bas-gauche = DREaM, bas-droite = DREaM\*. KIBF utilisé pour la régularisation.

## Résultats

Les paramètres utilisés pour les images DREaM et DREaM\* (Figure 1) ont été choisis de façon à optimiser le SNR.

Les méthodes DREaM et DREaM\* améliorent visuellement la qualité des images. Le SNR est plus élevé sur les images DREaM et DREaM\* par rapport à la reconstruction classique EM tandis que le biais est réduit. DREaM a un SNR plus élevé que DREaM\* mais un biais plus élevé également.

## Discussion

DREaM et DREaM\* permettent une amélioration notable de la qualité des images comparé à la reconstruction classique. DREaM est plus adapté lors de l'utilisation des informations visuelles (du fait du bruit plus faible) et DREaM\* est plus adapté lors de l'application pour des calculs quantitatifs (du fait du biais plus faible). Les deux méthodes sont utilisables en recherche et en clinique.

## Références

1. I.G. Zubal, C. R. Harrell, E. O. Smith, Z. Rattner, and G. Gindi, "Computerized three-dimensional segmented human anatomy", *Medical Physics*, vol. 21, no. 2, pp. 299-302, 1994.
2. S. Stute, C. Tauber, C. Leroy, M. Bottlaender, V. Brulon, C. Comtat, "Analytical Simulations of Dynamic PET Scans with Realistic Count Rates Properties", *Nuclear Science Symposium and Medical Imaging Conference (NSS/MIC)*, pp. 9-11, 2015.

# Nanomédecine et Imagerie

## 2

# MULTICELLULAR PANCREATIC TUMOR SPHEROIDS BASED ON A TRIPLE CO-CULTURE: A VALUABLE TOOL FOR NANOMEDICINE SCREENING.

Gianpiero Lazzari<sup>1</sup>, Valerie Nicolas<sup>2</sup>, Patrick Couvreur<sup>1</sup>, Simona Mura<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Univ Paris-Sud, Institut Galien Paris-Sud, UMR 8612, CNRS [simona.mura@u-psud.fr](mailto:simona.mura@u-psud.fr)

<sup>2</sup>Univ Paris-Sud, Université Paris-Saclay, Institut Paris-Saclay d'Innovation Thérapeutique

## Introduction

The efficacy of conventional anticancer drug therapies is often altered by a non-specific distribution with poor drug delivery to the target tissue, rapid metabolization and excretion from the body. In this context, nanomedicines have received a tremendous attention because they hold the potential to overcome these limits. However, their introduction in clinical practice is not straightforward. Failure of highly promising therapeutic strategies might be ascribed to the presence of multiple biological barriers that characterize the tumor microenvironment, hampering the delivery of drugs to cancer cells. Notably, these diffusion barriers are not considered during *in vitro* preclinical studies, which are generally routinely performed on two-dimensional (2D) monoculture of isolated cancer cells. Despite their relative ease of handling, these cultures are devoid of any structural architecture and lack the complex microenvironment of real tumour tissues.

In this context, we have devoted our attention toward three-dimensional (3D) culture methodologies capable to better mimic the tumor complexity and more accurately assess the therapeutic efficacy of nanomedicines.[1] In particular we focused on the development of an organotypic 3D model of pancreatic ductal adenocarcinoma. Hallmark of this disease is an extensive desmoplastic reaction, which acts as a tortuous barrier, blocking diffusion of drugs and nanomedicines, thus limiting the effectiveness of the treatment.[2-3] Accordingly, we have developed a hetero-type 3D spheroid model integrating cancer cells with cellular and acellular stroma components (*i.e.*, fibroblasts, endothelial cells, extracellular matrix). And we demonstrated that the presence of a complex microenvironment allowed to closely mimic the resistance to treatments often observed *in vivo*.[4] Accordingly this model can be used as a relevant and easy to handle tool for a routinely preclinical screening of nanomedicines.

## Material and methods

**Construction of 3D MCTS.** Human pancreatic cancer cells (PANC 1), fibroblasts (MRC 5) and umbilical vein endothelial cells (HUVEC) were purchased from ATCC. MCTS were constructed according to the liquid overlay technique. A ratio 1:9:4 has been used to set up the triple coculture (PANC-1:MRC-5:HUVEC).

**Cytotoxicity evaluation.** After drug treatment, cytotoxicity on MCTS was assessed by optical imaging,

ATP quantification and/or measurement of the bioluminescent signal.

**Nanoparticle (NPs) penetration.** After incubation with doxorubicin-loaded NPs or free drug, assessment of penetration in the spheroid was performed by Confocal Laser Scanning Microscopy (CLSM) and Light Sheet Fluorescence Microscopy (LSFM).

## Results et Discussion

We have successfully constructed a triple co-culture which combines pancreatic cancer cells, fibroblasts and endothelial cells. The cell spatial distribution was assessed by LSFM imaging. The uniform blue staining revealed a homogeneous distribution of cells in the 3D structure. The green fluorescence confirmed the presence in the core of fibroblasts to which the HUVECs (red fluorescence) were strongly associated. (Fig. 1)

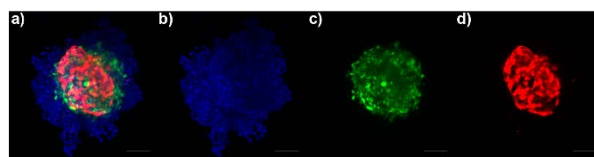


Fig. 1. LSFM 3D topography of spheroids: (a) fluorescence overlay; (b) single blue channel showing all cell nuclei; (c) single green channel showing GFP-MRC-5 fibroblasts; (d) single red channel with RFP-HUVEC cells. Scale bars: 100  $\mu$ m

These spheroids revealed lower sensitivity to cytotoxic drugs compared to spheroids made of cancer cells only, confirming the crucial role of a complex tumor microenvironment consisting of multiple cell types. Then, penetration studies showed that opportune powerful imaging techniques are imperatively needed to strongly reduce the risk of artefactual interpretation of the experimental data. [5]

## Références

1. Lazzari et al, *Polym. Chem.* 8:4947–4969, 2017.
2. Mahadevan et al, *Mol. Cancer Ther.*, 6:1186–1197, 2007.
3. Longo et al, *Oncotarget*, 7:58649–58658, 2016.
4. Lazzari et al, *Acta Biomater.*, 78:296–303, 2018.
5. Lazzari et al, *Submitted*

**Remerciements.** The research leading these results has received funding from the HORIZON 2020 Programme under grant agreement no. 642028 H2020-MSCA-ITN-2014.

# DÉTECTION DE CELLULES CANCÉREUSES PAR UNE APPROCHE D'AMPLIFICATION BIO-INSPIRÉE

Curzio Rüegg (1,2), Corine Reis (1,2), Sarah Rafiee (1,2), Jonathan List (2,3), Michael Meyer (2,3) Barbara Rothen (2,3), Laura Rodriguez-Lorenzo (2,3,) et Alke Petri-Fink (2,3)

1. Département d'Oncologie, Microbiologie et Immunologie, Faculté de science et médecine, Université de Fribourg, Suisse
2. Institut Adolphe Merckel Institut, Faculté de science et médecine, Université de Fribourg, Suisse
3. Center National de Compétence en Recherche (NCCR), matériaux bioinspirés

## Introduction

La principale cause de décès par cancer est due à la formation de métastases. Les cellules cancéreuses en cours de dissémination sont détectables dans le sang sous forme de cellules tumorales circulantes (CTC) et peuvent être exploitées à des fins de pronostic et de surveillance. En raison de leur très basse fréquence, leur détection reste difficile. La nature a développé des mécanismes pour amplifier des événements biologiques rares ou des signaux faibles, tels que des voies de signalisation intracellulaires, les réseaux de cytokines ou la cascade de coagulation. Nous explorons des cascades d'amplification bioinspirées pour développer un test in vitro permettant de détecter de manière spécifique et sensible les CTC chez les patientes atteintes de cancer du sein (1) (Figure 1).

## Resultats

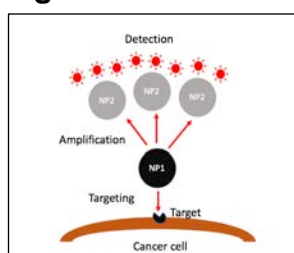
**AuNP ciblant les cellules cancéreuses du sein HER2<sup>+</sup>.** Nous avons généré des AuNPs multifonctions avec des propriétés furtives et de ciblage améliorées. Les AuNPs sont bioconjugués à l'anticorps anti-HER2, trastuzumab. Les NPs conjugués présentent une excellente stabilité physico-chimique, une forte affinité et une grande spécificité pour les cellules HER2<sup>+</sup> (2)

**Amplification en cascade de la coagulation.** Dans un premier modèle d'amplification, nous avons utilisé le système de coagulation dans lequel une cascade enzymatique active la thrombine qui clive le fibrinogène pour générer de la fibrine insoluble (1, 3). La cascade est activée par une première AuNP qui, après liaison à une cellule HER<sup>+</sup>, active la thrombine pour générer de la fibrine à la surface de la cellule. Sur cette fibrine une deuxième AuNP (NP2) portant un rapporteur fluorescent est ciblée. Ce modèle a démontré que l'approche d'amplification est faisable (Figure 2).

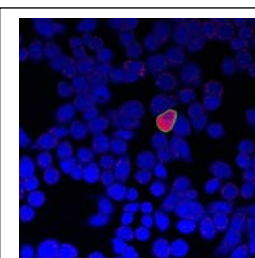
**Amplification à base d'ADN.** Dans un deuxième modèle, nous utilisons une réaction en chaîne par hybridation d'ADN (HCR) (4). Elle consiste en deux oligonucléotides d'ADN en épingle à cheveux qui, une fois «activés» par un oligonucléotide initiateur, basculent de structure pour assembler des polymères d'amplification. En fixant des rapporteurs fluorescentes sur chacun des oligonucléotides, la polymérisation amplifie fortement le signal de l'initiateur (1, 5). Nous

avons optimisé les conditions d'hybridation pour obtenir le meilleur rapport signal/bruit et développons des variantes pour l'amplification exponentielle du signal.

## Figures



**Figure 1.** Concept d'amplification. NP1 cible la cellule cancéreuse pour initier une cascade d'amplification, ce qui attire NP2 portant une molécule rapporteur.



**Figure 2.** Les cellules HER2<sup>+</sup> sont positives pour AuNP1 (vert) et AuNP2 (magenta) liée à la fibrine polymérisée. Les cellules HER2<sup>-</sup> sont négatives pour AuNP2 et 2. Noyaux en bleu.

## Conclusion et suite

Les résultats montrent que l'approche d'amplification est faisable. Des questions importantes restent pourtant en suspens. Jusqu'où pouvons-nous pousser la sensibilité du test? Comment adapter le système pour détecter des types de cancer pour lesquels il n'existe aucun marqueur de surface? Nous explorons des pistes fonctionnelles. Nous explorons également la possibilité d'utiliser ce principe pour tuer les CTC in vivo.

## Références

1. Rodriguez-Lorenzo L, et al, Colloids Surf B Biointerfaces, 171:579-589, 2018.
2. Rüegg C, et al, Chimia (Aarau), 27;73(1):63-68, 2019.
3. Weisel, W, et al, Blood, 121, 1712, 2013.
4. Choi, H M, ACS Nano, 8, 4284, 2014.
5. Bi, S. Chem Soc Rev, 46, 4281, 2017.

## Remerciements

Cette recherche est soutenue par le NCCR Bio-Inspired Materials, le Fonds national suisse de la recherche scientifique, la Fondation Medic, la Fondation Adolphe Merkle et l'Université de Fribourg.

# ROLE DU PEPTIDE GH625 DANS LE TRAFIC INTRACELLULAIRE D'UN NANOVECTEUR DE SIRNA

Sanaa Ben Djemaa (1), Stéphanie David (1), Laurie Lajoie (2,3), Steven Nedellec (4), Stefania Galdiero (5), Annarita Falanga (5), Katel Hervé-Aubert (1), Igor Chourpa (1), Emilie Munnier (1), Emilie Allard-Vannier (1)

1. EA6295 Nanomédicaments et Nanosondes, Université de Tours – Tours, France ; 2. EA7501 Groupe Innovation et Ciblage Cellulaire, Equipe Fc Récepteurs, Anticorps et MicroEnvironnement, Université de Tours – Tours, France ; 3. Plateforme Scientifique et Technique, Analyse des systèmes biologiques département des cytométries, Université de Tours – Tours, France ; 4. Plateforme microPICell, SFR santé François Bonamy-IRSUN, 8 quai Moncoussu, BP 70721, 44007 Nantes Cedex, France ; 5. Département de Pharmacie, CIRPEB - Université de Naples "Federico II", Via Mezzocannone 16, 80134, Naples, Italie

L'utilisation des petits ARN interférents (siRNA) représente une stratégie innovante pour le traitement des cancers. Les limites de cette approche ont incité les chercheurs à développer différents nanosystèmes pour protéger et délivrer les siRNA de façon sélective et efficace. Néanmoins, les mécanismes d'internalisation et le devenir intracellulaire des nanovecteurs de siRNA sont peu étudiés actuellement. Dans l'objectif d'améliorer les traitements des cancers du sein triple négatif (CSTN), nous avons développé des nanovecteurs appelés CS-MSN (Cell penetrating peptide (CPP) Stealth Magnetic SiRNA Nanovectors) basés sur l'utilisation de nanoparticules d'oxyde de fer superparamagnétiques pégylées, marquées à la sulfocyanine 5 et conjuguées à un CPP, le peptide gH625 (CS-FNP) [1]. Les CS-MSN sont formulés par assemblage électrostatique de CS-FNP, de siRNA et de polymères cationiques que sont le chitosan et la poly-L-arginine. Les CS-MSN obtenus présentent une taille hydrodynamique de 175 nm environ et une charge très légèrement positive. Les résultats obtenus par microscopie confocale, imagerie en flux montrent une entrée rapide des CS-MSN dans les cellules de CSTN (MDA-MB-231), préférentiellement par une voie d'endocytose. De plus, les images obtenues avec la microscopie électronique à transmission (MET) montrent que cette endocytose dépend, en même temps, de la clathrine et des cavéoles. La présence du peptide gH625 en surface augmente la quantité de CS-MSN entrant dans la cellule d'environ 2,5 fois après 4 h de contact avec les cellules. Nous avons confirmé par microscopie à illumination structurée (SIM) et par imagerie en flux, la capacité des siRNA vectorisés à échapper les endosomes, alors que les CS-FNP poursuivent leur trafic des endosomes vers les lysosomes (Figure 1). L'échappement endosomal des siRNA nanovectorisés se traduit par une inhibition de 73% d'une protéine modèle (GFP) [1] et est en cours de validation avec une protéine d'intérêt (BCL-xL).

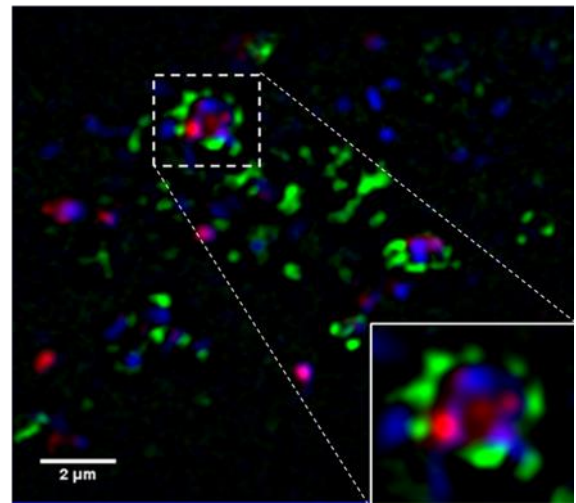


Figure 1: Échappement endosomal des siRNA nanovectorisés avec CS-MSN : Image en SIM de cellules MDA-MB-231 incubées avec CS-MSN préparée avec des siRNA-Atto390 et un anticorps anti-EEA-1-AF488. La barre d'échelle est de 2  $\mu$ m.

## Références

1. Ben Djemaa et al. EJPB 131 (2018) 99–108.

## Remerciements

Ce travail est financé par le Cancéropôle Grand Ouest (CGO, réseau sein) et par la Région Centre-Val de Loire (projet MATURE) ainsi que par la Ligue Nationale Contre le Cancer (Projet EVASION).



# Capteurs

# CAPTEUR EMBARQUE POUR LE MONITORING DU PERIMETRE DES MEMBRES INFERIEURS

Claudine Gehin (1), Bertrand Massot (1), Amalric Montalibet (1),  
Etienne Grenier (2), Cyril Chaigneau (2)

1. INL-INSA Lyon, Villeurbanne; 2. SIGVARIS, St Just St Rambert

## Introduction

A l'heure actuelle, il n'existe pas de dispositifs permettant le monitoring continu des variations géométriques des membres inférieurs, notamment pour le suivi de l'œdème. L'objet le plus utilisé pour mesurer périodiquement ces variations est le mètre ruban, peu précis et peu reproductible. Cet article présente un capteur embarqué dédié à la mesure des variations géométriques des membres inférieurs, permettant le suivi ambulatoire de l'œdème de la jambe au cours de la journée. Nous avons montré que, sur modèle physique, ce dispositif portable permettait de mesurer des périmètres allant de 25 cm à 33 cm avec une précision de 0.3 cm. La stabilité du capteur sur 8 heures est de 3.4% de la pleine échelle.

## Matériel et méthodes

Le dispositif est constitué d'un capteur, une boucle inductive fixée à un support en textile, connecté à une électronique miniaturisée (Figure 1a). Les variations d'inductance liées à l'extension de la boucle sont transformées en variations de fréquence à l'aide d'un oscillateur Colpitts. Le composant programmable PSoC4 (Cypress, San Jose, USA) calcule alors la fréquence et le périmètre correspondant et envoie finalement cette valeur, via une transmission Bluetooth Low Energy, à un téléphone portable (Figure 1b). La calibration du dispositif est effectuée grâce à un modèle physique circulaire précis à 0.1 mm. La consommation d'énergie du dispositif est actuellement d'environ 75 mW (30 mA à 2.5 V). La taille du circuit total est de 2 cmx3 cm, ce qui peut être réduit pour rendre l'appareil pratique et discret à porter.

## Résultats et discussion

Comparé au mètre ruban traditionnel, le capteur conçu a une meilleure précision (0.3 cm sur une plage de 8 cm de périmètre), il ne dépend pas de l'utilisateur et permet une surveillance continue. En effet, Rastel et al. ont montré que les mesures au mètre ruban sont soumises à une variabilité importante [1]. Les écarts moyens et types ont été mesurés à  $22 \pm 0.60$  cm pour la cheville, à  $34.2 \pm 0.78$  cm pour le mollet et à  $40.9 \pm 2.14$  cm pour les mesures de longueur de jambe. D'autres dispositifs plus sophistiqués existent, comme le Leg-O-Meter, plus fiables qu'un mètre ruban, mais ils ne sont pas adaptés

au monitoring continu [2]. En ce qui concerne les appareils ambulatoires, notre capteur peut être directement comparé à la chaussette instrumentée proposée par Zhang qui permet de surveiller le périmètre de la cheville [3]. Des tests réalisés in vitro ont démontré une précision excellente d'environ 0.3 mm pour les mesures de périmètre, mais seulement dans une plage très limitée (22 cm à 23.2 cm). La précision de notre capteur est d'environ 3 mm mais la plage de périmètres explorée est considérablement plus grande et plus en ligne avec les variations physiologiques du membre.

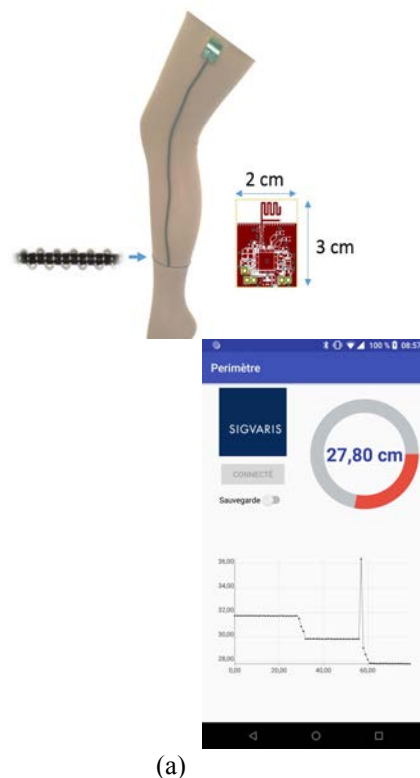


Figure 1: (a) Boucle inductive positionnée sur un modèle de jambe. Le circuit électronique est connecté au capteur via un câble blindé. (b) Application développée sous Android Studio 3.0.1

## Références

1. D. Rastel, D. Sion, and E. Grenier. Réalité de la mesure de jambe pour une bonne délivrance des bas



- médicaux de compression.. Phlébologie, 69:8–13, 2016.
2. A. Berard, X. Kurz, F. Zuccarelli, J.J. Ducros, L. Abenheim, Reliability study of the Leg-O-Meter, an improved tape measure device, in patients with chronic venous insufficiency of the leg. VEINES Group (Venous Insufficiency Epidemiologic and Economic Study), *Angiology* 49 (3): 169–173, 1998.
  3. S. Zhang, R. Rajamani, Sensors on instrumented socks for detection of lower leg edema – an in-vitro study, in: Proceedings of the Annual International Conference of the IEEE EMBS, 2015-November, 2015, pp. 3153–3156.

# UN NOUVEAU CAPTEUR POUR L'IMAGERIE MEG : LE MAGNETOMETRE A POMPAGE OPTIQUE HELIUM 4

E Labyt, A Palacios-Laloy, M Le Prado

CEA LETI

MINATEC Campus | 17 rue des martyrs | F-38054 Grenoble Cedex

## Introduction

Les Superconductive Quantum Interference Devices (SQUIDS) sont les capteurs de référence pour l'imagerie biomagnétique. Cependant, cette technologie présente plusieurs limitations : l'usage de la cryogénie, elle requiert une chambre blindée magnétique de la taille d'une pièce, un coût élevé. Ceci limite son utilisation et sa diffusion dans les hôpitaux. Ce travail rapporte les développements en cours et la première preuve de concept d'un enregistrement MagnétoEncéphaloGraphique (MEG) à température ambiante.

## Méthodes

Le capteur est un magnétomètre à pompage optique (MPO) basé sur la résonance paramétrique des atomes d'Helium 4 ( $^4\text{He}$ ) métastables en champ nul. Le plasma utilisé pour peupler le niveau métastable dissipe seulement 10mW par capteur. L'Helium ne requiert ni chauffage, ni refroidissement pour pouvoir être utilisé comme élément sensible au champ magnétique. Le capteur peut donc être placé sur le scalp sans isolant thermique ou inconfort pour le patient [1,2].

Le MPO  $^4\text{He}$  est basé sur un alignement atomique créé par une lumière polarisée linéairement, à la différence de la plupart des autres MPO qui s'appuient sur une polarisation circulaire. La pompage avec une lumière polarisée linéairement présente plusieurs avantages tels que l'absence de vecteur light shift et une meilleure sensibilité en configuration multi-axes. Notamment, elle améliore la sensibilité sur le 3<sup>ème</sup> axe qui est le moins résolu [2]. Le capteur fonctionne en boucle fermée.

Des signaux MEG simulés avec un fantôme ont été inter-validés avec des mesures d'activité cérébrale (champ évoqué auditif-CEA) en environnement clinique sur un volontaire sain. Les signaux MEG étaient enregistrés successivement avec le MPO  $^4\text{He}$  et les SQUIDS, utilisés comme capteur de référence.

## Résultats

Le MPO  $^4\text{He}$  utilisé montrait une sensibilité de 210  $\text{fT}/\text{Hz}^{1/2}$  dans la bande passante [2 Hz - 300 Hz]. Le champ magnétique généré successivement par différents dipôles du fantôme a été mesuré simultanément selon les axes X et Y. (fig 1A). L'onde M100 des CEA était détecté avec une latence similaire entre enregistrements MPO  $^4\text{He}$  et SQUIDS (fig 1B) [3].

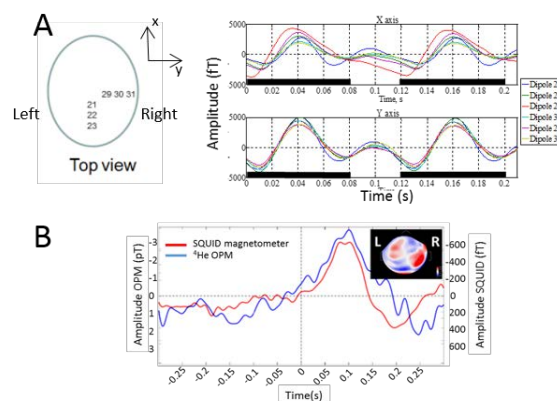


Figure 1 : Signaux MPO  $^4\text{He}$  moyennés selon les axes X et Y enregistrés à partir du fantôme pour 6 dipôles excités successivement (barres noires). (A) CEA moyennés enregistrés en région temporelle droite par un magnétomètre SQUID et notre MPO  $^4\text{He}$  (B).

## Discussion et conclusion

Ces résultats apportent la première preuve de concept d'un enregistrement MEG avec un MPO  $^4\text{He}$  à température ambiante, en environnement clinique. Nos enregistrements MPO  $^4\text{He}$  sont également les premiers présentant les 3 composantes colocalisées du champ magnétique cérébral. Comparé aux MPO alcalins, notre capteur est moins sensible mais offre une plus large bande passante (de 0,1 à 2 kHz) et une plus grande dynamique (jusqu'à 200 nT). De plus, son fonctionnement à température ambiante permet de minimiser la distance entre le capteur et le cerveau. Nos derniers développements ont permis d'améliorer la sensibilité à  $45 \text{ fT}/\text{Hz}^{1/2}$ . Nous testons actuellement de nouvelles configurations capteur qui permettront d'améliorer encore cette sensibilité.

## Références

- [1] Morales S, Corsi MC, Fourcault W, Bertrand F, Cauffet G, Gobbo C, Alcouffe F, Lenouvel F, Le Prado M, Berger F, Vanzetto G, Labyt E. *Magnetocardiography measurements with  $^4\text{He}$  vector optically pumped magnetometers at room temperature.* Phys Med Biol. 2017 Mar 3.
- [2] Beato F, Belorizky E, Labyt E, Le Prado M, and Palacios-Laloy A. *Theory of a  $^4\text{He}$  parametric-resonance magnetometer based on atomic alignment.* Phys. Rev. **98**, 053431 (2018)
- [3] Labyt E, Corsi MC, Fourcault W, Palacios Laloy A, Bertrand F, Lenouvel F, Cauffet G, Le Prado M, Berger F, Morales M. *Magnetoencephalography with optically pumped  $^4\text{He}$  magnetometers at ambient temperature.* IEEE Trans Med Imaging. 2019 Jan;38(1):90-98

# INSTRUMENTATION POUR LA CARACTERISATION DU SOMMEIL CHEZ L'ANIMAL, DU LABORATOIRE AU MILIEU NATUREL

Bertrand Massot (1), Paul-Antoine Libourel (2)

1. INL, UMR CNRS 5270, INSA Lyon, Université de Lyon, Villeurbanne, France

2. CRNL, UMR CNRS 5292, UMR INSERM U1028, UCBL, Université de Lyon, Lyon, France

## Introduction

Il est communément admis que le sommeil est un état physiologique présent chez toutes les espèces animales. Cependant les origines de l'évolution du sommeil restent inconnues ou mal comprises, ce pourquoi il est étudié selon différentes modalités en laboratoire. Néanmoins les instrumentations actuelles, ainsi que les conditions de captivité des animaux, induisent du stress, réduisent la liberté de mouvement, empêchent l'emploi d'abris naturels pour le sommeil, etc [1]. Ceci introduit des biais dans la collecte et l'analyse des données mesurées. A travers un travail de miniaturisation et d'optimisation d'un système électronique sur mesure, nous avons conçu et réalisé pour la première fois une instrumentation dédiée à la caractérisation physiologique, métabolique et comportementale du sommeil chez l'animal. L'instrumentation intègre, au sein d'un unique système électronique miniature portable, des mesure de signaux électrophysiologiques, d'accélérométrie 3 axes et de températures. Elle comporte aussi un vibreur pour l'analyse des seuils de réveil et la privation sélective. Pour permettre à la fois une utilisation en laboratoire ou en milieu naturel, les deux versions de l'instrumentation peuvent être déclinées en version sans-fil (analyse en laboratoire avec possibilité de privation en temps-réel) ou en version *data-logging* (enregistrement long-terme en milieu naturel).

## Oneiros I : Un outil pour le laboratoire

La première version de l'instrumentation a pour objectif de s'adapter à tout protocole d'étude du sommeil chez l'animal en conditions de laboratoire [2]. Celle-ci peut enregistrer jusqu'à 26 canaux d'électrophysiologie, 3 canaux de températures et 3 axes d'accélérométrie. Les fréquences d'enregistrement de chacun de canaux sont ajustables individuellement entre 64 et 4192 échantillons par seconde. L'instrumentation est constituée de « modules » connectables pour l'acquisition, le traitement et la communication des données ainsi que pour l'alimentation électrique. Elle peut être utilisée en version sans-fil avec contrôle temps-réel du vibreur ou bien en logger avec enregistrement sur carte micro-SD simplement en remplaçant le module de communication. L'autonomie du système est d'environ 48h avec un pile 3 Volts d'une capacité de 150 mAh.

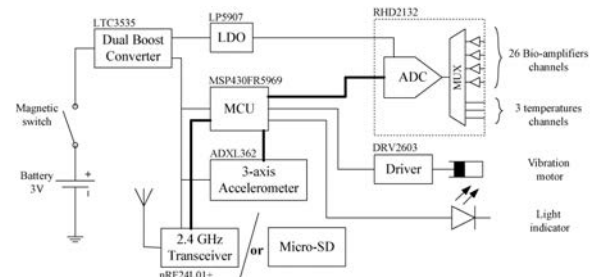


Figure 1 : Diagramme fonctionnel complet de l'instrumentation.



Figure 2 : Illustration du dispositif Oneiros avec moteur vibrant et photo d'un rat avec le système encapsulé dans un boîtier.

## Oneiros II : Etude en milieu naturel

Une deuxième version du système a été développée pour être plus adaptée à la mesure en milieu naturel. En effet, cela reste un compromis entre versatilité et taille du dispositif : un frein à la fois à son utilisation chez le petit animal (souris) ou bien en milieu naturel. En réduisant le nombre de voies d'électrophysiologie à 8, à fréquence fixe, et en limitant l'utilisation à la version logger avec enregistrement sur carte micro-SD, l'encombrement du système est réduit d'un facteur 4 et l'autonomie permet un suivi sur plusieurs jours/semaines. Ceci le rend compatible avec un implantation sous-cutanée chez la plupart des espèces animales et des expérimentations en milieu naturel sont en cours pour la fiabilisation de ce système qui représente la première instrumentation implantable pour le suivi long-terme de signaux pour la caractérisation du sommeil en milieu naturel.

## Références

1. Tang, X., Orchard, S.M., Liu, X., Sanford, L.D., 2004. Effect of varying recording cable weight and flexibility on activity and sleep in mice. *Sleep* 27, 803–810.
2. Bertrand Massot, Sébastien Arthaud, Baptiste Barrillot, Johanna Roux, Gianina Ungurean, et al.. ONEIROS, a new miniature standalone device for recording sleep electrophysiology, physiology, temperatures and behavior in the lab and field. *Journal of Neuroscience Methods*, Elsevier, 2018.



# **FLI WP4**

## **Traitement et Analyse en Imagerie Multimodale**

# DECOMPOSITION EN BASES DE MATERIAUX POUR LE CT-SCAN SPECTRAL PIXSCAN-FLI PAR APPRENTISSAGE MACHINE

Yannick Boursier (1), Souhil Tairi (1), C. Morel (1), Nicolas Ducros (2), Juan Abascal (2), Françoise Peyrin (2), Valeryia Pronina (2)

1 Aix-Marseille Université, CNRS/IN2P3, CPPM, Marseille, France

2 Univ Lyon, INSA-Lyon, Université Claude Bernard Lyon 1, UJM-Saint Etienne, CNRS, Inserm, CREATIS, Lyon, France

## Introduction

Le PIXSCAN-FLI est un micro-tomodensitomètre spectral développé au CPPM et basé sur le détecteur à pixels hybrides XPAD-FLI. Ces détecteurs de nouvelle génération ouvrent la voie à la tomographie couleur dont l'objectif idéal est d'identifier, localiser et quantifier des structures biologiques (os, tissus mous, ...) ou physico-chimiques (agents de contraste) dans l'objet imagé. Cette nouvelle physique d'acquisition a mené au développement de nouveaux algorithmes de traitement de données spécifiques, nous en présentons un nouveau. Il vise à décomposer les sinogrammes obtenus en bases de matériaux, i.e. la séparation de composantes se fait dans l'espace des sinogrammes directement. La nouveauté de l'approche réside dans l'utilisation de réseaux de neurones convolutionnels pour effectuer cette décomposition, ce réseau étant entraîné au préalable sur des données simulées analytiques. Cet algorithme est évalué sur données simulées et données réelles acquises avec le PIXSCAN-FLI.

## Méthodes

Les méthodes actuelles variationnelles basées sur modèles utilisés pour résoudre la décomposition non linéaire en bases de matériaux en CT spectral reposent sur de l'information a priori sur la réponse en énergie du scanner, mais ceci est généralement inconnu.

Nous proposons une approche basée sur de l'apprentissage profond basée sur une architecture U-net et nous le comparons à une méthode de type Gauss-Newton régularisé (GNR). Après la décomposition de matériaux, nous effectuons une reconstruction tomographique par rétroprojection filtrée.

Plus précisément, l'approche sur l'apprentissage profond résout la décomposition de matériaux dans l'espace des sinogrammes. A notre connaissance, c'est la première étude qui utilise une approche basée sur des CNN pour la décomposition de projections en CT spectral. Nous considérons un réseau U-net avec 13 couches cachées, plus superficiel que le U-net original proposé.

## Résultats

La méthode a été évaluée sur un fantôme réaliste de thorax qui des tissus mous, de l'os, et l'aorte marquée au gadolinium. Les données ont été simulées en projetant les volumes et par mélange spectral non-linéaire. Les données d'entraînement pour le réseau U-

net ont été créées par augmentation de données en déformant le fantôme original, qui a été utilisé pour validation. Des données réelles acquises sur le PIXSCAN-FLI sont également évaluées.

Les résultats de reconstruction tomographique de la composante tissus mous sont présentés sur la Figure 1. La méthode GNR avec de faibles paramètres de régularisation mène à des images bruitées alors qu'une régularisation importante réduit considérablement le bruit mais produit des images floues et du cross-talk entre les matériaux (résultats non montrés). Le réseau U-net produit une très grande qualité d'image presque dénuée de bruit et les bords sont restitués très précisément.

## Discussion

En conclusion, le réseau U-net a été capable de réaliser la décomposition en bases de matériaux et mène globalement à des erreurs de décomposition et reconstruction plus faibles que GNR. Le réseau U-net aide à améliorer la qualité d'image, réduisant le bruit et produisant une meilleure restitution des détails à bas contraste que le GNR, qui est plus sensible au bruit. L'apprentissage profond a un haut potentiel pour le CT spectral car il permet une décomposition sans modèle de la réponse en énergie du scanner et fournit une qualité d'image supérieure que les approches variationnelles testées.

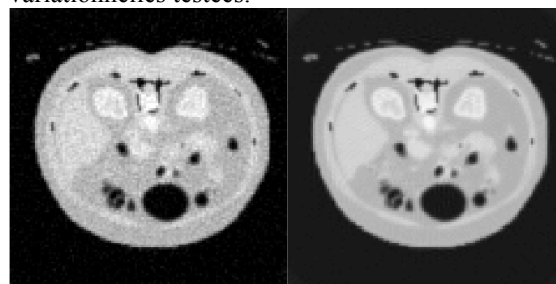


Figure 1 : Reconstruction des tissus mous après séparation par méthode GNR (gauche) et U-net (droite).

## Références

1. Mar. 2018--Sept. 2018, "Deep learning-based material decomposition for spectral CT", stage M2 de V. Pronina.

## Remerciements

Ce travail a bénéficié d'une aide de l'état gérée par l'Agence pour la Recherche au titre du programme «investissements d'avenir Nationale » référencé ANR-11-INBS-0006 et de la Région Provence-Alpes-Côte d'Azur.

# SIMULATION NUMÉRIQUE DE CROISSANCE TUMORALE ET RÉPONSE À LA RADIOTHÉRAPIE

Carlos Sosa Marrero (1), Óscar Acosta (1), Nathalie Rioux-Leclercq (1), Romain Mathieu (1), Nicolas Foray (2) and Renaud de Crevoisier (1)

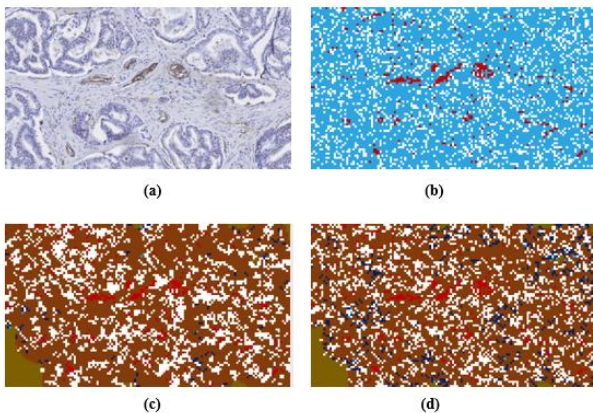
1. Univ Rennes, CHU Rennes, CLCC Eugène Marquis, INSERM, LTSI - UMR 1099, F-35000 Rennes, France
2. Inserm, UMR 1052, Radiobiology Group, Cancer Research Centre, Bâtiment Cheney A, 69008 Rue Laennec, Lyon, France

## Introduction

Les modèles *in silico* (Espinoza et al., *Medical Physics*, 2015 ; Titz et al., *Phys. Med. Bio.*, 2008, Paul-Gilloteaux, *Scientific Reports*, 2017) sont de puissants outils pour comprendre et prédire la croissance tumorale et la réponse à la radiothérapie. Une question majeure à aborder lorsque on utilise ces modèles numériques, c'est la gestion du grand nombre de variables qu'ils peuvent contenir. Les objectifs de ce travail sont de i) développer un modèle de croissance tumorale et réponse à la radiothérapie et ii) réaliser une analyse de sensibilité avec la méthode de Morris (Morris, *Technometrics*, 1991) pour identifier ses paramètres les plus importants ainsi que ceux qui pourraient être négligés.

## Méthodes

Des spécimens histologiques extraits de 7 patients traités par prostatectomie radicale ont été utilisés pour initialiser 21 tissus numériques avec différentes densités tumorales et vasculaires (figure 1).



**Figure 1** – Exemple de (a) région d'intérêt de la coloration CD31 ; (b) tissu numérique initial, avec les cellules saines, en blanc ; tumorales, en bleu clair et endothéliales préexistantes, en rouge clair ; (c) tissu numérique après  $37 \times 2$  Gy, avec les cellules tumorales dont l'ADN a été endommagé, en bleu foncé ; endothéliales néo-crées en rouge foncé et mortes par nécrose hypoxique, en ocre et par catastrophe mitotique, en marron et (d) tissu numérique après  $20 \times 3$  Gy.

Un modèle multi-échelle dans lequel chaque cellule correspond à un voxel du tissu numérique a été développé. Il considère cinq processus biologiques : l'oxygénation du tissu (en utilisant une équation de réaction-diffusion), la prolifération de cellules tumorales (en considérant leur cycle), l'angiogenèse (basée sur la diffusion du VEGF), la réponse à l'irradiation (dépendante du type, la phase et l'oxygénation de la cellule, basée sur le modèle linéaire-quadratique et considérant la mort par catastrophe mitotique) et la résorption de cellules mortes.

Une analyse de sensibilité de Morris a été réalisée pour les 21 tissus numériques (73500 simulations). Une dose totale de 80 Gy administrée toutes les 24h de lundi à vendredi a été considérée.

## Discussion

Comme une première étape vers la compréhension de la réponse des tissus à l'hypofractionnement, deux traitements dont l'équivalence en termes de récurrence au bout de 5 ans a été signalée en études cliniques (Wilkins et al., *Lancet Oncol.*, 2015) ont été testés (figure 1).

L'analyse de sensibilité a déterminé que la dose par séance et la durée du cycle des cellules tumorales sont les deux paramètres ayant un impact plus fort sur la densité tumorale à la fin du traitement. Les paramètres associés au processus d'angiogenèse sembleraient être négligeable.

## Conclusions

Le modèle développé a permis de simuler différents traitements à partir de spécimens histologiques. L'impact des paramètres sur la densité tumorale à la fin du traitement a été étudié avec une analyse de sensibilité de Morris.

## Remerciements

Ce travail a bénéficié d'une aide de l'État gérée par l'Agence Nationale pour la Recherche au titre du programme « Investissements d'avenir » pour France Life Imaging / FLI, référencé ANR-11-INBS.

# Z-Variable-density Stack of 2D SPARKLING for Isotropic High Resolution $T_2^*$ MRI at 7 Tesla

Carole Lazarus\*, Pierre Weiss†, Loubna El Gueddari\*, Alexandre Vignaud\* and Philippe Ciuciu\*

\* CEA/NeuroSpin Center & INRIA-CEA Parietal team, University of Paris-Saclay, F-91191 Gif-sur-Yvette, France

† PRIMO Team, Advanced Life Science Institute, CNRS (USR 3505), University of Toulouse, Toulouse, France

**Abstract**—Magnetic resonance imaging (MRI) is one of the most successful application fields of compressed sensing (CS). Recently, we have proposed a new optimization-driven CS method, called SPARKLING for Spreading Projection Algorithm for Rapid K-space samPLING, that yields significantly higher image quality compared to standard geometrical patterns such as radial or spiral trajectories, while allowing very high acceleration factors up to 20 for  $T_2^*$ -weighted in vivo 2D high resolution imaging of the brain. In this communication, we introduce a natural extension based on stack-of-Sparkling patterns for 3D imaging that can reach a 70-fold acceleration factor for 600  $\mu\text{m}$  isotropic ex-vivo brain imaging in 45 s at 7 Tesla. Compared to current acceleration techniques, our approach achieves similar imaging quality while being 13 times faster.

## I. INTRODUCTION

**Context.** High-resolution MRI is expected to aid in the understanding and diagnosis of many neurodegenerative pathologies involving submillimetric lesions or morphological changes, such as Alzheimer’s disease and multiple sclerosis. Although high-magnetic-field systems can deliver a sufficient signal-to-noise ratio (SNR) to increase spatial resolution, long scan times and motion sensitivity continue hindering the utilization of high resolution MRI. Despite the development of corrections for bulk and physiological motion, long acquisition times remain a major obstacle to high-resolution acquisition, especially in clinical applications.

**Design of trajectories.** In MRI, an image is acquired indirectly through its Fourier transform, which represents its spatial frequency content. More precisely, the Fourier domain, referred to as the  $k$ -space, is sampled along parameterized curves generated by varying magnetic field gradients: A  $k$ -space trajectory is usually composed of several segments  $\mathbf{k}(t)$ , also referred to as shots, which are controlled by magnetic field gradients  $G(\tau)$  as follows:  $\mathbf{k}(t) = \frac{\gamma}{2\pi} \int_0^t G(\tau) d\tau$ . Hardware constraints on the maximum gradient amplitude ( $G_{max}$ ) and slew rate ( $S_{max}$ ) induce limitations in trajectory speed and acceleration. These limits can be expressed as inequality range constraints on each of the time points of the discrete waveform  $\mathbf{k}[i]_{1 \leq i \leq p}$ . For instance, the speed constraint is expressed as follows:  $\|\dot{\mathbf{k}}[i]\| = \left\| \frac{\mathbf{k}[i] - \mathbf{k}[i-1]}{dt} \right\| < \frac{\gamma}{2\pi} G_{max}$  where  $dt$  is the gradient raster time (e.g.  $dt = 10 \mu\text{s}$ ). The acceleration constraint is expressed likewise. Following [1], our objective is to minimize a  $L^2$  distance between a target variable density  $\rho$  and a sampling trajectory  $\mathbf{k}$  under the aforementioned constraints  $\mathcal{Q}_p$ :  $\min_{\mathbf{k} \in \mathcal{Q}_p} \frac{1}{2} \|\mathbf{h} \star (\nu(\mathbf{k}) - \rho)\|_2^2$  where  $\mathbf{h}$  is a continuous interpolation kernel,  $\nu(\mathbf{k})$  is the discrete measure supported by the curve  $\mathbf{k}$  (according to [1],  $\nu(\mathbf{k}) = \frac{1}{p} \sum_{i=1}^p \delta_{\mathbf{k}[i]}$ ) with  $\delta_{\mathbf{k}[i]}$  the pointwise Dirac measure at position  $\mathbf{k}[i]$ .

This distance can be rewritten by expanding the  $L^2$ -norm into:

$$\min_{\mathbf{k} \in \mathcal{Q}_p} \underbrace{-\frac{1}{p^2} \sum_{1 \leq i, j \leq p} H(\mathbf{k}[i] - \mathbf{k}[j])}_{F_r(\mathbf{k})} + \underbrace{\frac{1}{p} \sum_{i=1}^p \int_{\Omega} H(x - \mathbf{k}[i]) \rho(x) dx}_{F_a(\mathbf{k})} \quad (1)$$

where  $H$  is a well-chosen radial function. In our experiments, we selected the Euclidean distance  $H(x) = \|x\|_2$  [1]. Problem (1) can

be interpreted as the minimization of a potential energy  $F(\mathbf{k}) = F_r(\mathbf{k}) - F_a(\mathbf{k})$  containing an attractive term  $F_a$  and a repulsive term  $F_r$ . This non-convex cost function can be minimized by a projected gradient descent of the type  $\mathbf{k}_{t+1} = \Pi_{\mathcal{Q}_p}(\mathbf{k}_t - \beta_t \nabla F(\mathbf{k}_t))$ , which alternates between a non-convex distance minimization and a projection onto the convex MR constraints  $\mathcal{Q}_p$ .

**Z-variable-density stack-of-SPARKLING.** To obtain a fully 3D variable density, the target density may be changed according to the plane’s altitude  $k_z$ . Given a 3D density  $\rho \in \mathbb{R}^{N \times N \times N_z}$ , a trajectory at altitude  $k_z$  will be generated with the density  $\rho_{2D}(k_z) = \frac{\rho(\cdot, \cdot, k_z)}{\int \rho(\cdot, \cdot, k_z)}$ . In addition, once the number of shots in the central stack  $n(0)$  is chosen, the mass of each plane can be adapted to the plane density by reducing the number of shots as  $k_z$  increases:  $n(k_z) = n(0) \frac{\int \rho(\cdot, \cdot, k_z)}{\int \rho(\cdot, \cdot, 0)}$ , Fig. 1(a) shows such a  $z$ -variable-density stack-of-SPARKLING composed of 11 2D-SPARKLING patterns for an isotropic density (defined on a 3D ball).

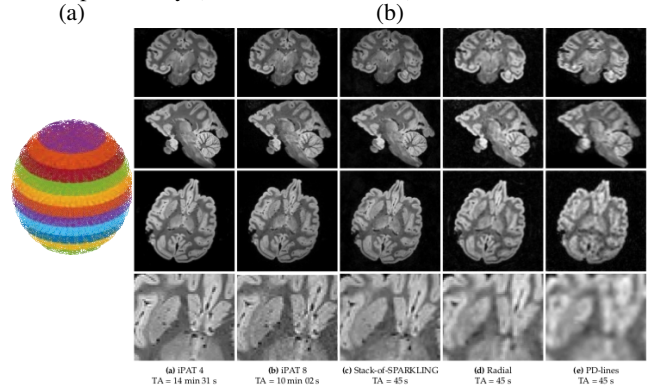


Fig. 1. (a): Stack of 11 variable  $z$ -density SPARKLING trajectories filling a 3D ball. (Colors are just for visualization purposes). (b): 0.6 mm isotropic ex vivo results comparing  $z$ -variable stack-of-sparkling, 3D radial and 3D Poisson disk lines (PD-lines) sampling for a total acquisition time of 45 s.

**Acquisition.** 3D acquisitions were performed on a 7 Tesla MR scanner (Siemens Healthineers, Erlangen, Germany) with a 1Tx/32Rx head coil (Nova Medical, MA, USA). The maximum gradient amplitude and slew rate were 40 mT/m and 200 T/m/s, respectively. A 3D GRE sequence was used. The imaging parameters were set as follows: TR=40 ms, TE=20 ms, FA=15°, readout: 15.36 ms, BW=200 kHz.

**Results.** Images ( $320 \times 320 \times 224$ ) were reconstructed by minimizing a classical CS parallel imaging regularized criterion balancing the trade-off between data consistency and sparsity in the wavelet domain. Our results demonstrate that our 3D sampling strategy outperforms the classical radial and Poisson Disk (PD) undersampling scenarios and give similar results to 8-fold integrated parallel imaging technology (iPAT) while being 13-times faster.

## REFERENCES

- [1] C. Boyer, N. Chauffert, P. Ciuciu, J. Kahn, and P. Weiss, “On the generation of sampling schemes for Magnetic Resonance Imaging,” *SIAM Journal on Imaging Sciences*, vol. 9, no. 4, pp. 2039–2072, 2016.

# APPARIEMENT DE SUPERVOXELS ET ANALYSE SPECTRALE POUR LE RECALAGE NON-RIGIDE D'IMAGES MÉDICALES

Pierre-Henri Conze (1,2), Florian Tilquin (3), Vincent Noblet (3) et Fabrice Heitz (3)

1. IMT Atlantique, Brest, France 2. LaTIM UMR 1101, Inserm, Brest, France

3. ICube UMR 7357, Université de Strasbourg, CNRS, FMTS, Illkirch, France

## Introduction

Requis dans des contextes médicaux variés (suivi longitudinal, appariement d'images pré et post-opératoires ou acquises avec injection de produit de contraste, analyse de cohortes...), le recalage non-rigide entre images médicales doit être robuste vis-à-vis de la variabilité importante des structures anatomiques, tout en préservant leur intégrité géométrique. Pour couvrir l'ensemble du contenu de l'image sans faire face à des problèmes calculatoires, une alternative au recalage non-rigide dense consiste à estimer des correspondances entre entités structurelles décomposant les images à recaler par regroupement de pixels. Dans ce contexte, des techniques de mise en correspondances entre patches sont couramment utilisées mais une décomposition régulière de la grille des voxels ne respecte pas les contours d'objets et n'offre pas de zones de support suffisamment cohérentes.

Contrairement aux patches, les supervoxels - primitives visuelles 3D générées par agrégation de voxels voisins partageant des caractéristiques similaires [1] - offrent des régions de support plus fiables qui préservent la géométrie des structures anatomiques dont on souhaite estimer la déformation.. L'obtention de correspondances entre supervoxels décomposant les images à recaler a fait l'objet de travaux combinant apprentissage statistique non-supervisé et descripteurs de contexte [2]. On note également l'extension de l'algorithme PatchMatch [3] des patches aux superpixels. Pour accroître la robustesse aux fortes déformations, nous proposons une stratégie exploitant une caractérisation spectrale et contextuelle des supervoxels.

## Méthode

Couramment utilisées pour la réduction de dimension, les méthodes spectrales sont exploitées à l'échelle des supervoxels pour extraire des caractéristiques issues de la décomposition conjointe de graphes Laplacien [4]. Pour chaque image, le graphe Laplacien est estimé par normalisation symétrique de la matrice de similarité entre supervoxels (faisant intervenir différences d'intensité moyenne et position) à laquelle nous appliquons une fonction non-linéaire (à noyau Gaussien). Les caractéristiques spectrales résultantes (Fig.1a) correspondent aux modes de diffusion des intensités dans l'image. Une étape de permutation entre vecteurs propres est ensuite requise afin que les modes de diffusion des images soient ordonnés de la même manière (Fig. 1b). Ces descripteurs sont combinés à des informations de contexte [2] pour réaliser la mise en correspondances entre supervoxels par plus proches voisins.

images (a) sans permutations (b) avec permutations

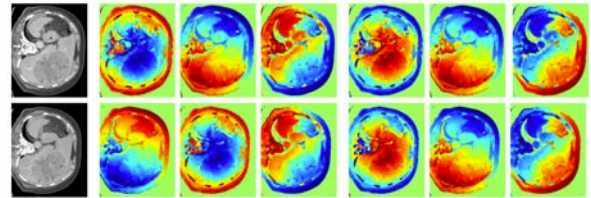


Figure 1: Descripteurs spectraux estimés sur des coupes axiales issues d'images tomographiques acquises à plusieurs mois d'intervalle.

## Résultats et discussion

La méthode est évaluée dans le contexte du suivi longitudinal de patients atteints de carcinome hépatocellulaire et sujets à des traitements pré-opératoires répétés induisant la destruction des tumeurs par nécrose.

image source vérité-terrain propagation

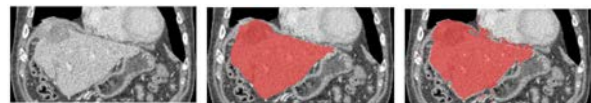


Figure 2: Propagation de masques de segmentation du foie par le biais de l'appariement entre supervoxels.

L'appariement obtenu entre supervoxels peut être exploité pour la propagation de masques de segmentation (Fig.2) ou en guise d'initialisation à une méthode de recalage dense. La caractérisation spectrale de supervoxels ouvre de nouvelles pistes dans le contexte du recalage multi-modales d'images médicales.

## Références

1. R. Achanta et coll., SLIC superpixels compared to state-of-the-art superpixel methods. IEEE Transactions on Pattern Analysis and Machine Intelligence, 2012.
2. P.-H. Conze et coll., Hierarchical multi-scale supervoxel matching using random forests for automatic semi-dense abdominal image registration. IEEE ISBI, 2017
3. R. Giraud et coll., SuperPatchMatch: An algorithm for robust correspondences using superpixel patches. IEEE Transactions on Image Processing, 2017.
4. H. Lombaert et coll., Spectral log-demons : diffeomorphic image registration with very large deformations. International Journal of Computer Vision, 2014.

## Remerciements

Ce travail a bénéficié d'une aide de l'état gérée par l'Agence Nationale pour la Recherche au titre du programme « investissements d'avenir » pour France Life Imaging / FLI, référencé ANR-11-INBS- 0006.





# Avancées Récentes en Imagerie Moléculaire

# D'UNE PROBLÉMATIQUE CLINIQUE À UN DEVELOPPEMENT MÉTHODOLOGIQUE : EXEMPLE DE L'IMAGERIE TEP À L'YTTRIUM 90

Thomas Carlier (1,2), Maël Millardet (2,3), Clément Bailly (1,2), Diana Mateus (3), Jérôme Idier (3), Saïd Moussaoui (3), Françoise Kraeber-Bodéré (1,2)

1. CHU de Nantes, Médecine Nucléaire, Nantes; 2. INSERM CRCINA, Nantes; 3. École Centrale de Nantes, LS2N, Nantes

## Problématique clinique

La radiothérapie interne sélective (SIRT) est une modalité de traitement pour le cancer du foie basé sur l'injection intra-artérielle de microsphères chargées à l' $^{90}\text{Y}$  ( $^{90}\text{Y}$ -MS). Elle est indiquée dans les cancers hépatiques primaires ou secondaires, non résectable, ce qui en fait une bonne alternative à d'autres procédures d'embolisation trans-artérielles comme la chimio-embolisation [1]. Le principe est d'apporter les  $^{90}\text{Y}$ -MS à proximité immédiate de la tumeur grâce à son réseau hyper-vasculaire. Les  $^{90}\text{Y}$ -MS sont bloquées dans les capillaires et fournissent leur effet thérapeutique par émission de particules  $\beta^-$ .

L'un des enjeux post-thérapeutiques associés à cette technique est la cartographie par imagerie de la distribution des  $^{90}\text{Y}$ -MS afin, d'une part, d'évaluer le ciblage tumoral et, d'autre part, de permettre un calcul de la dose absorbée pour permettre un meilleur contrôle de la maladie [2]. L'une des premières approches proposées repose sur la détection du rayonnement de freinage par imagerie monophotonique en considérant des algorithmes de reconstruction adaptés à cette problématique difficile de spectre continu. Les images qui en découlent possèdent une faible résolution spatiale et ne sont pas quantitativement précises, en particulier dans les petites lésions [3].

Il a été montré qu'une transition  $0^+-0^+$  du  $^{90}\text{Zr}$  pouvait aboutir à l'émission d'une paire interne  $\beta^+/\beta^-$  dans une proportion très faible de l'ordre de  $32 \times 10^{-6}$  [4] ouvrant la voie d'une imagerie par Tomographie par Émission de Positons ( $^{90}\text{Y}$ -TEP). Les premières applications cliniques de l'imagerie  $^{90}\text{Y}$ -TEP ont été proposées principalement dans ce contexte de SIRT [5].

## Développement méthodologique

Par la suite, plusieurs études ont été menées pour déterminer les propriétés physiques, les performances quantitatives, et les limites de l'imagerie  $^{90}\text{Y}$ -TEP en utilisant des algorithmes de reconstruction [6,7]. Nous avons montré récemment par simulation Monte Carlo l'impact réel de chacun des phénomènes physiques sur les performances quantitatives de l'imagerie  $^{90}\text{Y}$ -TEP [8]. Ce travail se poursuit actuellement en se focalisant sur l'évaluation d'algorithme de reconstruction s'affranchissant du biais positif consubstantiel aux

approches de type MLEM [9] ainsi qu'à des approches régularisées [10] permettant, a priori, un meilleur compromis biais/variance (figure 1). Une nouvelle approche de traitement de données post-reconstruction sera également présentée (figure 2) [11].

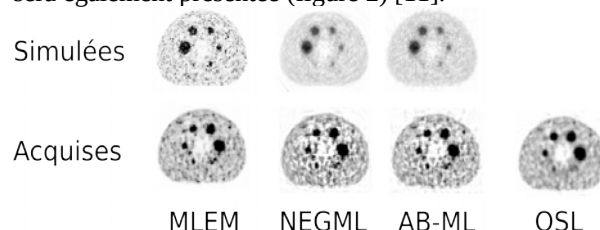


Figure 1: Reconstruction du fantôme NEMA-IEC en utilisant différentes approches en utilisant des données initiales simulées et acquises.

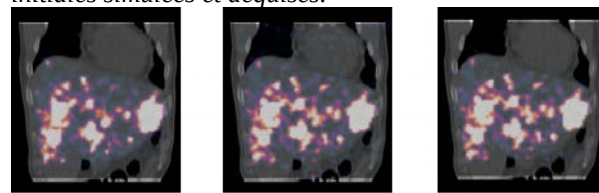


Figure 2: Reconstruction d'un patient avec (droite) et sans (milieu) post-traitement par une approche de type AB-ML (reconstruction ML-EM à gauche à titre de comparaison visuelle).

## Références

1. Salem et al, Gastroenterology, 140:497-507, 2011.
2. Song et al, Medicine, 94:e945, 2015.
3. Elschot et al, PloS One, 8:e55742, 2013.
4. Selwyn et al, Appl Radiat Isot, 65:318-327, 2007.
5. Chang et al, J Vasc Interv Radiol, 24:333-337, 2013.
6. Carlier et al, EJNMMI Research, 3:11, 2013.
7. Carlier et al, Med Phys, 42:4295-4309, 2015.
8. Strydhorst et al, Med Phys, 43:5320-5329, 2016.
9. Millardet et al, Proc IEEE Nuclear Science Symp Medical Imaging Conf, 2018
10. De Piero et al, IEEE Trans Med Imaging, 20:280-288, 2001.
11. Millardet et al, Proc IEEE Nuclear Science Symp Medical Imaging Conf, 2018

## Remerciements

Ce travail a été financé en partie par Connect Talent Pays de la Loire MILCOM, Investissements d'Avenir IRON Labex no. ANR-11-LABX-0018-01 et par un soutien de la société SIEMENS.

# L'IMAGERIE NUCLEAIRE MINIATURISEE POUR GUIDER LE TRAITEMENT DES TUMEURS SOLIDES

F. Bouvet-Lefebvre (1) , A. Bricou (2) , Y. Charon (1) , MA Duval (1) , C. Esnault (1), L. Ménard (1), S. Palfi (3), L. Pinot (1), MA Verdier (1)

1 Laboratoire Imagerie et modélisation en Neurobiologie et Cancérologie, CNRS-IN2P3, Univ. Paris-Sud et Paris-Diderot, Orsay, France

2. Service de Gynécologie, Hôpital Jean Verdier (AP-HP), Bondy, France

3. Service de Neurochirurgie, Hôpital Henri Mondor, Créteil, France

## Introduction

L'imagerie clinique occupe une place centrale pour accéder à un diagnostic plus précoce et à un traitement plus individualisé et réactif des patients. Parmi les enjeux actuels, la conception de systèmes d'imagerie dédiés revêt un intérêt majeur pour répondre à la fois plus efficacement aux caractéristiques d'un organe ou d'une application (contrôle de la mise en œuvre d'un traitement, planification et suivi thérapeutique,...) et augmenter l'accessibilité aux patients. Dans ce contexte, notre équipe développe depuis plusieurs années de nouvelles approches d'imagerie radio-isotopique, dont les finalités s'étendent de l'assistance à la chirurgie jusqu'au contrôle de la dose délivrée en radiothérapie interne. La première application vise à renforcer la précision de l'exérèse en permettant notamment de contrôler en temps réel les marges de résection tumorale à l'aide de systèmes d'imagerie basés sur la détection *in situ* de tissus radiomarqués avec des émetteurs gamma ou beta. L'objectif de la seconde application est de proposer des imageurs gamma spécifiquement dédiés à la mesure quantitative individuelle de la dose déposée au cours d'un traitement par radiothérapie moléculaire, de manière à optimiser l'activité administrée et à mieux définir les doses de tolérance des organes à risque.

## Méthodes

L'ensemble des travaux menés par notre équipe s'inscrit dans une démarche instrumentale commune visant à développer des systèmes de détection miniaturisés et ambulatoires. L'expertise mobilisée s'étend de l'instrumentation (détection de particules, photo-détection, scintillateur, électronique de lecture) à la simulation Monte Carlo et la reconstruction d'images. Ces travaux sont menés en étroite collaboration avec des laboratoires de physique (LAL, IPNO, IRSN) et des centres cliniques (Hôpitaux Lariboisière, Jean-Verdier et Mondor, Royal Marsden Hospital, SHFJ).

## Résultats

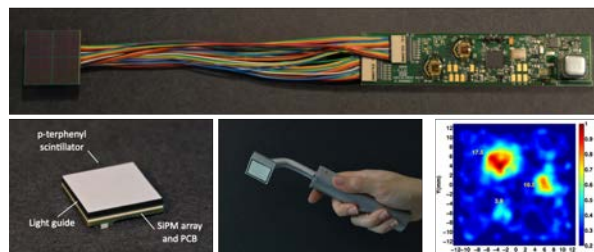
Les principaux résultats concernent le développement de gamma-caméras compactes haute-performance évaluées dans le cadre du cancer du sein pour la localisation des ganglions sentinelles et de tumeurs non-palpables [1] (fig.1). Nous avons notamment pu

démontrer l'impact de l'imagerie peropératoire dans le cas de situations cliniques complexes (ganglions placés proches du point d'injection, en profondeur ou à des localisations ectopiques) [2]. De manière complémentaire, une sonde de comptage et un imageur dédiés à la détection *in situ* de particules beta ont été conçus pour accéder à une localisation plus sensible et précise des foyers tumoraux. La sonde peut être couplée directement à l'outil d'exérèse afin de réaliser simultanément la détection et l'ablation des tissus tumoraux et donc de renforcer la précision et la rapidité du geste opératoire [3,4]. Son évaluation expérimentale et préclinique, tout comme celle de l'imageur, a montré qu'ils étaient capables d'identifier des résidus tumoraux, dont la taille (< 20 mg) est très inférieure à ce qui est aujourd'hui possible d'atteindre avec des systèmes d'imagerie externe conventionnels (fig. 1).

Un prototype de faisabilité d'une gamma caméra ambulatoire dédiée à l'estimation de la dose délivrée au patient avant et après le traitement à l'<sup>131</sup>I de maladies bénignes et malignes de la thyroïde a également été développé. Une première campagne de mesures a mis en évidence des résultats très supérieurs, en termes de qualité d'image, à ceux obtenus avec les gamma-caméras standards.



Figure 1: Gamma-caméra peropératoire (gauche) et imageur beta (bas) pour la chirurgie radio-guidée.



## Références

1. Dinu et al, NIM A 787: 367-372, 2015.
2. Bricou et al, Q J Nucl Med Mol Imaging. 2015 Mar 31.
3. Verdier et al, NIM A 912:315-319, 2018
4. F. Bogalhas et al, Phys Med Biol 54: 4439- 4453, 2009

# QUE FAUT-IL ATTENDRE DE LA TEP-IRM ?

Vincent Lebon (1), Florent Besson (1,2), Emmanuel Durand (1,2)

UMR BioMaps, Univ. Paris Sud/CEA/CNRS/Inserm, CEA/SHFJ, Orsay; 2. Service de Biophysique et Médecine Nucléaire, Hopitaux Universitaires Paris-Sud, CHU Bicêtre, le Kremlin-Bicêtre

## Introduction

Les premières caméras hybrides TEP-IRM cliniques sont apparues sur le marché en 2011. Leur développement a été motivé par les indications croissantes de la TEP, le succès de l'imagerie hybride TEP-TDM dès l'introduction de la TEP en routine clinique ainsi que les indications croissantes de l'IRM, généralement plus performante que la TDM pour la caractérisation lésionnelle des tissus mous. Huit ans après l'arrivée de la TEP-IRM, il faut reconnaître que la technologie a devancé l'attente médicale et que la place de ces appareils en routine clinique reste à préciser.

## Qu'est-ce qu'une TEP-IRM ?

Pour intégrer une caméra TEP dans une IRM, il a fallu lever des verrous technologiques car les caméras TEP conventionnelles sont incompatibles avec les champs magnétiques. La détection de la TEP a été repensée grâce aux progrès de l'électronique qui ont permis de remplacer les tubes photomultiplicateurs par des diodes. L'utilisation simultanée des deux modalités d'imagerie a par ailleurs nécessité de revisiter la correction d'atténuation en TEP, puisque les propriétés des images IRM ne permettent pas d'obtenir, à l'instar de la TDM, des facteurs d'atténuation intrinsèquement continus des tissus (1-3).

## Qu'en attendre en termes de qualité d'image ?

En TEP-IRM, la qualité des images produites par les 2 modalités n'est aucunement dégradée ou bridée par rapport aux images qui seraient acquises séparément.

En ce qui concerne la TEP, les images des caméras TEP-IRM sont caractérisées par une sensibilité de détection accrue par rapport aux caméras TEP-TDM actuelles. Ceci est dû aux performances de la transduction numérique des détecteurs TEP d'une part (diodes photomultiplicatrices), et d'autre part à l'amélioration du rendement géométrique de détection sur ce type de machines, spécifiquement liée au diamètre réduit de la couronne TEP insérée dans le tunnel de l'IRM.

En ce qui concerne l'IRM, les images des caméras TEP-IRM présentent une qualité identique à celles des IRM proposées par les constructeurs. Ceci résulte du fait que les TEP-IRM sont basées sur des IRM « catalogues » auxquelles aucune modification hardware significative n'a été apportée. L'hybridation a principalement consisté à intégrer de nouveaux détecteurs TEP aux IRM existantes.

## Qu'en attendre pour la clinique ?

De nombreux essais cliniques ont tenté d'évaluer les performances diagnostiques de la TEP-IRM, notamment en oncologie. Bien que les premiers utilisateurs se déclarent généralement satisfaits de cette imagerie hybride, la littérature scientifique, substantielle, démontre principalement la non infériorité de la TEP-IRM sur la TEP-TDM en routine clinique (4-5). Deux limitations importantes de ces nombreux travaux sont qu'ils reposent sur une approche « challenging » de la TEP-TDM et sur des protocoles d'imagerie de base sous-exploitant clairement le potentiel de l'imagerie hybride TEP-IRM. Une autre piste serait par conséquent de combiner la richesse d'informations morphologiques et fonctionnelles accessibles par l'acquisition simultanée de données TEP et IRM plus complexes, notamment dynamiques. Cette caractérisation des lésions par un grand nombre de paramètres physicochimiques permettrait ainsi de mieux comprendre certains processus physiopathologiques d'intérêt, et cela à l'échelle du voxel.

Sur le versant recherche, l'acquisition simultanée TEP-IRM laisse entrevoir des applications prometteuses pour l'étude de phénomènes physiopathologiques transitoires (processus d'activation cérébrale, processus pharmacologiques dynamiques) d'une part, et la correction des mouvements d'organe d'autre part.

## Conclusion

L'imagerie hybride TEP-IRM s'imposera si elle démontre sa supériorité par rapport à l'acquisition d'images IRM et TEP séparées d'une part, mais aussi si elle apporte une plus-value à la TEP-TDM. Le fait que le patient ne passe qu'un seul examen TEP-IRM au lieu de deux examens séparés est certes un avantage. Mais ce bénéfice semble limité compte tenu du coût intrinsèquement élevé de l'imagerie hybride TEP-IRM. La maturation clinique de paramètres TEP-IRM spécifiques sera nécessaire pour confirmer le potentiel disruptif de cette technologie, actuellement utilisée comme simple évolution technologique.

## Références

1. Hofmann et al, Eur J Nucl Med Mol Imaging, 36:93-104, 2009
2. Wagenknecht et al, Magn Reson Mater Phy, 26:99-113, 2013
3. Würslin et al, J Nucl Med, 54: 464-471, 2013
4. Czernin et al, J Nucl Med, 55:59S-62S, 2014
5. Spick et coll, J Nucl Med, 57: 420-430, 2016

# DÉVELOPPEMENTS MÉTHODOLOGIQUES POUR LA QUANTIFICATION EN IMAGERIE CÉRÉBRALE TEP-IRM COMBINÉE

Nicolas Costes (1), Inés Mérida (1), Jérôme Redouté(1), Zacharie Irace (1, 3), Anthonin Reilhac(1, 3)

1. CERMEP – Imagerie du vivant, Lyon, France; 2. Siemens Healthcare, France; 3. CIRC, NUS-ASTAR, Singapore

## Introduction

L'exploitation optimale de données acquises sur la nouvelle génération d'IRM-TEP combinées nécessite des développements méthodologiques tirant parti de la combinaison des enregistrements de données des deux modalités. Pour accompagner les projets applicatifs cerveau de l'IRM-TEP Biograph mMR Siemens installée au CERMEP, des développements sont menés suivant quatre axes.

## AXE 1 – MAXPROB : correction d'atténuation par une méthode multiatlas

Une correction d'atténuation du cerveau (AC) précise est nécessaire pour la quantification absolue de la TEP. En l'absence de CT sur l'IRM-TEP, l'AC doit être dérivée des données d'IRM (méthodes MRAC).

La méthode multi-atlas (*MaxProb*) [1] génère un pseudo-CT spécifique au sujet en utilisant son IRM T1, ainsi qu'une base de données de 40 paires IRM T1 et CT (atlas). Les intensités CT d'atlas coregistrés sur le sujet sont fusionnées *via* la propagation de label de densité et le vote à la majorité au niveau des voxels. La carte AC du sujet est dérivée de son pseudo-CT.

Sur les images FDG statiques, un biais significatif (>1%) est obtenu sur seulement 0.02% du cerveau, alors que sur une MRC plus simple (*singleAtlas*), il est présent sur 20% du cerveau. De plus, sur les données TEP dynamiques seul *MaxProb* présente un biais indépendant du temps.

## Axe 2 – EBER : Correction de mouvement en TEP

*Eber* est une méthode originale de correction des mouvements de tête en TEP basée sur l'utilisation de séquences IRM rapides à partir desquels seront extraites des matrices de déplacement rigide de la tête.

A la différence des méthodes classiques appliquant ces corrections aux images reconstruites, *Eber* applique les matrices de correction directement sur les lignes de réponses de l'imageur, à partir des détections stockées dans le mode liste, sur l'intervalle de temps de la mesure du mouvement. Ainsi notre méthode est rendue indépendante du framing TEP dynamique. Elle corrige également de la normalisation et ne crée donc pas d'artefact d'exposition.

## Axe 3 – IDIF : Mesure de la fonction d'entrée sur l'image en utilisant l'IRM pour la modélisation dynamique TEP

Lors la modélisation compartimentale des cinétiques TEP, la fonction d'entrée du plasma artériel est nécessaire pour la quantification absolue des paramètres d'échanges ligand-récepteurs. Ce prélèvement artériel est invasif et impraticable en clinique.

*IDIF* pratique une mesure directe de la fonction artérielle à partir de l'image TEP dynamique. Pour palier les problèmes de localisation et d'effets de volume partiel, les IRMs MPRAGE et TOF, parfaitement coregistrées, sont utilisées. L'effet de volume partiel est corrigé par un modèle de fonction de réponse impulsionnelle spatialement variant du système IRM-TEP [3].

## Axe 4 - IpntPET - Modélisation de la décharge d'un ligand endogène in IRM-TEP dynamique

Le modèle Ip-ntPET classique [4] a été largement accepté pour détecter et caractériser une libération transitoire de neurotransmetteur endogène en réponse à un stimulus ou à un challenge pharmaceutique.

Pour pallier le manque de robustesse de la résolution du modèle, une nouvelle méthode d'estimation basée sur un échantillonnage Markov-Chain Monte-Carlo (MCMC) dans un contexte bayésien a été mise au point. Elle permet l'intégration des connaissances *a priori* sur des paramètres qui contraignent les solutions disponibles, quantifie également l'incertitude des paramètres et ne s'appuie pas sur un ensemble de fonctions de base déterminées, contrairement à la méthode d'origine.

*MaxProb* et *Eber* sont distribuées sous licence

## Références

- [1] Reilhac *JNM* 2018;
- [2] Mérida *Phys. Med. Biol.* 2017;
- [3] Irace *IEEE NSS-MIC* 2016;
- [4] Normandin, *Neuroimage* 2012

## Remerciements

Ce travail a bénéficié d'apport des programmes de financements suivant : LILI- EQUIPEX Lyon Integrated Life Imaging: hybrid MR-PET ANR project-11-EQPX-0026, CESAME - Brain and Mental Health ANR-10-IBHU-0003, FLI - France Life Imaging ANR-11-INBS-0006, et la Fondation Neurodis.

# L'INFRASTRUCTURE NATIONALE « FRANCE LIFE IMAGING »

Vincent Lebon (1), Jacques Bittoun (2), Régine Trebossen (2)

1. CEA/SHFJ 4 place du Général Leclerc 91401 Orsay; 2. CEA Paris-Saclay Bât. 530 – Point courrier n° 13  
91191 Gif-sur-Yvette Cedex

## Introduction

France Life imaging (FLI) fait partie des Infrastructures Nationales en Biologie et Santé créées par le PIA en 2012. FLI regroupe les principales plateformes françaises de la recherche en imagerie *in vivo*, que ce soit pour des recherches méthodologiques, instrumentales ou en analyse des données et pour des applications cliniques ou précliniques.

FLI a pour objectif une mise en réseau des équipements d'imagerie *in vivo* sur le territoire français qui permette aux chercheurs de tous les domaines d'**accéder à une plateforme** d'imagerie et **aux expertises** associées. Pour ce faire FLI est structurée autour :

- d'un maillage des principales plateformes d'imagerie regroupées **6 nœuds régionaux et 1 nœud thématique**,
- d'un réseau d'expertises regroupées dans des **workpackages**.

## Nœuds régionaux et thématique

FLI intègre des plateformes d'imagerie regroupées dans les nœuds régionaux suivants :

- Nœud Paris Sud (Coord. CEA)
- Nœud Paris Centre (Coord. Univ. Sorbonne Paris Cité)
- Nœud Bordeaux (Coord. Univ. de Bordeaux)
- Nœud Grenoble (Coord. Univ. Grenoble Alpes)
- Nœud Lyon (Coord. Univ. Claude Bernard Lyon 1)
- Nœud Marseille (Coord. Univ. Aix-Marseille)

A ces nœuds régionaux s'ajoute le nœud thématique "Analyse & Management de l'Information" (IAM), visant à créer une infrastructure de stockage et traitement des données d'imagerie cliniques et précliniques dédiée aux utilisateurs des plateformes d'imagerie.

Le maillage actuel de FLI permet d'inclure plus de 130 systèmes d'imagerie *in vivo* de pointe répartis sur le territoire.

## Workpackages

L'infrastructure France Life Imaging s'est organisée en workpackages (WPs) pour échanger les compétences dans les domaines clés de l'imagerie biomédicale, renforcer la formation des personnels des plateformes et garantir la qualité du réseau :

- Workpackage 1 : agents d'imagerie moléculaire

- Workpackage 2 : instrumentations et innovations technologiques
- Workpackage 3 : imagerie interventionnelle
- Workpackage 4 : traitement et analyse en imagerie multimodale

L'ensemble est complété par un workpackage dédié à la formation (workpackage 5). Ces WPs constituent des réseaux d'échange de savoir-faire ouverts à tous les laboratoires de recherche en imagerie biomédicale dans toute la France (Fig. 1).

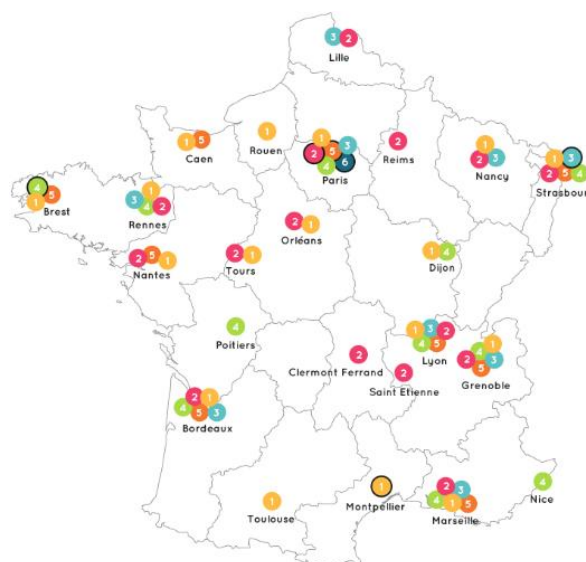


Figure 1. Plateformes d'imagerie *in vivo* associées aux 5 workpackages de FLI

## Conclusion

FLI a permis d'initier une politique nationale des plateformes en imagerie *in vivo* mis à la disposition de l'ensemble des chercheurs de tous les domaines thématiques en France. A travers les workpackages, FLI a également permis l'échange de savoir-faire et le maintien d'expertises au meilleur niveau au sein de ces plateformes. La demande de renouvellement de l'infrastructure FLI pour la période 2020-2024 est en cours d'évaluation par l'ANR.



# **Anticorps Thérapeutiques et Technologies pour la Santé**

# Pharmacocinétique des anticorps thérapeutiques

David Ternant \* 1,2

<sup>1</sup> Université de Tours – Université de Tours : EA7501 GICC – France

<sup>2</sup> Centre Hospitalier Régional Universitaire de Tours – Centre Hospitalier Régional Universitaire de Tours : Department of Medical Pharmacology, Centre Hospitalier Régional Universitaire de Tours : Department of Medical Pharmacology – France

Les anticorps monoclonaux (mAbs) thérapeutiques ont révolutionné la thérapeutique, mais on a une pharmacocinétique et une efficacité très variable selon les patients. La connaissance de la variabilité pharmacocinétique est importante puisque l'efficacité est d'autant meilleure que les concentrations sont élevées.

La variabilité pharmacocinétique des mAbs a été décrite par modélisation pharmacocinétique dans plus de 180 études (source : Pubmed). Parmi les facteurs individuels de variabilité, un poids corporel élevé, le sexe masculin, la présence d'une immunisation contre les mAbs, une faible concentration d'albumine et une forte masse antigénique sont associés à de faibles concentrations d'anticorps thérapeutiques.

La prise en compte de ces facteurs individuels de variabilité pharmacocinétique est nécessaire pour l'ajustement individuel des posologies de mAbs afin d'optimiser leur efficacité.

**Mots-Clés:** Antibodies, monoclonal, pharmacokinetics

---

\*Intervenant



# Data-driven mechanistic modeling of metastasis: cancer at the organism scale

Sébastien Benzekry \* <sup>1</sup>

<sup>1</sup> INRIA – INRIA MONC – France

In the majority of solid cancers, secondary tumors (metastases) and associated complications are the main cause of death. Determining the burden of invisible metastases at diagnosis and predicting how they would respond to treatments would allow personalization of adjuvant interventions. In this talk, I will present research efforts towards the establishment of a predictive computational tool of metastatic development, with a particular emphasis on the assessment of mathematical models to empirical data (both experimental and clinical). I will first present the model's framework, which is based on a physiologically-structured partial differential equation for the time dynamics of a population of metastases, combined to a nonlinear mixed-effects model for statistical representation of the distribution of the parameters in the population. Then, I will show results about the descriptive power of the model on data from clinically relevant ortho-surgical animal models of metastasis (breast and kidney tumors) employing bioluminescence imaging, with recent findings about differential effect of therapies between primary and secondary tumors. The talk will further be devoted to the translation of this modeling approach to the clinical reality. Using clinical imaging data of brain metastasis from non-small cell lung cancer, several biological processes will be investigated to establish a minimal and biologically realistic model able to describe the data. Integration of this model into a biostatistical approach for individualized prediction of the model's parameters from data only available at diagnosis will also be discussed. Together, these results represent a step forward towards the integration of mathematical modeling as a predictive tool for personalized medicine in oncology.

**Mots-Clés:** data modeling, metastasis, cancer, personalized medicine

# Antibody-Drug Conjugates: empowering antibodies for the fight against cancer

Caroline Denevault \* <sup>1</sup>

<sup>1</sup> Génétique, Immunothérapie, Chimie et Cancer – Université de Tours – France

The design of innovative anticancer chemotherapies with superior antitumor efficacy and reduced toxicity continues to be a challenging endeavor. More than a century ago, Paul Ehrlich came up with an original concept known as "the magic bullet". His vision was to link a cytotoxic payload to an entity with selective affinity for a tumor, with the aim of achieving selective delivery of chemotherapeutic agents in the tumor and reducing systemic toxicity. Although this concept seems quite simple, its fine-tuning is fairly elaborate. In 2000, Wyeth (acquired by Pfizer in 2009) was the first to develop an antibody-drug conjugate (ADC), the combination of a potent cytotoxic agent and a therapeutic monoclonal antibody (mAb) via a suitably constructed spacer arm (linker). Gemtuzumab ozogamicin (Mylotarg®) was the first FDA-approved ADC in 2000. It was designed to treat CD33-positive acute myeloid leukemia, and was comprised of calicheamicin conjugated to an anti-CD33 mAb via a pH-sensitive hydrazone linker. In parallel, Seattle Genetics, Genentech and Immunogen pushed forward the concept, by identifying key parameters to optimize ADCs. Potent drugs, plasma-stable linkers, selective deliverance of the payload into the tumor, suitable ADC mechanisms of action, and better antibody targets are the main parameters to take into account to reach that goal. Thus, Seattle Genetics developed brentuximab vedotin (Adcetris®), FDA-approved in 2011. An auristatin analog conjugated to an anti-CD30 mAb through a cathepsin B-cleavable linker, Adcetris® was indicated for the treatment of Hodgkin and anaplastic large cell lymphomas, and could cure patients in therapeutic failure. Ado-trastuzumab emtansine (Kadcyla®), developed by Genentech using ImmunoGen's linker-payload (MCC-DM1) technology, was the first FDA-approved ADC for solid tumors, and was approved in 2013. This ADC, resulting from the conjugation of a maytansinoid drug to an anti-HER2 mAb, was designed to target particularly aggressive HER2+ breast cancers. Inotuzumab ozogamicin (Besponsa®) developed by Pfizer has subsequently been approved by the FDA in 2017 against acute lymphoblastic leukemia, and results from the conjugation of anti-CD22 mAb using the same linker-drug technology as Mylotarg®. Over the last decade, ADCs have been improved by the choice of better drugs, linkers and mAb targets. However, despite their fairly elaborate design, ADCs are still associated with several drawbacks (e.g. limited solid tumor penetration, toxicity and resistance). To overcome these limitations, alternative mAb formats, non-internalizing targets, new payloads, and site-specific bioconjugation methods have been investigated, and there are currently more than 60 ADCs under clinical development.

**Mots-Clés:** antibody, drug conjugate, cancer, ADC

---

\*Intervenant

# Inhalation of antibodies to treat respiratory diseases

Nathalie Vourc'h \* <sup>1</sup>

<sup>1</sup> CEPR-Inserm U1100 – Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale - INSERM,  
Université de Tours – France

Antibodies (Abs) are becoming increasingly important in respiratory medicine; dozens of Abs have received marketing approval, and many more are currently in clinical development. Most of these Abs target asthma, lung cancer and respiratory infections. The standard administration routes for Abs are usually intravenous (i.v) and subcutaneous injections but systemic delivery is unlikely to be optimal because only a small proportion of an injected Ab reaches the lungs/airways ; this may limit efficacy and increase the risk of systemic toxicity. Inhalation consists in directly administering therapeutic molecules as aerosols into the respiratory tract, through the airways and represents an attractive alternative to target Ab to the lungs. Over the past decade, we demonstrated that Abs are sensitive to aerosolization but may retain their physical and immunological properties using specific devices and adding excipients. They are both critical to generate an aerosol with active Abs, and containing a similar quantity of aggregates to that tolerated in injectable formulations. Administration of Ab in the lungs through the airways led to a therapeutic response in various animal models of lung diseases, and can be more efficacious as compared to the classical parenteral routes. As expected, Ab was deposited in a higher concentration in the respiratory tract when administered through the pulmonary route than after administration by i.v injection and very little was passing into the blood circulation system. Our work has focused on full-length Abs and highlighted the potential of inhalation for these large molecules. Presently, several Ab fragments delivered by inhalation have reached clinical trials, demonstrating that inhaled antibody-based treatments may not be far away.

**Mots-Clés:** aerosol delivery, therapeutic antibodies (Abs), nebulizer, respiratory diseases

---

\*Intervenant



# Sondes Ultrasonores Innovantes en Santé

# ULTRASOUND TRANSDUCER, BEYOND THE LIMITS

Guillaume Ferin <sup>\*† 1</sup>, Claire Bantignies <sup>1</sup>, Philippe Vince <sup>1</sup>, Marie-Coline Dumoux <sup>1</sup>, Nicolas S n gond <sup>1</sup>, Agnès Lejeune <sup>1</sup>, Emmanuel Montauban <sup>1</sup>, An Nguyen-Dinh <sup>1</sup>

<sup>1</sup> VERMON, 67 rue Fromental, 37000 Tours, www.vermon.com – Vermon – France

## Background

Ultrasound transducers have long been designed for conventional imaging modes and are fully based on piezoelectric materials. Recent developments in ultrasound medical imaging such as Point of Care imaging, ultrafast imaging, elastography, volumetric imaging provide the market with exciting new features that dramatically impact transducer architectures and require performance enhanced designs to satisfy upcoming specifications. These trends are summarized as follows: lower prices, more compact housing, higher element count, finer pitch, matrix, higher frequency, environmental friendly designs and materials.

Conventional transducer design rules as developed and optimized during the last decades cannot be adapted to fit new objectives in terms of transducers reliability, thermal management, interconnection and integration strategies.

## Contributions

We herein present in details these main technological challenges and will review the technological solutions developed by VERMON relating to our in-house transducer technologies (PZT, CMUT, PMUT, leadfree), integration and interconnect families, and electronic functionalities integration.

## Results

Through key product developments, problematic will be first emphasized prior to showing the technological responses highlighting the progresses made in transducer design and manufacture since new imaging modality advents.

---

\*Intervenant

†Auteur correspondant: g.ferin@vermon.com

**Unité Mixte de Recherche**

CNRS 7347

Université François Rabelais de Tours

**Greman**

**TRANSDUCTEURS ULTRASONORES CAPACITIFS MICROUSINES :**  
**Principes, Applications et Enjeux**

**Dominique Certon<sup>(1)</sup> , Maxime Hery<sup>(1)</sup> , Daniel Alquier<sup>(1)</sup> , Laurent Colin<sup>(1)</sup> , Dominique Gross<sup>(2)</sup> ,  
Nicolas Sénégond<sup>(2)</sup>**

**(1) Laboratoire GREMAN – UMR CNRS 7347 - Université de Tours – INSA Val de Loire**

**(2) Société VERMON - TOURS**



Les transducteurs capacitifs micro-usinés, communément appelés CMUT (Capacitive Micromachined Ultrasonic Transducers), font partis des MEMS (MicroElectroMechanical Systems) acoustiques, avec pour principales applications la génération/détection d'ondes ultrasonores dans les milieux fluides ou gazeux, pour des gammes de fréquence allant typiquement de quelques MHz à 30 MHz. Ces technologies ont vu le jour à la fin des années 1990, où deux équipes de recherche (équipes du Pr. Khuri-Yakub de l'université de Stanford et de Peter Eccardt de chez Siemens) ont, pour la première fois, présenté des démonstrateurs de transducteurs ultrasonores capacitifs micro-usinés capables d'émettre et de détecter des ultrasons dans un milieu liquide. Issues des filières de fabrication de la microélectronique, ces technologies de transduction ont ouvert la voie à de nouvelles générations de composants ultrasonores, à savoir, des dispositifs regroupant, sur un même substrat, la fonction émission / détection des ultrasons et les électroniques de pilotage et de conditionnement des capteurs ultrasonores.

Le laboratoire GREMAN travaille sur ces technologies, depuis plus de quinze années, couvrant toute la chaîne de valeur de ces composants ultrasonores : de la fabrication jusqu'à l'application finale, en y incluant naturellement la conception et la caractérisation. Un partenariat important avec la société VERMON et la société STMicroelectronics nous aura permis de maintenir, sur la base d'une recherche académique, une activité scientifique à forte valorisation industrielle. Nous proposons, dans cette présentation, de faire un état des derniers travaux menés par notre équipe de recherche, tout en parcourant les avancées récentes de la littérature, qu'elles soient d'ordres industriels ou académiques.

La première partie permettra de dresser les fondamentaux de ces technologies : topologie d'un transducteur, conception et fabrication. La seconde partie sera consacrée à une présentation d'exemples d'applications de ces technologies, tout en mettant en avant les enjeux associés, par exemple, l'imagerie ultrasonore, la thérapie ultrasonore, l'imagerie 3D, l'imagerie haute résolution.

**UMR CNRS 7347 - GREMAN**

Axe 3 « Nanotechnologie, nano/micro systèmes, dispositifs et intégration »

Université François Rabelais de Tours, UFR Sciences & techniques

20 avenue Monge ~ 37200 TOURS

greman@univ-tours.fr

http://greman.univ-tours.fr

# FAISABILITE D'UN TRAITEMENT HIFU NON INVASIF AVEC UN TRANSDUCTEUR TORIQUE POUR DES APPLICATIONS HEPATIQUES

Sophie CAMBRONERO, Michel RIVOIRE, David MELODELIMA

LabTAU, INSERM, Centre Léon Bérard, Université Lyon 1, Univ Lyon, F-69003, LYON, France

## Introduction

Les traitements par ultrasons focalisés de haute intensité (HIFU en Anglais) sont aujourd'hui utilisés en routine clinique pour le traitement de nombreuses pathologies [1]. Les ultrasons sont des ondes mécaniques donc non ionisantes, qu'il est possible de focaliser dans les tissus biologiques de manière précise pour produire un échauffement intense et rapide ( $>70^{\circ}\text{C}$  en 3 secondes). Lors de travaux antérieurs nous avons développé des sondes HIFU équipés de transducteurs toriques actuellement en cours de validation clinique pour le traitement des métastases hépatiques par abord chirurgical [2]. Sur la base de cette expérience, les travaux s'orientent à présent sur le développement d'un traitement extracorporel des tumeurs du foie. Avant de développer un transducteur spécifique, une étude de faisabilité a été conduite avec la sonde torique peropératoire. Ainsi, des études numériques, ont été suivies par des validations *in vitro* puis par des essais *in vivo* sur un modèle porcin.

## Matériel et méthodes

Le transducteur HIFU torique avait un diamètre et un rayon de courbure de 70 mm, focalisant sur un anneau de 30 mm de diamètre. Le transducteur était découpé en 32 anneaux concentriques, de surfaces identiques, et pilotables indépendamment pour pouvoir déplacer la zone focale par focalisation électronique. La fréquence de fonctionnement du transducteur était de 2,5 MHz. Une sonde d'imagerie ultrasonore fonctionnant à 7,5 MHz était placée au centre du transducteur HIFU. Le couplage et le refroidissement du transducteur étaient assurés par un liquide réfrigéré à  $3^{\circ}\text{C}$  circulant en circuit fermé.

Les manipulations *in vitro* ont été réalisées sur des échantillons de foie de génisse et de paroi abdominale porcine de boucherie. Les essais *in vivo* ont été menés sur trois porcs placés sous anesthésie générale. Le traitement était réalisé sur une fenêtre anatomique permettant d'éviter la cage thoracique. La sonde était tenue manuellement. La puissance acoustique délivrée était de 96 W, le temps d'exposition de 40s. L'animal était euthanasié 4h après le traitement. Le foie était ensuite prélevé pour des analyses macroscopiques et histologiques.

## Résultats

Au total, 300 simulations numériques ont été nécessaires pour identifier les paramètres de traitement optimaux.

Trente lésions *in vitro* ont ensuite été réalisées afin d'ajuster les paramètres retenus. Chaque lésion a été reproduite 4 fois sans dommage sur les tissus intermédiaires. Les lésions avaient un diamètre moyen de  $18,0 \pm 1,6$  mm et une longueur moyenne de  $14,8 \pm 0,5$  mm, montrant la reproductibilité et correspondant à un taux d'ablation de  $3.1 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$ .

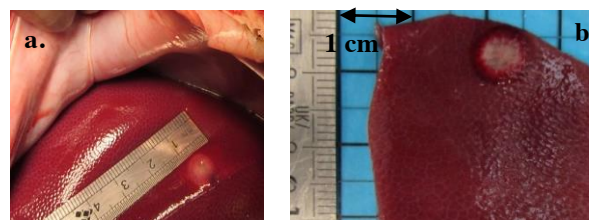


Figure 1 : Lésion *in vivo*, (a) avant prélèvement de l'organe ; (b) après découpe.

Trois lésions ont été créés *in vivo* sans brûlure de peau. Cependant, une lésion secondaire a été observée sur le péritoine. Ces lésions étaient reproductibles. Le diamètre moyen des lésions était de  $7,7 \pm 0,6$  mm de diamètre et d'une longueur moyenne de  $9,7 \pm 2,5$  mm. Le taux d'ablation ( $0.22 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$ ) était plus faible que lors des essais *in vitro*.

## Discussion

Cette étude montre la faisabilité et l'intérêt d'un traitement HIFU extracorporel avec une sonde torique. Bien que ces résultats soient encourageants, ils restent préliminaires et doivent être répétés et améliorés en termes de taux d'ablation. Le taux d'ablation significativement plus faible *in vivo* est certainement lié à l'épaisseur de paroi abdominale plus importante mais également à une puissance acoustique trop faible au regard du taux de perfusion hépatique. Les paramètres de traitement seront adaptés à ces épaisseurs au millimètre près et réalisés avec un effet de focalisation plus approprié.

## Références

1. Maloney et al. Int J Hyperthermia, 2015 ;31(3) :302-309
2. Dupré et al. Trials, 2017;18(1):57

## Remerciements

Ce projet a été financé par la FUS Fondation (N° RC17129CC).

Les auteurs remercient les membres de l'ICE pour leur aide lors des essais *in vivo* et la société EDAP-TMS pour le support technique.

# DEVELOPMENT OF A HIFU TREATMENT FOR TREATING BREAST TUMORS. PRELIMINARY EXPERIMENTS IN HUMAN SAMPLES

Marine Sanchez (1), Victor Barrère (1), Nicolas Chopin (2), David Melodelima (1)

1. LabTAU, U1032 INSERM, Université de Lyon, Lyon ; 2. Centre Léon Bérard, Lyon

## Introduction

Breast cancer is the most common among women [1]. Breast-conserving surgery is the standard early-stage therapeutic approach. A range of minimally invasive techniques holds promise for replacing breast-conserving surgery by local breast tumor ablation, for example cryoablation, radiofrequency ablation or microwave ablation. All these techniques show promising results with an improved cosmetic outcome and a decrease in morbidity. Furthermore, for patients with many co-morbidities, lesser invasive treatments offer the opportunity to treat without a life-threatening procedure. However, they require percutaneous insertion of a probe and only small volumes can be targeted. High Intensity Focused Ultrasound (HIFU) is an attractive technology due to its non-invasiveness though limited by the time required to achieve a complete ablation of the tumor volume [2]. We recently developed toroidal HIFU transducers that enable fast and large volume treatments [3]. Thanks to this technology it is possible to create an ablation rate of 10.5 cc.min<sup>-1</sup>[4]. We report here the first use of a completely non-invasive treatment of breast human tissues using a toroidal HIFU device.

## Method

The HIFU transducer has a toroidal shape and was divided into 32 concentric rings of equal surface (78mm<sup>2</sup>). The diameter of the transducer and its radius of curvature were 70 mm. The operating frequency was 2.5 MHz. The focal zone observed in the focal plane is a ring of 30 mm in diameter. Due to the geometrical characteristics of a torus, the ultrasound beams coming from each of the 32 emitters intersect between the principal focal ring and the transducer to form a secondary focal zone, which contributes to reinforce the size and homogeneity of the lesion. A 7.5 MHz ultrasound imaging probe was placed in the center of the HIFU device.

Experiments were conducted in 23 human samples of normal breast tissue recovered from mastectomies. Ablations in breast tissues were performed by placing the HIFU probe on the skin and using electronic beam steering to place the lesion at 15 mm under the skin. The free-field acoustic power varied from 100 to 140 watts and was applied for durations ranging from 45 to 180 seconds. Attenuation measurements were performed in the frequency range of 2 to 4 MHz, using the pulse-echo method, before and after HIFU treatment.

## Results

In total, 10 HIFU lesions were created. The dimensions of the lesion had an average diameter of 22.5 ± 4.4 mm while preserving skin integrity. The distance between the skin and the HIFU lesion was on average 15.1 mm. Necrosis of the treated zone in the breast was confirmed with histology. The attenuation coefficient was higher in HIFU-treated breast tissues (0.27 ± 0.08 Np.cm<sup>-1</sup>.MHz<sup>-1</sup>) than in the untreated tissues (0.16 ± 0.09 Np.cm<sup>-1</sup>.MHz<sup>-1</sup>).

## Discussion

These results suggest that it is possible to ablate a breast tumor of 10-15 mm in diameter with safety margins using a fully non-invasive HIFU exposure performed by a toroidal transducer. Particularly, this study highlights the creation of large ablation zones in a short period of time without the need of mechanically juxtaposing several lesions or the need to displace the HIFU device. In conclusion, these preliminary results support the translation of the toroidal HIFU transducer to a Phase I – II clinical trials of breast cancer treatment. In parallel additional work is ongoing to continue increasing the ablation volume while keeping the same treatment time. At term, Such a treatment will potentially be performed without general anesthesia, a reduced recovery time and absence of scarring, and consequently also have economic benefits

## Références

1. Ferlay et al, International journal of cancer,135 :359-386, 2015.
2. Peek et al, The british Journal of Surgery, 102:873-882, 2015.
3. Vincenot et al, Ultrasound in Medicine & Biology, 39:1241-1254, 2013.
4. Dupré A., Melodelima D., Pflieger H., Chen Y., Vincenot J., Kocot A., Langonnet S., Rivoire M. Thermal Ablation of the Pancreas with Intra-Operative High-Intensity Focused Ultrasound (HIFU): Safety and Efficacy in a Porcine Model. Pancreas 2017;46(2):219-224.



# NOUVELLE TECHNOLOGIE DE TRANSDUCTEURS ULTRASONORES HAUTE FRÉQUENCE À BASE DE P(VDF-TRFE) DÉPOSÉ SUR SILICIUM

Aline Banquart (1)(2), Jean-Marc Grégoire (1), Lionel Fritsch (3), Franck Levassort (2), Marouane Kdadra (2), Frédéric Ossant (1), Samuel Callé (2)

1. UMR 1253, iBrain, Université de Tours, Inserm, Tours, France; 2. GREMAN UMR 7347, Université de Tours, CNRS, INSA CVL, Tours, France; 3. Irlinx SA, Meylan, France

## Introduction

Ce travail présente une technologie innovante de transducteurs ultrasonores haute fréquence (> 20 MHz). Cette technologie est basée sur l'impression 3D d'un copolymère P(VDF-TrFE) sur un substrat de silicium (wafer), savoir faire de la Société Irlinx [1]. Elle permet d'envisager une intégration CMOS de l'électronique de pilotage d'un système ultrasonore, au plus près de l'élément actif.

## Méthodes

Le transducteur que nous avons conçu est un réseau annulaire constitué de 8 électrodes gravées sur le substrat de silicium. Chaque électrode, ou anneau, possède une surface identique égale à 4,9 mm<sup>2</sup> [2]. Le dépôt du P(VDF-TrFE) sur les électrodes est fait par impression 3D, par couches successives, jusqu'à l'obtention d'une épaisseur du matériau final de 10 µm. L'électrode supérieure est ensuite déposée sur toute la surface du matériau actif. La puce réalisée est fixée sur un circuit imprimé et l'interconnexion est faite par une technique de câblage par fils (wire bonding)(Figure 1).

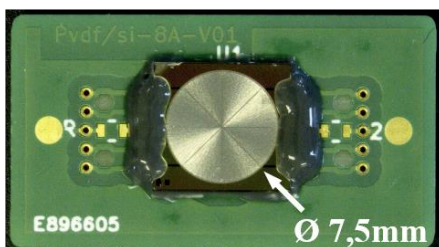


Figure 1: Photographie de la puce sur circuit imprimé après interconnexion et dépôt de résine de protection.

Le P(VDF-TrFE) est polarisé avec un champ électrique appliqué de 135 V/µm pour lui conférer des propriétés piézoélectriques. Une lentille concave de préfocalisation en polymère a été ajoutée en face avant du transducteur pour améliorer sa sensibilité. Elle permet de fixer la distance focale à 14 mm. Pour caractériser ce réseau annulaire, les circuits électroniques d'émission et de réception large bande ont été conçus de manière à se situer au plus proche du transducteur.

## Résultats

Des mesures d'impédance électrique confrontées à celles obtenues avec un schéma électrique équivalent

unidimensionnel (KLM) ont permis d'estimer le coefficient de couplage électro-mécanique en mode épaisseur  $k_t$  à 0,25. La puce a été utilisée en émission-réception pour des mesures de réponse électro-acoustique dans l'eau (Figure 2).

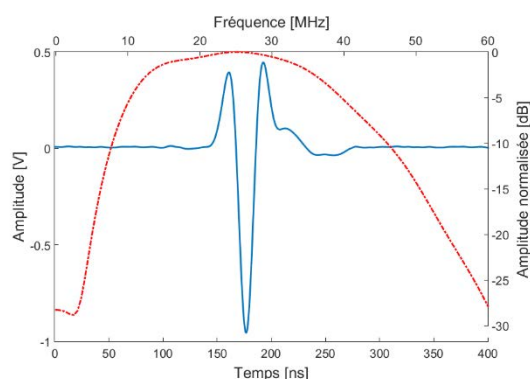


Figure 2: réponse impulsionnelle (bleu) et réponse fréquentielle normalisée (rouge).

La réponse impulsionnelle est acquise à la distance focale de la lentille. Elle présente une fréquence centrale de 25,5 MHz et une largeur de bande à -6 dB de 121 %.

## Discussion

Les résultats montrent que cette technologie permet d'obtenir un transducteur dont les performances électro-acoustiques sont comparables à celles des meilleurs transducteurs P(VDF-TrFE) disponibles sur le marché (Olympus). Cette configuration de réseau annulaire permet d'ajouter une focalisation dynamique à la focalisation géométrique et augmenter ainsi la profondeur de champ.

La technologie permet d'envisager le développement de systèmes d'imagerie haute résolution à forte intégration et à faible coût. Pour qu'ils soient pleinement opérationnels, il reste toutefois à trouver une solution adaptée pour supprimer les échos liés aux allers et retours de l'onde dans le silicium (i.e. intégrer un backing).

## Références

1. Fritsch L et al, Procédé de fabrication de capteurs à couche de co-polymère P(VDF-TrFE) et capteur correspondant. EP2232597B1, 2008.
2. Ketterling JA, Design and Fabrication of a 40-MHz annular array transducer, IEEE Trans Ultrason Ferroelectr Freq Control, 2005.



# Simulations et Modèles

# SIMULATION DU DÉPLOIEMENT DE STENTS À PARTIR D'ÉLÉMENTS « POUTRES » ÉLASTO-PLASTIQUES

Camille Krewcun<sup>1</sup>, Émilie Péry<sup>1</sup>, Nicolas Combaret<sup>2</sup>, Pascal Motreff<sup>2</sup>, Laurent Sarry<sup>1</sup>

1. Université Clermont Auvergne, CNRS, SIGMA Clermont, Institut Pascal, F-63000 Clermont-Ferrand, France; 2. Université Clermont Auvergne, CHU Clermont-Ferrand, CNRS, SIGMA Clermont, Institut Pascal, F-63000 Clermont-Ferrand, France

## Introduction

Cette étude porte sur le traitement de la maladie coronarienne par angioplastie, avec déploiement de stent métallique par ballon. Dans la littérature, un des objectifs les plus courants de la simulation du déploiement de stents est l'optimisation de la géométrie. Les études correspondantes reposent sur la Méthode des Éléments Finis (MEF) et sur une discrétisation volumique fine des solides représentés (stent, artère, ballon). Ce contexte permet d'obtenir une précision importante, au détriment du temps de calcul (jusqu'à 48h [1]).

Nous proposons une méthode de simulation plus rapide, visant à atteindre un temps de calcul compatible avec la routine clinique. L'objectif est d'utiliser la simulation comme outil de prédiction per-opératoire, typiquement dans des applications personnalisées au patient. Pour tirer parti de la structure filiforme du stent, ce dernier est discrétisé par un assemblage d'éléments poutres (*beams*), comme dans [2]. Une approche similaire a été développée pour les stents se limitant toutefois à un comportement élastique incompatible avec la déformation plastique (non linéaire) d'un stent déployé par ballon [3].

## Méthodes

En premier lieu, la reconstruction 3D du stent par micro-CT permet d'obtenir les dimensions principales de la structure. Un maillage 1D du stent est reconstruit via un logiciel de conception assistée par ordinateur.

La mise en place de la MEF repose sur le logiciel libre SOFA [4]. Très succinctement, les routines de simulation de SOFA consistent, à chaque pas de temps, à résoudre un système mécanique :

$$(\mathbf{M} - \delta t \mathbf{B} - \delta t^2 \mathbf{K}) \Delta \mathbf{v}_{t+\delta t} = \delta t \mathbf{f}_i(\mathbf{x}, \mathbf{v}) + \delta t^2 \mathbf{K} \mathbf{v}_t, \quad (1)$$

Où  $\mathbf{x}$  représente la position,  $\mathbf{v}$  la vitesse,  $t$  le temps,  $\mathbf{M}$  la masse,  $\mathbf{B}$  l'amortissement et  $\mathbf{K}$  la matrice de raideur. Une définition plus précise de chacun des termes et de l'établissement du système peut être trouvée dans [4].

Enfin, un modèle de plasticité parfaite de Von Mises comme présenté dans [5] est implémenté pour des éléments poutres. Ce modèle se traduit par le recalcul itératif de  $\mathbf{K}$  à chaque itération.

Le ballon est simulé par l'application de forces radiales réparties sur la surface interne du stent, correspondant à une pression d'inflation donnée.

Des contraintes, implémentées dans SOFA par la méthode des multiplicateurs de Lagrange [4], sont utilisées pour maintenir la cohésion du maillage aux noeuds partagés par plus de trois éléments poutres.

## Résultats

Pour prouver la faisabilité de la méthode, nous avons réalisé la simulation du déploiement libre d'un stent coronaire Presillion Plus (Cordis, Fremont, California, U.S.). Après recalage rigide, nous avons comparé le résultat de la simulation avec des images micro-CT acquises sur le déploiement du même stent. Chaque point simulé est associé à son plus proche voisin dans les images micro-CT. Nous mesurons, parmi l'ensemble des paramètres calculés, une distance radiale moyenne entre les paires de points de 80  $\mu\text{m}$ , ce qui correspond à l'ordre de grandeur de l'épaisseur d'une maille du stent.

## Discussion

La comparaison entre les images micro-CT et la simulation montre que la méthode proposée est capable de reproduire le déploiement d'un stent par ballon, et ce de façon précise. Le temps d'exécution de la simulation sur une machine standard (Intel Xeon E3-1270 v5 3.6 GHz, 16 GB RAM) est d'environ 1h sur un fil d'exécution. Étant donné qu'une partie importante de la MEF est parallélisable, nous sommes confiants sur le fait de pouvoir diviser par 10 le temps d'exécution.

Cette étude préliminaire montre la faisabilité de notre méthode et sa compatibilité avec la routine clinique. Elle doit désormais être étendue à des applications plus réalistes, notamment par l'introduction d'un modèle d'artère, amené à être personnalisé.

## Références

1. De Beule et al, *J Biomechanics*, 41:383–389, 2008.
2. Duriez et al, *Computer Aided Surgery*, 11:300–308, 2006.
3. J. Tambača, *SIAM J App Math*, 70:1922–1952, 2010.
4. Faure et al, Berlin, Heidelberg: Springer, p283–321, 2012.
5. Hugues et al, *Theoretical foundation for large-scale computations of nonlinear material behavior*, ch. II, 1984.

## Remerciements

Nous remercions le laboratoire IMOST (UMR 1240 Inserm / UCA) pour leur aide dans l'acquisition des images micro-CT, acquisition réalisée à la plateforme d'imagerie multimodale IVIA.

# MODELISATION MONTE CARLO DES INTERACTIONS LUMIERE-MATIERE EN TOMOGRAPHIE PAR COHERENCE OPTIQUE

Kévin Quintanar (1), Hugo Jupille (2), Jérôme Pham (2), Emilie Péry(3)

1. Université Clermont Auvergne, Ecole Universitaire de Physique et d'Ingénierie, F-63000 Clermont-Ferrand, France ; 2. ENSSAT LANNION, 6 rue de Kerampont CS80518, 22300 Lannion Cedex ; 3. Université Clermont Auvergne, CNRS, SIGMA Clermont-Ferrand, Institut Pascal, F-63000 Clermont-Ferrand, France

## Introduction

Les maladies artérielles sont aujourd'hui un enjeu majeur dans la recherche clinique. De nombreux dispositifs médicaux ont été développés pour traiter les accidents cardio-vasculaires comme les stents, appelés endoprothèses coronaires. Le suivi et le diagnostic s'effectuent grâce à des systèmes d'imagerie, tels que la tomographie par cohérence optique (OCT). Les images sont obtenues par les interactions entre la lumière produite par la sonde OCT et les tissus biologiques.

La modélisation proposée envisage le comportement de l'imagerie OCT avec la structure artérielle, une plaque athéromateuse et une endoprothèse coronaire pour mieux comprendre cette modalité.

## Matériels et méthodes

La méthode de Monte Carlo est une méthode fréquemment utilisée afin de modéliser la propagation de la lumière dans les tissus biologiques [1] [2]. Cette méthode présente de nombreux avantages qui justifient ce choix pour la résolution de l'équation de transfert radiatif, comme la modélisation des phénomènes de diffusion, d'absorption, de réflexion et de fluorescence. La représentation statistique de la physique des rayonnements permet un suivi des photons, exploitable pour la mesure d'observables. La méthode de Monte Carlo repose donc sur des notions de probabilités.

Pour une suite de variables aléatoires  $(X_n)$  avec  $n \in \mathbb{N}$ , les résultats des calculs  $Y_n$  se rapprochent du comportement espéré lorsque le nombre  $n$  augmente. Ainsi, le résultat global est égal à l'espérance si le nombre de tirage aléatoire est infini (1).

(1)

avec -

L'artère coronaire est représentée par trois couches : l'intima, la média et l'adventice. La pathologie ischémique est liée à la présence d'une plaque d'athérome contre la paroi artérielle. Chaque élément du modèle est décrit notamment par les coefficients de réfraction, de diffusion et d'absorption. La définition des équations et des paramètres physiques est issue de la littérature et des extrapolations ont permis d'estimer les valeurs utiles dans la bande de longueurs d'onde appliquée dans l'OCT [3].

Le nombre de photons fixant la qualité de l'image, un minimum de  $10^6$  photons est nécessaire pour avoir des résultats fiables. Pour chaque photon, la procédure implémentée en C++ est réitérée avec perte d'énergie jusqu'à la mort de ce photon.

## Résultats

La modélisation fournit des résultats proches de la réalité en un temps inférieur à la dizaine de secondes pour  $10^6$  photons. Une image simulée, pour un modèle d'artère coronaire avec un athérome et un stent, est présentée figure 1. L'atténuation par l'athérome et les cônes d'ombre des struts du stent sont observables.

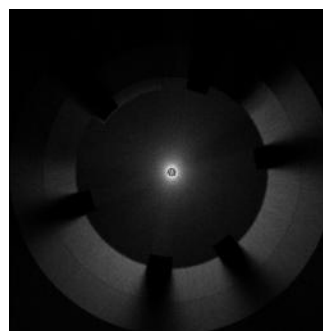


Figure 1: Résultat de la modélisation pour un modèle d'artère coronaire pathologique.

## Discussion

La modélisation fournit des résultats préliminaires semblables à la réalité avec la présence d'artéfacts caractéristiques aux images par tomographie par cohérence optique. La qualité des résultats est principalement dépendante des paramètres physiques et biologiques des éléments du modèle. Il est donc indispensable d'affiner ces données pour améliorer les résultats obtenus.

Des tests sur différents modèles de fantômes sont en cours de réalisation et la modélisation doit être améliorée en ajoutant la fluorescence.

## Références

1. L. Wang et al., Comput Methods Programs Biomed, 47(2):131-46, 1995.
2. E. Péry et al., J Biomed Opt, 14(2):024048, 2009
3. X. Li. et al., Appl Spectrosc, 69(5):635-640, 2015.

# SIMULATION DES LÉSIONS THERMIQUES INDUITES PAR HIFU DANS LES ORGANES MOBILES ET ELASTIQUES

Elodie Cao (1), Paul Greillier (1), Jade Robert (1), Francis Bessière (1,2), Raphaël Loyet (1),  
Françoise Chavrier (1), Jean-Louis Dillenseger (3), Cyril Lafon (1)

1. LabTAU, INSERM, Centre Léon Bérard, Université Lyon 1, Univ Lyon, F-69003, LYON, France;

2. Hospices Civils de Lyon, Hôpital Cardiovasculaire Louis Pradel, Lyon, France;

3. Univ Rennes, Inserm, LTSI - UMR 1099, F-35000 Rennes, France.

## Introduction

Les ultrasons focalisés de haute intensité (HIFU) sont maintenant utilisés en routine clinique pour traiter diverses pathologies. Le traitement rapide et précis de cibles mobiles demeure cependant problématique. Pour le traitement du foie, par exemple, il a été montré que le mouvement respiratoire impacte fortement la qualité des traitements HIFU [1]. Pour gagner en efficacité, des modèles numériques plus complexes, prenant en compte la mobilité du foie durant le traitement, ont été développés [2]. Mais, pour le traitement de certaines pathologies cardiaques, la prise en compte des déformations élastiques de la cible nécessite un modèle numérique plus sophistiqué. Notre objectif est de présenter un modèle de simulation des lésions thermiques produites par HIFU sur un organe soumis à des mouvements rapides et à des déformations élastiques. Une application de ce modèle est réalisée en simulant un échauffement induit par une sonde transoesophagienne HIFU [3] sur deux zones de la paroi myocardique d'un cœur battant.

## Méthodes

Le modèle de cœur battant est obtenu à partir de données de tomodensitométrie 4D d'un cœur humain sain. Le fantôme de simulation est extrait par segmentation en régions finies des différents tissus. Pour prendre en compte les mouvements de compression, dilatation et distorsion du myocarde, les déplacements sont obtenus par recalage non-rigide d'images entre la phase initiale et chacune des 19 autres phases d'un cycle cardiaque. La source ultrasonore se compose d'un transducteur sphérique tronqué de 3 cm<sup>2</sup>, fonctionnant à 3MHz, positionnée dans l'œsophage en regard du cœur [3]. Deux zones du cœur sont ciblées : le nœud auriculo-ventriculaire (NAV), sujet à d'importantes déformations, et l'apex, moins mobile. Elles sont soumises à 10 secondes de tirs continus à une puissance acoustique de 60W. Les simulations sont effectuées avec et sans mouvement.

Le champ ultrasonore est calculé par la méthode de l'intégrale de Rayleigh en milieu hétérogène. Le calcul de la carte de température utilise la discrétisation en volumes finis de la Bio Heat Transfer Equation (BHTE) sur un maillage tridimensionnel non-orthogonal, lisse et structuré, à cellules hexaédriques. La partie spatiale du terme de diffusion de l'équation est résolue sur un

système de coordonnées curvilignes s'adaptant au maillage. Les autres termes de l'équation sont évalués au centre de la cellule. L'apport de chaleur dû aux ultrasons, correspondant à la composante source de la BHTE, est obtenu par interpolation linéaire au centre des cellules, à partir du champ ultrasonore. Les algorithmes de champ et de BHTE sont respectivement parallélisés sur le GPU et le CPU afin d'accélérer le calcul.

## Résultats

La température moyenne atteinte, sans mouvement, est de 52°C dans les deux zones visées. Avec le mouvement, la température moyenne reste à 52° dans l'apex, mais diminue à 43°C dans le NAV. La zone d'échauffement du tissu apparaît plus étalée dans les simulations avec mouvement. Cette différence est plus importante dans le NAV que dans l'apex, moins mobile.

## Discussion

Ce modèle permet de prédire les effets du mouvement et de la déformation élastique de la cible sur les traitements par HIFU. Des expérimentations sont en cours pour valider ces résultats numériques. La différence des effets observés entre l'apex et le NAV démontre l'utilité d'un tel modèle pour adapter les protocoles de traitement en fonction des zones ciblées et obtenir des lésions thermiques suffisantes.

## Références

1. N'Djin WA et al, PLoS One, 10(9):e0137317, 2015.
2. Schwenke M et al, IEEE Trans Biomed Eng, 64(7):1455-1468, 2017.
3. Bessière F et al, Ultrasound Med Biol, 42(8):1848-61, 2016.

## Remerciements

Ce travail a été financé par les projets ANR-15-CE19-0016-SATURN et ANR-17-CE19-0017 CHORUS de l'Agence National de la Recherche.

# LA QUESTION DE LA PULSATILITE DE L'ÉCOULEMENT SANGUIN LORS D'UNE CHIRURGIE CARDIAQUE AVEC CIRCULATION EXTRA-CORPORELLE : UN DEFI TECHNOLOGIQUE ?

Agnès Drochon

UMR 7338 « BioMécanique et BioIngénierie, BMBI » Université de Technologie de Compiègne

## Contexte

Cette réflexion a été initiée par le groupe de chirurgiens cardiaques du CHU d'ANGERS : Pr Ch. BAUFRETON et Dr O. FOUQUET.

L'objet de cette présentation sera de faire le point sur les nombreuses questions qui font encore débat concernant les conditions d'écoulement du sang lors d'une circulation extra-corporelle (CEC) en chirurgie cardiaque.

Bien que la première CEC ait été réalisée en 1953 par John Gibbon, la nécessité d'un écoulement pulsé reste encore l'objet de controverses dans la littérature. Cette absence de conclusions claires peut être due à la difficulté de quantifier la pulsatilité et de comparer les formes des ondes de pression et de débit d'une étude à l'autre, à la difficulté de reproduire au plus près l'onde de pression physiologique par des pompes, aux conditions dans lesquelles les écoulements sont testés (banc expérimental, études animales, analyses des effets de la pulsatilité lors d'interventions avec les patients, simulations numériques, ...). [1] Par ailleurs la pulsatilité délivrée en sortie de pompe est amortie tout au long du circuit de CEC, selon les différents éléments qui composent ce circuit (tubulures, canules, oxygénateur, réservoirs, ...). [2]

## Les avantages et les inconvénients de l'écoulement pulsé

Les défenseurs de l'écoulement pulsé argumentent qu'il transmet davantage d'énergie cinétique au sang, ce qui améliore la microcirculation, le flux lymphatique et la perfusion tissulaire, tandis que l'absence de pulsatilité induit une vasoconstriction des vaisseaux et donc une augmentation des résistances périphériques et une moins bonne perfusion de tous les organes vitaux (cerveau, reins, viscères, foie, ...) [3, 4]. De plus, il a été rapporté que le flux pulsé contribue à réduire la réaction inflammatoire due à la CEC [5].

D'un autre côté, l'utilisation des pompes pulsées présente une certaine complexité technique, et leur coût est élevé. L'écoulement pulsé est susceptible d'engendrer plus de turbulences, ainsi que des vitesses et des contraintes maximales plus élevées. Il peut en résulter une augmentation de l'hémolyse ou la rupture de plaques d'athérome [6].

Enfin, d'autres études concluent que l'écoulement pulsé n'est pas nécessaire car il n'apporte pas

spécialement d'amélioration, ni sur la réponse inflammatoire, ni sur la perfusion des organes [7].

## Parmi les questions ouvertes

La quantification de la pulsatilité, surtout en situation réelle d'intervention chirurgicale. Différents index sont utilisés, par exemple l'index de pulsatilité IP (pour une quantité X, on forme le terme  $(X_{\max} - X_{\min}) / X_{\text{moyen}}$ , où  $X_{\max}$ ,  $X_{\min}$  et  $X_{\text{moyen}}$  sont les valeurs maximale, minimale et moyenne de la grandeur X sur une période). Un autre index, nommé EEP, pour « Energy Equivalent Pressure », est utilisé depuis longtemps [8].

$$EEP = \int QPdt / \int Qdt \quad (1),$$

où Q(t) est le débit de l'écoulement et P(t) la pression.

Dans le cas particulier d'un écoulement non pulsé, EEP est simplement égal à la pression moyenne dans le vaisseau. Si l'écoulement est pulsé, EEP sera supérieur à la pression moyenne. La contribution de la déformabilité de la paroi des vaisseaux à l'interprétation de cet indice semble être ignorée dans la littérature.

Pour la microcirculation, certains groupes utilisent la méthode SDF (Side Dark Field Imaging) (méthode de vidéo-microscopie) [9]. Cette méthode n'a pas permis jusqu'à lors de mettre en évidence avec certitude le caractère pulsé de l'écoulement dans les microvaisseaux.

Enfin, une fois la pulsatilité de l'écoulement caractérisée, des études de mécanotransduction (flux, contraintes à la paroi des vaisseaux, réponses cellulaires et tissulaires) seraient nécessaires pour interpréter les observations physiologiques publiées dans la littérature.

## Références

1. Sunagawa et al. Expert Review of Medical Devices, 14 : 27-35, 2017.
2. Précis d'Anesthésie Cardiaque . Chap. 7. Circulation extra-corporelle en chirurgie cardio-vasculaire. <http://www.pac4.ch/Chapitre7/>
3. Salameh et al, Ann. Thorac. Surg., 99:192-199, 2015.
4. Koning et al., J. Appl. Physiol., 112 : 1727-1734, 2012.
5. O'Neil et al., Ann. Thorac. Surg., 94 : 2046-53, 2012.
6. Rees et al., Perfusion, 8: 459-469, 1993.
7. Voss et al., Eur. Jour. Cardio-Thor. Surg., 37 : 223-232, 2010.
8. Shepard et al., Arch. Surg., 93 : 730-740, 1966.
9. Elbers et al., Jour. Cardio Thor Vasc Anesthesia, 25(2): 250-255, 2011.

# GENERATION D'UN FANTOME DE GENOU HUMAIN POUR LA VALIDATION DE METHODES DE DECOMPOSITION EN CT SPECTRAL

Suzanne Bussod \*<sup>1</sup>, Juan Perez Juste Abascal<sup>2</sup>, Nicolas Ducros<sup>3</sup>, Cécile Olivier<sup>4,5</sup>, Salim Si-Mohamed<sup>6,7</sup>, Philippe Douek<sup>6,8</sup>, Christine Chappard<sup>9</sup>, Françoise Peyrin \*

2

<sup>1</sup> Univ. Lyon, INSA Lyon, Université Claude Bernard Lyon 1, UJM-Saint Etienne, CREATIS CNRS UMR 5220, Inserm U1206 (CREATIS) – CNRS : UMR5220, Inserm – France

<sup>2</sup> Centre de Recherche en Acquisition et Traitement de l'Image pour la Santé (CREATIS) – Université Claude Bernard Lyon 1, Institut National des Sciences Appliquées de Lyon, Université Jean Monnet [Saint-Etienne], Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale : U1206, Centre National de la Recherche Scientifique : UMR5220 – France

<sup>3</sup> Univ. Lyon, INSA Lyon, Université Claude Bernard Lyon 1, UJM-Saint Etienne, CREATIS CNRS UMR 5220, Inserm U1206 (CREATIS) – CNRS : UMR5220, Inserm : U1206 – 7 avenue Jean Capelle, Bat Blaise Pascal, 69621 Villeurbanne Cedex, France

<sup>4</sup> Centre de recherche en applications et traitement de l'image pour la santé (CREATIS) – Inserm : U1044, INSA - Institut National des Sciences Appliquées – 7 avenue Jean Capelle, Bat Blaise Pascal, 69621 Villeurbanne Cedex, France

<sup>5</sup> European Synchrotron Radiation Facility (ESRF) – ESRF – 6 rue Jules Horowitz BP220 38043 GRENOBLE CEDEX, France

<sup>6</sup> Hospices Civils de Lyon (Radiology Department) – Hospices Civils de Lyon – 69677 Bron, France

<sup>7</sup> Centre de recherche en applications et traitement de l'image pour la santé (CREATIS) – Université Claude Bernard Lyon 1, Hospices Civils de Lyon, Institut National des Sciences Appliquées, Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale : U1044, Centre National de la Recherche Scientifique : UMR5220 – 7 avenue Jean Capelle, Bat Blaise Pascal, 69621 Villeurbanne Cedex, France

<sup>8</sup> Centre de Recherche en Acquisition et Traitement de l'Image pour la Santé (CREATIS) – Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale - INSERM, Université Claude Bernard - Lyon I, CNRS : UMR5220 – 69621 Villeurbanne, France

<sup>9</sup> Bioingénierie et Bioimagerie Ostéo-Articulaire (B2OA) – UMR CNRS 7052, Université Denis Diderot, PRES Sorbonne Paris Cité – 10 avenue de Villemin 75010 Paris, France

L'arthrose (OA) est la plus commune des maladies dégénérative des articulations avec pour conséquences une atteinte du cartilage et des modifications de l'os. L'os est bien visible et peut être analysé en scanner mais pas le cartilage. Une nouvelle méthode : la tomo-graphie spectrale à comptage photonique (SPCCT) fournit des données avec une dimension énergétique qui permet une identification des matériaux. Cette modalité nécessite une phase de traitement des données appelée décomposition en matériaux, qui est un problème inverse non linéaire mal posé. Nous

---

\*Intervenant

proposons ici un fantôme numérique réaliste du genou humain pour évaluer la faisabilité de la SPCCT pour l'OA et tester des algorithmes de décomposition.

**Mots-Clés:** Tomographie spectrale, décomposition de matériaux, fantôme de genou, arthrose



# Drug delivery

# DELIVRANCE CIBLEE DU NAB-PACLITAXEL PAR SONOPORATION DANS UN MODELE MURIN DE CANCER PANCREATIQUE

Diane Bressand \*<sup>1</sup>, Anthony Novell<sup>2</sup>, Alban Girault<sup>3</sup>, William Raoul<sup>3</sup>,  
Gaëlle Fromont<sup>4</sup>, Jean-Michel Escoffre<sup>† 2</sup>, Ayache Bouakaz<sup>5</sup>, Thierry  
Lecomte<sup>6</sup>

<sup>1</sup> iBrain – UMR 1253, Université de Tours, Inserm, Tours, France, Service de Gastro-entérologie et de  
Cancérologie Digestive, CHRU de Tours, Tours, France – France

<sup>2</sup> iBrain – UMR 1253, Université de Tours, Inserm, Tours, France., UMR 1253, Université de Tours,  
Inserm, Tours, France – France

<sup>3</sup> GICC – Université de Tours, EA 7501, Team PATCH, Tours, France – France

<sup>4</sup> N2C – UMR 1069, Nutrition, Croissance, Cancer, Université de Tours, Inserm, Tours, France, Service  
d'Anatomie Pathologique et de Cytologie, CHRU de Tours, Tours, France – France

<sup>5</sup> iBrain – UMR 1253, Université de Tours, Inserm, Tours, France., Service d'Obstétrique, de  
Gynécologie et de Médecine, CHRU de Tours, Tours, France, UMR 1253, Université de Tours, Inserm,  
Tours, France – France

<sup>6</sup> GICC – Université de Tours, EA 7501, Team PATCH, Tours, France, Service de Gastro-entérologie et  
de Cancérologie Digestive, CHRU de Tours, Tours, France – France

## Contexte & Objectifs

La combinaison de microbulles de gaz avec les ultrasons (*i.e.*, sonoporation) fournit des alternatives sans précédent pour la délivrance ciblée de molécules thérapeutiques [1,2]. Ce terme dénote un processus selon lequel l'activation de ces microbulles par ultrasons à proximité de vaisseaux sanguins, augmente transitoirement leur perméabilité et permet ainsi l'extravasation de molécules thérapeutiques dans les tissus pathologiques sans effets délétères sur les tissus sains. L'objectif de ce travail est de valider le bénéfice thérapeutique de la délivrance ciblée du Nab-Paclitaxel par sonoporation dans un modèle murin de cancer pancréatique.

## Méthodologie

Des cellules humaines de cancer pancréatique (BxPC3) sont injectées en sous-cutanée dans le flanc de souris nude afin d'induire une tumeur. Lorsque le volume des tumeurs atteint 50 mm<sup>3</sup>, le traitement est initié comme suit : une injection intra-veineuse de Nab-paclitaxel (5 ou 20 mg/kg) est suivie par une injection intra-veineuse de microbulles (70 mL BG8214 et BG8610, Bracco Research, Suisse). Les tumeurs sont ensuite exposées aux ultrasons (transducteur mono-élément non focalisé de 1 MHz, 100 ms PRP, 40% DC, 400 kPa, 3 min). Le volume des tumeurs est mesuré par imagerie ultrasonore au cours du protocole thérapeutique.

---

\*Intervenant

<sup>†</sup>Auteur correspondant: jean-michel.escoffre@univ-tours.fr

## Résultats

L'exposition des tumeurs aux ultrasons après injection i.v. de microbulles n'a pas d'effet sur la croissance des tumeurs (Figure 1). En revanche, l'administration i.v. du Nab-paclitaxel à une dose de 5 ou 20 mg/kg induit une diminution significative du volume tumoral d'un facteur 1.5 ou 5, respectivement.

La délivrance d'une dose de Nab-paclitaxel de 5 ou 20 mg/kg par sonoporation accentue la diminution du volume tumoral en comparaison avec l'administration systémique de la chimiothérapie aux mêmes doses thérapeutiques. La potentialisation de l'effet thérapeutique d'une dose de 20 mg/kg du Nab-paclitaxel par sonoporation inhibe totalement la croissance tumorale. Le bénéfice thérapeutique de approche est confirmée par l'étude anatomopathologique des tumeurs (Figure 2).

## Références

- Lammertink B et al, Front Pharmacol, 6 :138, 2015.
- Escoffre JM et al, Mol Pharm, 10 :2667, 2013.

## Remerciements

Ce travail a été financé par le CANCEEN (DB), le FARE-SNFGE (TL), l'Inserm (AB) et le Cancéropôle Grand-Ouest (TL)

**Mots-Clés:** Abraxane, cancer pancréatique, sonoporation, ultrasons, microbulle

# PROJET 3BOPUS : VERS L'OUVERTURE DE BARRIERE HEMATO-ENCEPHALIQUE PAR ULTRASONNS TRANSCRANIENS CHEZ L'HOMME

Pauline Agou (1), Gaelle Thomas (2), Tanguy Chabrol (3), Anthony Novell (4), Alexandre Durand (5), Romuald Ginhoux (5), Laurent Goffin (2), Florent Nageotte (2), Laurent Barbé (2), Jack Foucher (2), Michel Bottlaender (1), François Berger (3), Benjamin Maurin (5), Michel Berg (5), Erik Dumont (6), Jonathan Vappou (2), Benoit Larrat (1)

1. NeuroSpin / Joliot / DRF / CEA, Université Paris Saclay, 91191 Gif sur Yvette; 2. ICube, UMR 7357, CNRS - Université de Strasbourg, 1 place de l'Hôpital, 67091 Strasbourg; 3. BrainTech Lab INSERM U1205, Université Grenoble Alpes, 23 avenue Maquis du Grésivaudan, 38700 La Tronche ; 4. IR4M UMR 8081 CNRS, Université Paris Sud, 4 place du Général Leclerc 91401 Orsay ; 5. Axilum Robotics, 21 avenue de l'Europe, 67300 Schiltigheim; 6. Image Guided Therapy, 4 allée du Doyen Georges Brus, 33600 Pessac.

## Introduction

Les pathologies cérébrales, telles que les tumeurs et les maladies neurodégénératives, représentent un défi sociétal et médico-économique majeur. L'efficacité des molécules thérapeutiques disponibles demeure très limitée. La principale raison est l'existence des barrières hémato-encéphalique (BHE) et hémato-tumorale qui restreignent fortement le passage du sang vers le tissu cérébral. L'utilisation combinée d'ultrasons focalisés et de microbulles permet d'augmenter fortement la pénétration d'agents actifs dans le cerveau, avec une innocuité et un effet thérapeutique établis dans de nombreux modèles animaux. Chez l'homme, plusieurs essais cliniques prometteurs ont été initiés, mais les dispositifs utilisés sont soit invasifs, soit non optimisés pour l'ouverture de la BHE. Le projet 3BOPUS vise à rendre cette technologie plus répétable et plus accessible afin d'en faire une option thérapeutique réaliste pour les cliniciens comme pour les patients. Dans cette optique, nous développons un nouveau dispositif reposant sur un transducteur ultrasonore extracorporel, sous assistance robotisée neuronaviguée (Figure 1).

## Méthodes

Jusqu'à présent, les travaux de notre consortium portent sur trois axes principaux : 1/ la mesure in vitro de l'atténuation acoustique du crâne et des cheveux humains dans la gamme 200-1000 kHz ; 2/ l'amélioration de la sécurité du patient par suivi de la cavitation des microbulles mis en place sur nos expériences in vivo sur le rongeur et le primate non humain ; 3/ le développement d'une solution robotique et d'un neuronavigateur dédiés.

## Résultats

Nos résultats montrent que la transmission acoustique à travers différents échantillons de cheveux passe de 30% à 85% lorsque l'eau dans laquelle ils baignent passe de 100% à moins de 20% d'oxygène dissout. Les signaux de cavitation ont été utilisés en temps réel pour calculer des indicateurs d'efficacité et de sécurité utilisés dans une boucle de rétro-action. Nous montrons que

l'évolution intra-pulse de la cavitation ultra-harmonique est un bon marqueur prédictif de l'apparition de dommages tissulaires. Nos simulations cinématiques montrent que le bras robotisé et la configuration mécanique retenus permettent d'atteindre plus de 90% des cibles intra-craniennes.



Figure 1: Dessin de principe du dispositif en cours de développement.

## Discussion

Contrairement aux interventions d'ablations thermiques qui nécessitent un suivi de la dose thermique déposée pendant l'intervention, l'ouverture de BHE par ultrasons ne tire pas profit d'une IRM simultanée. Sortir de l'IRM permet de libérer les contraintes d'espace, de compatibilité magnétique et de disponibilité de l'imageur. En outre, la précision de la neuronavigation devrait suffire car l'erreur de position tolérable est plus grande pour la délivrance de médicaments que pour une ablation irréversible. L'utilisation de l'assistance robotique permettra d'améliorer la précision du positionnement, de suivre les mouvements du patient et d'effectuer des trajectoires complexes prédéfinies en fonction de l'imagerie pré-opératoire. Le choix d'une fréquence basse facilite le passage du crâne avec une moindre atténuation et aberration du faisceau. En outre, l'élargissement de tache focale qui en résulte est bénéfique pour traiter des maladies souvent peu focales. Enfin, la sécurité peut être assurée par des capteurs de cavitation et un traitement de signal adapté. Ces compromis technologiques retenus doivent néanmoins encore être combinés et validés in vivo.

# DNA DAMAGE IN MURINE MAMMARY TUMOR CELLS INDUCED BY DOXORUBICIN AND UNSEEDED CONTROLLED STABLE CAVITATION

Cécile Fant (1), Adeline Granzotto (2), Thaïs Moraes-Vieira (1), Jean-Louis Mestas (1), Jacqueline Ngo (1), Maxime Lafond (1), Cyril Lafon (1), Nicolas Foray (2), Frédéric Padilla (1,3,4)

1. LabTAU, INSERM, Centre Léon Bérard, Université Lyon 1, Univ-Lyon, F-69003, LYON, France

2. INSERM, U1052 unit, Groupe de Radiobiologie, 69008, LYON, France

3. Focused Ultrasound Foundation, Charlottesville, VA, USA.

4. Departement of Radiation Oncology, University of Virginia, Charlottesville, VA, USA

## Introduction

Doxorubicin induces cell cytotoxicity through DNA damage [1]. Recent studies have reported the occurrence of DNA damage in different cell lines exposed to ultrasound [2][3]. We hypothesized that a combined treatment with doxorubicin and stable cavitation would lead to increased number of DNA damage and would impact cell viability. The primary objective of this study was to evaluate the impact of such combined treatment in 4T1 murine mammary tumor cells *in vitro*, and to investigate the possible causative mechanisms. The secondary objective was to assess the impact of these DNA damage on cell proliferation and cell viability.

## Methods

4T1 cells, a mouse mammary cancer cell line, were treated by pulsed cavitation ultrasound generated by a confocal device, working at 1.1 MHz, PRF 25 HZ, DC = 15 %. The control system is based on two distinct modes: a high-power mode (peak negative pressure PNP 6.7MPa), aimed at creating a population of bubbles, and a low-power mode (PNP 2.9MPa) aimed at maintaining their oscillations. The cells were treated *in vitro*, with or without addition of doxorubicin (DOX). After treatment, the occurrence of DNA damage (double-strand breaks DSB) was assessed by scoring  $\gamma$ -H2AX foci number in cell nuclei by immunofluorescence. This assessment was performed 10 min, 1h, 4h and 24h after treatment. The role of a bystander effect through calcium release by sonicated cells was assessed by exposing untreated cells to the supernatant of sonicated cells. To investigate specifically the role of calcium release, a similar experiment was conducted with the addition of a calcium chelator, the phosphate-buffered saline solution (PBS), into the supernatant. Each experiment was repeated 2 to 3 times.

Cell viability and cell proliferation were assessed at 72h post treatment using respectively flow cytometry and cell counting.

## Results

Cells treated with stable cavitation, with or without DOX, elicited double strand breaks (DSB), starting 10

minutes after sonication, and still present at 24h. However, without DOX, these DSB did not impact cell proliferation nor viability. The combination of stable cavitation and DOX led to premature DSB from 1h post treatment, with 40 % of cell with  $\gamma$ -H2AX foci at 1h, whereas DSB were observable only from 4h post treatment in cells treated with DOX alone. Significant decrease of cell viability and proliferation was observed for the US+DOX group compared to the DOX group. The exposure of untreated cells to sonicated cells supernatant showed 40% of untreated cells with  $\gamma$ -H2AX foci from 10 min after exposure to the supernatant. The addition of PBS in the supernatant prevented the occurrence of  $\gamma$ -H2AX foci, validating the hypothesis that the formation of  $\gamma$ -H2AX foci in non-sonicated cells was due to a bystander effect, likely mediated by calcium signaling.

## Discussion

We investigated DNA damage after combined DOX and stable cavitation treatment. A combined treatment of 4T1 tumor cells with DOX and controlled stable cavitation led to premature DSB induced by a bystander effect through calcium signaling, and to a significant decreases in cell proliferation and viability compared to a treatment with DOX or ultrasound alone. DOX treatment induced DSB from 4h post treatment, as expected. Ultrasound treatment led to reversible DSB, observed 10 minutes to 24h after treatment, with no impact on cell viability or proliferation. These data suggest that cavitation ultrasound may potentiate the action of DOX through induction of DSB, therefore increasing the cytotoxicity of DOX.

## References

1. Wang et al, J Bio Chem, 279:25535-25543, 2004
2. Furusawa et al, PLoS ONE, 7(1):e29012, 2012
3. Kubota et al, ChemPhysChem, 18:959-964, 2017

## Acknowledgements

This work was supported by the LabEx DEVweCAN (ANR-10-LABX-0061) of the University of Lyon, within the program "Investissements d'Avenir" (ANR-11-IDEX-0007) operated by the French National Research Agency (ANR).

# EFFECTS OF ELECTRIC PULSES ON ENDOTHELIAL JUNCTIONS OF BLOOD VESSELS : LONGITUDINAL BIPHOTON MICROSCOPY IMAGING

Elisabeth Bellard (1), Bostjan Markelc (1, 2), Tanja Dolinsek (2), Sandrine Pelofy (1), Gregor Sersa (2), Marie-Pierre Rols (1), Justin Teissie (1), Maja Cemazar (2, 3) and Muriel Golzio (1)

1. Institut de Pharmacologie et Biologie Structurale, IPBS, Université de Toulouse, CNRS, UPS, BP 64182, 205 route de Narbonne, F-31077, Toulouse, France ; 2. Department of Experimental Oncology, Institute of Oncology Ljubljana, Zaloska 2, SI-1000 Ljubljana, Slovenia ; 3. University of Primorska, Faculty of Health Sciences, Polje 42, SI-6310 Izola, Slovenia

## Introduction

Electropermeabilization/electroporation (EP), a physical method that increases cell membrane permeability by applying electric pulses to cells and thus enables the delivery of therapeutic molecules, is nowadays used in treatment of tumours in electrochemotherapy (ECT) [1] and gene electrotherapy (GET) [2]. *In vivo* EP also has blood flow modifying effects [3]. Indeed, the diameter of blood vessels exposed to EP is immediately reduced resulting in blood flow abrogation, followed by an increase in vascular permeability. The main cause of this increased permeability remains unknown. Here, we used fluorescent multiphoton intravital microscopy to investigate whether the *in vivo* effects of EP on permeability of blood vessels are linked to the permeabilization of endothelial cells' membrane and/or disruption of cell-to-cell junctions.

## Methods

To investigate the effects of EP on a spatio-temporal level, we used a dorsal window chamber model in mice coupled with multiphoton microscopy 3D imaging (Zeiss 7MP). Clinically validated EP parameters were used and behavior of cell-to-cell junctions, blood vessels leakage and endothelial cells permeabilization after electroporation were acquired in time. First, to visualize endothelial cell-to-cell junctions we injected intravenously 25 µg of Alexa 647- PECAM-1 (CD31) 4 hours before acquisition. Similarly, to visualize blood vessels leakage and permeabilized cells, we injected intravenously fluorescently labeled dextran (70 kDa FD) and propidium iodide (PI), respectively, before acquisition and EP. We quantified the volume of labelled cell-to-cell junctions by the use of iso-surfaces in Imaris software (Bitplane) whereas permeability of blood vessels for 70 kDa FD was performed by measurement of fluorescence intensity outside the vessels. Finally, we determined the lifetime of Alexa 647 fluorochrome by a one component analysis of 3D fluorescence lifetime imaging (FLIM) of blood vessels.

## Results

After EP, we observed a constriction of blood vessels correlated with the change in the shape of endothelial cells. This was followed by an increase in permeability

of blood vessels for 70 kDa FD associated with an important decrease in the volume of labelled cell-to-cell junctions. We observed huge differences in leakage depending on restoration or not of cell-to-cell junctions, i.e. return or no return of labelling (50/50% of mice). The low number of permeabilized endothelial cells (PI+) after EP could not explain these differences in leakage. So, we hypothesized that, after EP, disruption of cell-to-cell junctions triggered the platelet activation cascade preventing the long term permeabilization. Using a bright field microscopy with a larger field of view, we showed that labelled platelets formed clots at the blood vessel wall after EP. Interestingly, the areas associated to platelets aggregation were also the areas with an increased leakage of 70 kDa FD.

## Discussion

By means of 3D multiphoton microscopy and FLIM, our findings showed for the first time *in vivo* at the level of single endothelial cell that alteration in cell-to-cell junctions was the main mechanism responsible for the observed increased permeability of blood vessels for macromolecules. Additionally, we showed that constriction of blood vessels after EP was correlated with the change in the shape of endothelial cells. Moreover, substantial disruption of cell-to-cell junctions after EP that we have observed trigger the platelet activation cascade, which bears importance especially in the case of DNA vaccination [4].

## References

1. Mali, B. et al, Eur J Surg Oncol, 39:4-16, 2013.
2. Chabot, S. et al, Curr Drug Metab, 14:300-308, 2013.
3. Bellard, E. et al, J Control Release, 163:396-403, 2012.
4. Markelc, B. et al, J Control Release, 276:30-41, 2018.

## Acknowledgments

The authors acknowledge the financial support from the Slovenian Research Agency (program no. P3-0003 and P4-0053), from "Plan Cancer (Escapads) and from the Midi-Pyrenees Region (Grant 11052700). The authors also acknowledge the "Toulouse Réseau Imagerie and Anexplo" core IPBS facilities support (Genotoul, Toulouse, France) which was supported by the Association Recherche Cancer (n°5585), Region Midi Pyrenees (CPER) and Grand Toulouse cluster.

# LOCAL IMMUNOMODULATION COMBINED TO RADIOFREQUENCY ABLATION RESULTS IN A COMPLETE CURE OF LOCAL AND DISTANT COLORECTAL CARCINOMA IN MICE

Katia Lemdani 1, 2,3, Nathalie Mignet 3, Vincent Boudy 3, 6, Johanne Seguin 3, 8, Edward Oujagir 3, Olivia Bawa 7, Frédérique Peschaud 1, 2, Jean-François Emile 1, 5, Claude Capron 1, 4†, Robert Malafosse 1, 2\*†

1 EA4340 BCOH, Versailles University, Paris-Saclay University, Boulogne-92100, France.

2 Department of Surgery and Oncology, CHU Ambroise Paré, Assistance Publique-Hôpitaux de Paris.

3 CNRS, UTCBS UMR 8258, Paris Descartes University, Sorbonne-Paris-Cité, INSERM, UTCBS U1267, Unité de Technologies Chimiques et Biologiques pour la Santé (UTCBS), F-75006 Paris, France;

4 Immunology and hematology Department, Ambroise Paré Hospital Boulogne-92100, France

5 Pathology Department, Ambroise Paré Hospital, AP-HP, Boulogne-92100, France.

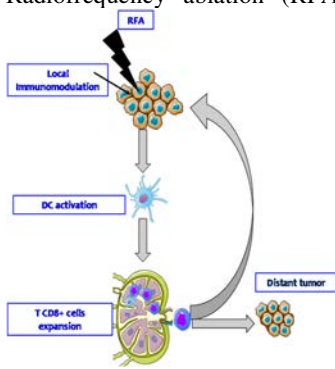
6 Innovation in Pharmaceutical Formulation Department, Agence Générale des Equipements et des Produits de Santé (AGEPS), AP-HP, 7, rue du Fer à moulin, F-75005 Paris, France.

7 Unité de pathologie expérimentale de l'IRCIV, Gustave Roussy, Villejuif 94805, France.

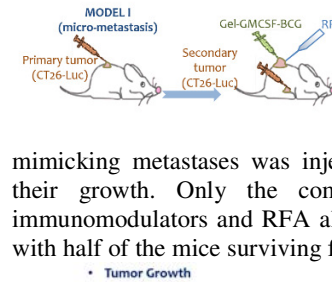
8 Optical imaging platform LIOPA, PIV, Faculty of Pharmacy, Paris Descartes University, Paris, France

## Introduction

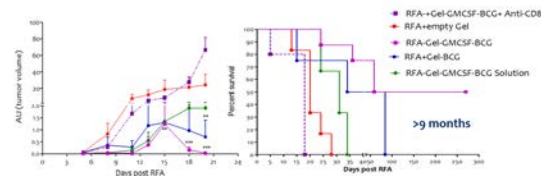
Radiofrequency ablation (RFA) of colorectal liver metastases activates a specific T-cell response that is ineffective in avoiding recurrence. Recently, local immunomodulation gained interests as a way to improve the immune response<sup>1</sup>. We were interested in improving the priming of the RFA immune response and propose a curative treatment of colorectal cancer (CRC) based on antitumor immunity<sup>1</sup>.



## Result

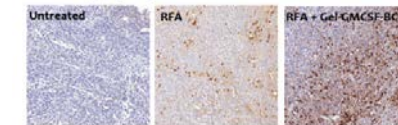


The primary tumor was treated with RFA followed by gel injection. A secondary tumor mimicking metastases was injected and followed for their growth. Only the complete treatment with immunomodulators and RFA allowed a complete cure with half of the mice surviving for more than 9 months.



This highly promising result was secured by an

### Tumor lymphocytes infiltration



important infiltration of lymphocytes within the tumor<sup>2</sup>.

## Conclusion

Remarkably, RFA and in situ immunomodulation with GM-CSF-BCG hydrogel induced complete cure of microscopic secondary lesions in mice, related to a strong specific immune response. Increasing the in situ priming response of radiofrequency ablation provides effective adjuvants to induce an abscopal effect<sup>3</sup>.

## Methods

Adhesive hydrogel-based on poloxamers which undergo a phase transition upon temperature change was chosen in order to develop a local formulation for the delivery of biotherapeutics<sup>2</sup>. Following injection, the gel formed at the site of injection securing a sustained effect. CT26 cell lines (ATCC) were cloned with luciferase gene using a lipid-transfection protocol. The thermogel incorporating GM-CSF and BCG was injected in mice bearing CT26-luc+cells post-tumor ablation with RFA. Tumor growth was followed by bioluminescence (Biospace Lab Camera) according to animal care ethical protocol. Lymphocyte infiltration was evaluated by flow cytometry.

<sup>1</sup> Den Brok et al. Cancer Res. 64, 4024, 2004.

<sup>2</sup> Galon et al. Science 313, 1960, 2006.

<sup>3</sup> Lemdani et al. Onco Immunol. 2018



# Thérapie et Guidage par Ultrasons



# CMUT PROTOTYPE FOR ULTRASOUND-GUIDED HIGH INTENSITY FOCUSED ULTRASOUND THERAPY

W. Apoutou N'Djin (1), Chris Bawiec (1), Alice Ganeau (1), Anaïs Nguyen (1), Loïc Daunizeau (1), Nicolas Guillen (2), Nicolas S n gond (3), Jean-Yves Chapelon (1)

1. LabTAU, INSERM, Centre Léon Bérard, Université Lyon 1, Univ Lyon, F-69003, Lyon, France;  
2. EDAP TMS, Vaulx-en-Velin, 69120, France ; 3. Vermon, Tours, 37038, France

## Introduction

The current trend toward the development of focal therapy strategies, with physical agents such as High Intensity Focused Ultrasound (HIFU), have brought additional challenges for spatial-temporal control of energy delivery [1-3]. Minimally-invasive endocavitary and interstitial Ultrasound-guided HIFU (USgHIFU) approaches are particularly concerned with the need for miniaturization and dual modalities (HIFU therapy / US imaging guidance). Capacitive Micro-machined Ultrasound Transducers (CMUTs) may play a role in the future development of HIFU devices, as they show some advantages over piezotechnologies (miniaturization, thermal robustness, broadband frequency) [4-8]. Presented here is an USgHIFU CMUT device developed in the context of endocavitary prostate ablation.

## Methods

The developed CMUT prototype was compatible with a dual-mode ultrasound platform (Vantage, Verasonics) for piloting HIFU and imaging modalities. A planar HIFU CMUT annular array (64-element,  $f = 3$  MHz) had a central space containing a 256-element linear imaging array ( $f = 7$  MHz). The CMUT rings were truncated in the width dimension making the total size of the array 57.5 mm long and 35 mm wide. The prototype included electronics (pre-amplifying, mixing, matching circuits) and water circulation circuit for acoustic coupling with target tissues. The potential of this planar CMUT design for dynamic HIFU and guidance has been investigated in simulation and experimentally (hydrophone, radiation force, imaging phantoms).

## Results

The planar HIFU CMUTs could focus dynamically over distances ranging from 3-7 cm, similarly to the piezo-based geometrically focused Focal One<sup>®</sup> system used in clinic for prostate therapy. The array produced over  $6\text{W}/\text{cm}^2$  surface acoustic intensity, compatible with thermal ablation. Increasing the DC bias voltage led to higher efficiencies ( $\eta = 30\% @ V_{DC} = 120\text{V}$ ). The imaging CMUT allowed forming extended images (depth: 10 cm; widths: 3.5/10 cm) with resolutions ranging 0.3-0.7 mm.

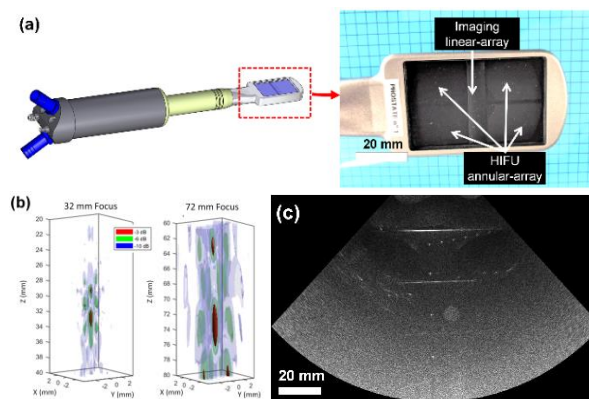


Figure 1: (a) USgHIFU CMUT prototype; (b) Ultrasound dynamic focusing over distances ranging from 3 to 7 cm with the HIFU CMUT annular-array (hydrophone measurements); (c) US imaging guidance (phantom).

## Discussion

CMUTs were successfully used to develop an endocavitary USgHIFU system. The full potential of this technology, especially the mid- and long- terms robustness of the CMUT cells for both for imaging and therapy, is under investigations.

## References

1. Crouzet et al. Current opinion in urology, 24(3), 225-230, 2014
2. van den Bos et al. European urology, 65(6), 1078-1083, 2014
3. Marra et al. World journal of urology, 1-18, 2019
4. Khuri-Yakub and Oralkan. J Micromech Microeng, 21:54004-14, 2011
5. Bayram et al. IEEE Trans Ultrason Ferroelectr Freq Control, 52:326-39, 2005
6. Yoon et al. IEEE Trans Ultrason Ferroelectr Freq Control, 63(12), 2150-2158, 2016
7. N'Djin et al. IEEE Trans Ultrason Ferroelectr Freq Control, 64:1245-60, 2017
8. Gross et al. IEEE Trans Ultrason Ferroelectr Freq Control, 62:1145-60, 2015

## Acknowledgements

Project supports: BPI (FUI, 2013), Labex DEVweCAN, Whitaker Foundation (2015), ANR (RHU, 2018).

# DOPPLER ULTRASONORE POUR LA MESURE DU DEBIT ET DE L'HEMATOCRITE DANS LE TRAITEMENT EXTRA-CORPOREL DU SANG

Baptiste Pialot (1,2), Jérémie Gachelin (1), Mickaël Tanter (2), Jean Provost (2), Olivier Couture (2)

1. Aenitis Technologies, Paris ; 2. Physique pour la médecine, INSERM, ESPCI Paris, CNRS, PSL Research University, Paris

## Introduction

Récemment, les techniques de traitement extra-corporel du sang se sont considérablement élargies avec l'émergence de la microfluidique en tant que nouveau support de manipulation<sup>1</sup>. Notamment, des dispositifs de fractionnement du sang utilisant la force de radiation ultrasonore sont actuellement en développement. De tels dispositifs fonctionnent à des débits relativement bas, en dehors de la gamme habituelle des débitmètres industriels.

Nous proposons dans cette étude un simple prototype de débitmètre Doppler ultrasonore conçu pour mesurer le débit de sang dans le dispositif de fractionnement acoustique proposé par Bohec et al<sup>2</sup>. Ce prototype repose sur un algorithme d'optimisation qui estime le débit à partir de la comparaison entre le spectre Doppler mesuré et un modèle théorique simplifié<sup>3</sup>.

De plus, nous investiguons la capacité de notre système à mesurer l'hématocrite du sang, suivant un modèle<sup>4</sup> décrivant sa relation avec le spectre Doppler. Cette évaluation est effectuée sur des échantillons de sang provenant de 4 donneurs différents.

## Méthodes

Une sonde Doppler bi-élément de fréquence 8Mhz a été utilisée pour l'émission et l'acquisition continues des signaux. La sonde était montée sur un support réalisé à l'imprimante 3D et dans lequel passait également un tuyau en silicone de 760um de diamètre. Le post-traitement a été effectué avec Matlab et en utilisant l'algorithme d'optimisation de Nelder-Mead. Les mesures de débit (0.5ml/min-1.5ml/min) et d'hématocrite (1% -18%) ont été réalisées avec du sang frais issu de l'Établissement Français du Sang.

## Résultats

La mesure de débit montre une haute précision pour la gamme investiguée, avec une erreur moyenne inférieure à 3%. L'erreur se stabilise à partir de 2s d'acquisition. La mesure d'hématocrite semble être possible avec une précision satisfaisante pour des hématocrites en dessous de 8% (non montré ici). Au-delà de cette valeur, la réponse ultrasonore des 4 poches de sang présente une variabilité plus importante.

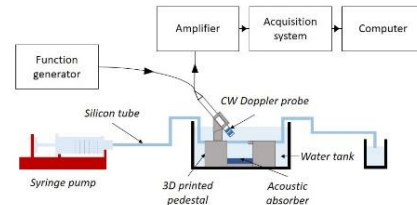


Figure 1: Schéma du prototype développé

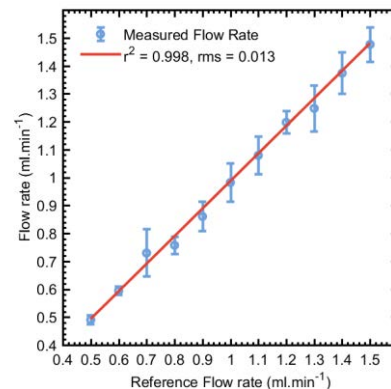


Figure 2: Comparaison du débit estimé par l'algorithme avec le débit donné par le pousse-seringue

## Discussion

De par sa simplicité et sa versatilité, la méthode de mesure du débit proposée peut s'appliquer à une vaste gamme de dispositif de traitement extra-corporel du sang. Sa précision est due à l'utilisation du modèle théorique combinée à un temps d'acquisition supérieur à 1s. La mesure d'hématocrite nécessite d'être mieux caractérisée pour des hématocrites au-delà de 18%. Néanmoins, son utilisation en dessous de 8% présente des applications intéressantes dans le contexte de fractionnement du sang.

## Références

1. Yu et al, Small, 10:1687-703, 2014.
2. Bohec et al, Platelets, 6:1-7, 2017.
3. Vilkomerson et al, IEEE TUFFC 60 (10):2079-88, 2013
4. Bascom and Cobbold, IEEE Trans Biomed Eng, 43(6): 562-71, 1996

# DEVELOPPEMENT D'UN TRAITEMENT PAR HIFU DE L'ADENOCARCINOME PANCREATIQUE. ETUDE PRELIMINAIRE IN VIVO

Celia Cilleros \* <sup>1,2</sup>, Jérémy Vincenot <sup>2</sup>, Aurélien Dupré <sup>1</sup>, David Melodelima <sup>1</sup>

<sup>1</sup> LabTAU (INSERM U1032) – CLB Centre Léon Bérard, Université Claude Bernard Lyon 1, Université Claude Bernard Lyon 1 – France

<sup>2</sup> EDAP TMS – Aucune – France

## Introduction

L'adénocarcinome pancréatique fait partie des cancers les plus agressifs. Quel que soit le traitement, le taux de survie global à 5 ans est inférieur à 6%<sup>1</sup>. Les traitements par Ultrasons Focalisés de Haute Intensité (HIFU en anglais) permettent de créer une nécrose tissulaire de coagulation par effet thermique de façon irréversible en une zone définie. Ce projet de recherche se base sur des travaux préliminaires qui ont permis de franchir une des principale limite des traitements par HIFU en augmentant significativement le taux d'ablation grâce à un transducteur torique. Il a été démontré que les transducteurs toriques peuvent traiter jusqu'à 60 cm<sup>3</sup> de tissus en 370 secondes sans qu'il soit nécessaire de déplacer la sonde HIFU. Cette approche est actuellement en cours d'évaluation clinique pour le traitement des métastases hépatiques de cancers colorectaux<sup>2</sup>. Ce dispositif est à présent en phase d'évaluation préclinique en vue du traitement de l'adénocarcinome pancréatique. Les premiers résultats montrent la faisabilité d'un traitement par HIFU au niveau des extrémités pancréatiques<sup>3</sup>. En revanche, l'isthme pancréatique est une région à risque car positionné au-dessus des structures vasculaires nobles péri-pancréatiques, notamment l'artère mésentérique supérieure, devant être préservées. Une tumeur située dans cette région est généralement une contre-indication de résection, ce qui amène alors à des soins purement palliatifs. Dans ce contexte, les HIFU peuvent s'avérer être un traitement pertinent. L'objectif de cette étude était d'évaluer *in vivo* l'utilisation de ce dispositif pour traiter le pancréas et les vaisseaux périphériques.

## Matériel & méthode

Huit porcs ont été inclus dans cette étude. Le dispositif HIFU a été utilisé de façon per-opérateur. Le transducteur est de forme torique avec un rayon de courbure de 70 mm et focalisant naturellement sur un cercle de 30 mm. La fréquence d'utilisation était de 2,5 MHz. Le diamètre du transducteur était de 70 mm. Une sonde d'imagerie fonctionnant à 7,5 MHz a été placée au centre du transducteur HIFU. Les lésions au niveau de l'isthme pancréatique englobant l'artère périphérique étaient créées en 370 secondes avec une puissance acoustique de 85 watts. Une échographie Doppler était pratiquée après le traitement HIFU pour évaluer l'effet induit sur les

---

\*Intervenant

vaisseaux périphériques. Les animaux étaient mis à mort immédiatement après le traitement. Le pancréas était prélevé et découpé de manière à mesurer macroscopiquement les lésions. Les prélèvements étaient ensuite fixés dans du formol pour une analyse histologique par coloration standard.

## **Résultats & discussion**

Au total, 31 expositions HIFU ont été créées dans le pancréas et autour des vaisseaux péri-pancréatiques. Dans tous les cas, des nécroses tissulaires irréversibles ont été obtenues. Le diamètre moyen des lésions pancréatiques mesuré macroscopiquement était de  $17,7 \pm 5,0$  mm. De plus, les lésions englobaient l'artère périphérique (Figure 1) sans provoquer d'occlusion. L'examen Doppler confirmait un flux artériel normal dans tous les cas. L'analyse histologique confirme l'homogénéité des lésions et la nécrose de coagulation obtenue dans tous les cas.

En utilisant ce dispositif HIFU torique, il est possible de traiter sans occlusion la région la plus difficile du pancréas et ses vaisseaux environnants. Cela permet d'envisager une application clinique sur les tumeurs pancréatiques localement avancées qui constituent la principale contre-indication à la résection curative.

## **Références**

1. Bray F. et al. CA Cancer J Clin. 2018;68:394–424.
2. A. Dupre, et al., PLoS One, 2015;10,e0118212.
3. A. Dupre, et al., Pancreas, 2017;46:219-224.

## **Remerciements**

Ce travail est en partie financé par la société Edap-tms et le Cancéropôle Lyon Auvergne Rhône-Alpes dans le cadre du programme Preuve de Concept PANTTUS (n°171485A10).

**Mots-Clés:** ultrasons, thérapie, pancréas

# ELECTROMECHANICAL WAVE IMAGING USING HIGH FRAME RATE ULTRASOUND FOR CARDIAC ARRHYTHMIAS CHARACTERIZATION

Jade Robert (1), Francis Bessière (1,2), Elodie Cao (1), Ali Zorgani (1), Loic Daunizeau (1), Stefan Catheline (1), Fanny Vaillant (3), Bruno Quesson (3), Cyril Lafon (1)

1. LabTAU, INSERM, Centre Léon Bérard, Université Lyon 1, Univ Lyon, F-69003, LYON, France ;

2. Hôpital cardiologique Louis Pradel, Hospices Civils de Lyon, 69677 Lyon, France ;

3. Institut Liryc, Université Bordeaux, 33604 Pessac, France

## Introduction

Ventricular tachycardia treatment by RF catheter ablation requires precise localization of the arrhythmogenic foci. Standard methods to localize such foci are based on electrical mapping of the heart and either lack precision (12-lead ECG, high-density extra cardiac mapping) or are highly invasive (electrical conduction mapping). Electromechanical wave imaging (EWI) into the heart is a novel method which relies on transient tissues displacement estimation into the myocardium using ultrasound. EWI allows to track the global propagation of the electromechanical wave into the heart, which follows the electrical activation, in sinus [1] and stimulated rhythm [2]. We intend here to demonstrate that EWI performed at very high frame rate and resolution could improve arrhythmias diagnosis by differentiating endocardial from epicardial activation into the ventricle.

## Methods

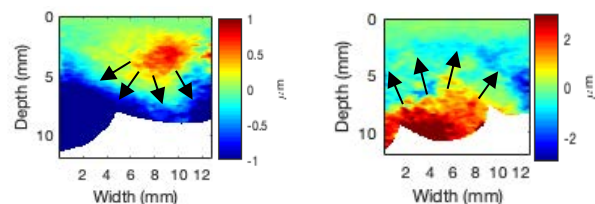
A swine isolated heart model was set up in recirculating working mode to mimic the electro-physiological behavior of cardiac muscles. Pacing electrodes were screwed on the epicardial and endocardial walls of the left ventricle. A 15MHz ultrasound probe (Vermon, France) was used to perform high-resolution ultrafast acquisitions (2500 fs) on the left ventricle. Acquisition sequences were based on diverging waves and were piloted from an ultrafast ultrasound Vantage scanner (Verasonics, Kirkland, WA). Acquisitions were performed at each site in sinus rhythm (without pacing), epicardial pacing and endocardial pacing on a 14mm x 14mm window. The electromechanical wave propagation into the wall thickness was then tracked using a phase motion tracking algorithm on the RF data. Displacement maps depicting mechanical activation across the ventricle wall were then computed and temporally registered with the recorded ECG.

## Results

Electromechanical wave propagation patterns were qualitatively similar for consecutive EWI acquisitions at the same pacing site with identical pacing protocols. EWI successfully differentiated epicardial from endocardial pacing and from sinus rhythm. Electromechanical wave originated from a focal spot

when the heart was paced, whereas wave front propagation was more global in sinus rhythm. Propagation speed of the cardiac mechanical activation was similar for endocardial pacing ( $1.42 \pm 0.38 \text{ m.s}^{-1}$ ) and sinus rhythm ( $1.47 \pm 0.42 \text{ m.s}^{-1}$ ) but propagation was slower for epicardial pacing ( $0.59 \pm 0.19 \text{ m.s}^{-1}$ ).

## Figures



Displacement maps during endocardial (middle) and epicardial pacing (right). Propagation directions of the wave front are opposite.

## Discussion

EWI allowed to differentiate paced rhythms from sinus rhythm, as the propagation patterns of the mechanical activation differ. Epicardial pacing was also discriminated from endocardial pacing by the surface of origin and the propagation direction of the electromechanical wave front. These preliminary results demonstrate that EWI might be a promising method to precisely characterize cardiac mechanical activation pattern and help improving focal arrhythmia treatment. The difference in propagation speed, depending on the pacing surface, might be explained by a difference in myocardial fibers orientations. EWI was here performed on isolated working hearts. EWI's ability to characterize mechanical activation pattern in hearts with pathological substrate, and in more realistic anatomical conditions, remains to be assessed. Future experiments will need to be conducted in these conditions to further assess EWI's performance in activation pattern characterization.

## References

1. Melki L et al, *Ultrasound Med Biol*, 43:2256–2268, 2017.
2. Coster A et al, *Phys Med Biol*, 61:8105–8119, 2017

## Acknowledgement

This work was supported by the French National Research Agency (ANR17-CE19-0017) and by France Life Imaging WP3 Interventional Imaging.



# Imagerie Ultrasonore

# ELASTOGRAPHIE PAR ONDE DE CISAILLEMENT DU MUSCLE DE L'EXTENSEUR DU 5<sup>EME</sup> DOIGT

G.Bacle<sup>(1,2)</sup>, S.Beuve<sup>(1)</sup>, J.Ben Haddi<sup>(1)</sup>, J-M.Gregoire<sup>(1)</sup>, F.Patat<sup>(1,3)</sup>, J-P.Remenieras<sup>(1)</sup>

1. UMR 1253, iBrain, Université de Tours, Inserm, Tours, France

2. Service de chirurgie orthopédique 1A, Unité de chirurgie de la main et du membre supérieur, CHRU de Tours

3. INSERM CIC-IT 1415, Tours, France

## Introduction

La Sclérose Latérale Amyotrophique (SLA) est une maladie neurodégénérative de l'adulte, évolutive et létale, caractérisée par la mort progressive des motoneurons corticaux et médullaires. Elle aboutit à une paralysie de l'ensemble des muscles striés squelettiques. Bien qu'il s'agisse d'une affection grave, son étiologie reste inconnue et il n'existe pas de biomarqueur fiable et non invasif d'évaluation initiale et de suivi évolutif de la maladie. Disposer de moyens d'investigations objectifs et reproductibles pour caractériser l'évolution de la SLA est crucial à la fois pour le suivi clinique des malades et de l'évaluation thérapeutique dans le contexte de l'émergence de nouveaux candidats-traitements.

## Méthodes

Nous proposons de quantifier *in vivo* l'évolution de la dureté du muscle *tensor digiti minimi* en fonction du niveau croissant de la contrainte exercée par le 5<sup>ème</sup> doigt. Un gabarit d'intensité croissante de type « pallier » doit être suivi par le volontaire. Le dispositif expérimental est présenté Figure 1.a.(haut).

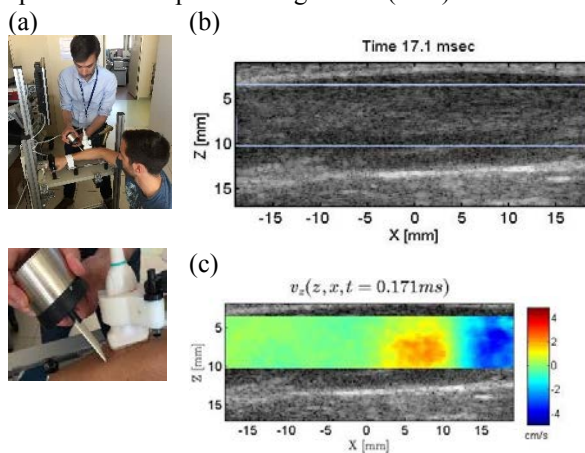


Figure 1 : (a) dispositif expérimental développé au laboratoire U1253 iBrain. (b) échographie ultrarapide 3 ondes planes 5.8KHz du muscle *tensor digiti minimi*. (c) Onde guidée de cisaillement de vitesse de phase  $c_s(418Hz)=8.8m/s$ .

Pour mesurer l'élasticité du muscle, nous générons un train d'onde de cisaillement à  $f_{BF}=418Hz$  dans le muscle par un vibreur externe B&K type 4809. La source de cisaillement est une plaque placée perpendiculairement aux fibres à côté de la sonde échographique (Figure 1.a bas). L'acquisition des ultrasons (US) est réalisée par un système Verasonics<sup>TM</sup> connectée à une sonde L11-4v.

Nous avons programmé une séquence de 100 acquisitions de 3 ondes planes  $[-5^\circ, 0^\circ, 5^\circ]$  avec une cadence de répétition des tirs US de 57 $\mu$ sec entre chaque onde plane. Un algorithme de Doppler tissulaire basé sur l'angle de la fonction de corrélation au retard 1 est ensuite appliqué sur le jeu de données 3D.

## Resultats et discussion

Pour une contrainte nulle appliquée par le 5<sup>ème</sup> doigt, nous obtenons un film de la vitesse particulaire axiale  $v_z(x,z,t)$  du tissu musculaire permettant de visualiser la propagation de l'onde de lamb A0. L'amplitude maximale est de 4cm/sec. (Figure 1.c). Le front d'onde de ce mode A0 est plan sur la Figure 1.c. Nous sommes les lignes de vitesse particulaire  $v_z(x,t)$  pour toutes les profondeurs distantes de 150 $\mu$ m situées dans le gabarit rectangulaire visualisé en bleu sur la Figure 1.b. Sur cette vitesse résultante  $V_z(t,x)$  qui évolue en fonction du temps, nous calculons  $A_{vz}(f_t, f_x)$  la TF 2D de  $V_z(t,x)$ . Le spectre spatial  $A_{vz}(f_t=418Hz, f_x)$  correspondant à la fréquence 418Hz est présenté Figure 2. L'abscisse du maximum de cette courbe permet de déterminer l'inverse de la longueur d'onde  $1/\lambda$ . Ce maximum est obtenu sur la Figure 2 pour une fréquence spatiale de  $47.5m^{-1}$ , i.e une longueur d'onde de  $\lambda=2.1cm$  à 418Hz supérieure à l'épaisseur du muscle (1cm). La vitesse de phase du mode A0 à la fréquence 418Hz est estimée à  $V_\phi(418Hz)=8.8m/s$ .

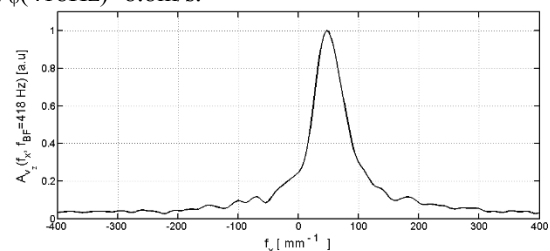


Figure 2 : Spectre de Fourier spatial  $A_{vz}(f_x, f_{BF}=418Hz)$  permettant d'estimer par recherche de son maximum l'inverse de la longueur d'onde  $1/\lambda = 47.5m^{-1}$  à 418Hz.

## Conclusion

Nous avons montré qu'il était possible de générer et de suivre la propagation d'une onde de cisaillement à 418Hz dans le muscle de l'extenseur du 5<sup>ème</sup> doigt. Ce mode A0 de propagation est dispersif et nous travaillons actuellement sur l'utilisation d'un signal d'excitation de type chirp afin de couvrir une large bande de fréquence permettant d'obtenir la courbe de dispersion du mode A0 dans le muscle. Ceci afin de déterminer par résolution du problème inverse la vitesse des ondes de cisaillement en espace libre et ainsi remonter à l'élasticité du muscle.

# THERMOMETRIE ULTRASONORE AU COURS D'UN TRAITEMENT PAR ULTRASONS DE HAUTE INTENSITE. ETUDE PRELIMINAIRE IN VITRO.

Victor Barrere \* <sup>1</sup>, David Melodelima<sup>†</sup> <sup>2</sup>

<sup>1</sup> LabTAU – CLB Centre Léon Bérard, Université Claude Bernard - Lyon I (UCBL) – France

<sup>2</sup> LabTAU (INSERM U1032) – CLB Centre Léon Bérard, Université Claude Bernard Lyon 1, Université Claude Bernard Lyon 1 – France

## Introduction

Les Ultrasons Focalisés de Haute Intensité (HIFU) sont une technique non-invasive de traitement largement utilisée en clinique. Le principe est de créer un échauffement très localisé, intense ( $> 80^{\circ}\text{C}$ ) et rapide (3 à 5 secondes) pour détruire les tissus ciblés. Le guidage est réalisé soit par l'Imagerie par Résonance Magnétique (IRM) soit par échographie. L'IRM présente l'avantage majeur de pouvoir mesurer la température des tissus, mais présente des limites quant à sa disponibilité et son accessibilité. L'échographie est beaucoup plus accessible et moins onéreuse, elle présente également des résolutions spatiale et temporelle supérieures à l'IRM, mais ne permet pas de mesurer la température des tissus. Parmi les nombreuses approches basées sur l'imagerie ultrasonore pour mesurer la température des tissus durant un traitement par HIFU, la mesure de l'énergie contenue dans le signal rétrodiffusé semble être pertinente [1].

Cette étude se donne pour objectif de relier les changements d'énergie du signal rétrodiffusé mesurés durant un traitement HIFU aux changements de la microstructure tissulaire.

## Matériel et Méthodes

Le dispositif expérimental était immergé dans une cuve d'eau dégazée à  $37^{\circ}\text{C}$  et était composé d'un transducteur pulse-écho fonctionnant en émission-réception à 2,25MHz et d'un réflecteur acoustique dont la surface était parallèle à celle du transducteur. Un échantillon de foie bovin était disposé entre le transducteur et le réflecteur. Une sonde permettant de réaliser un échauffement par HIFU était placée perpendiculairement à l'axe acoustique du transducteur pulse-écho. La température de l'échantillon était portée par l'exposition HIFU à  $80^{\circ}\text{C}$ . Une phase de refroidissement permettait dans un second temps au tissu de revenir à une température de  $40^{\circ}\text{C}$ . Le contrôle de la température était effectué par un thermocouple aiguille. Des acquisitions du pulse réfléchi et du signal rétrodiffusé étaient réalisées toutes les minutes par le transducteur pulse-écho. Ces acquisitions permettaient de calculer le coefficient d'atténuation du tissu, la vitesse des ultrasons, ainsi que l'énergie du signal rétrodiffusé (BSE).

---

\*Intervenant

<sup>†</sup>Auteur correspondant: david.melodelima@inserm.fr



Enfin, une analyse histologique était réalisée sur des échantillons chauffés à 37°C, 45°C, 55°C, 65°C, 70°C, 80°C et à 40°C après chauffage. Une coloration par Hématoxiline-Eosine-Safran était réalisée afin de quantifier les cellules, les noyaux, le collagène, l'espace inter-cellulaire aux différentes températures sélectionnées.

## Résultats

Cette étude a permis de mettre en évidence que l'énergie du signal rétrodiffusé variait linéairement entre 37°C et 67°C. L'augmentation totale était de 3dB . De 67°C à 80°C, une augmentation brusque de 9dB était observée correspondant à l'apparition progressive de l'ébullition. Après la phase de refroidissement, l'énergie du signal rétrodiffusé était toujours supérieure de 8dB à celle mesurée initialement à 37°C.

D'un point de vue histologique, les espaces intercellulaires augmentaient jusqu'à 175% à 55°C puis diminuaient de 50% à 80°C. La taille normalisée des cellules augmentait jusqu'à 140% à 80°C.

## Discussion

La variation linéaire d'énergie rétrodiffusée en fonction de la température permet d'envisager de pouvoir mesurer la température des tissus en temps réel durant un traitement HIFU par l'imagerie ultrasonore ce qu'aujourd'hui seule l'IRM permet. L'augmentation de l'espace inter-cellulaire traduit une dilatation globale du tissu, caractéristique d'un effet thermique. De plus, la taille des cellules augmente également de manière significative durant l'échauffement ce qui pourrait expliquer l'augmentation d'énergie rétrodiffusée observée.

## Références

1. Sanghvi et al, JTU, 5:24, 2017.

## Remerciements

Cette étude a été en partie financée par BPI France dans le cadre de l'aide au projet structurant HECAM, et par le contrat SIRIC LyriCAN (INCa\_INSERM\_DGOS\_12563).

**Mots-Clés:** HIFU, imagerie interventionnelle, rétrodiffusion, BSE

# IMAGERIE ULTRASONORE ULTRA-RAPIDE DE L'ARTERE CAROTIDE

Vincent Perrot, Nina Ghigo, Lorena Petrusca, Adeline Bernard, Sébastien Salles, Anne Long, Brahim Harbaoui, François Varray, Didier Vray, Hervé Liebgott

CREATIS, Univ. Lyon, INSA, Lyon, UCBL, UJM-Saint-Étienne, CNRS, Inserm, UMR 5220, U1206, Lyon, France

## Contexte des travaux

L'échographie dite ultra-rapide permet d'imager des phénomènes transitoires complexes extrêmement rapides [1]. Les artères sont le siège de phénomènes dynamiques complexes qui ne peuvent être appréhendés qu'avec une cadence d'imagerie bien au-delà de la centaine d'images par seconde que peut produire un système clinique conventionnel. Pour illustration, au sein de l'artère carotide saine la vitesse du flux sanguin peut atteindre plusieurs dizaines de cm/s tandis que la vitesse de l'onde de pouls (VOP) atteint plusieurs m/s. Avec le développement de certaines pathologies entraînant un remodelage artériel et pouvant conduire à un rétrécissement du calibre de l'artère, le flux est accéléré au niveau des rétrécissements et peut prendre des formes très complexes faisant apparaître des turbulences et des reflux dans certaines phases du cycle cardiaque. Une imagerie vectorielle du flux devient alors nécessaire. De plus, la VOP peut être utilisée comme marqueur précoce de la maladie qui s'accompagne souvent d'une rigidification de la paroi. Ce travail présente une technique d'imagerie ultrasonore ultra-rapide pour l'étude conjointe du flux et du mouvement de la paroi des artères.

## Mode d'imagerie développé

Le mode d'imagerie développé a pour objectif de permettre d'imager simultanément la propagation de l'onde de pouls dans l'artère carotide et le flux vectoriel. Il a été implanté sur un système Verasonics Vantage 256™ équipé d'une sonde linéaire (Phillips ATL L7-4). Dans ce mode une seule onde plane parallèle à la surface de la sonde est transmise. La cadence de répétition des tirs a été fixée à 5 000 Hz. Le mouvement axial de la paroi, i.e. le long de l'axe ultrasonore, est estimé via la phase des signaux pour déterminer la VOP. Puis, basé sur le mouvement tissulaire estimé, un filtre de paroi est appliqué afin de séparer le signal du flux de celui de la paroi qui présentent des différences d'intensité pouvant dépasser 40 dB. Sur le signal du flux une méthode d'estimation des vitesses vectorielles basée sur la technique des oscillations transverses [2] et adaptée pour l'imagerie rapide [3] est mise en oeuvre. Nous avons développé des techniques permettant de visualiser les mouvements (flux et paroi) qui sont difficiles à percevoir dans les séquences ultra-rapides où le mouvement entre deux images consécutives est faible. En particulier, nous avons adapté la technique appelée video magnification [4] issue du domaine de la vision à la visualisation du mouvement de la paroi carotidienne.

Des données acquises sur sujets sains par un cardiologue sur un échographe de recherche démontrent la faisabilité de la méthode.

## Résultat sur artère carotide

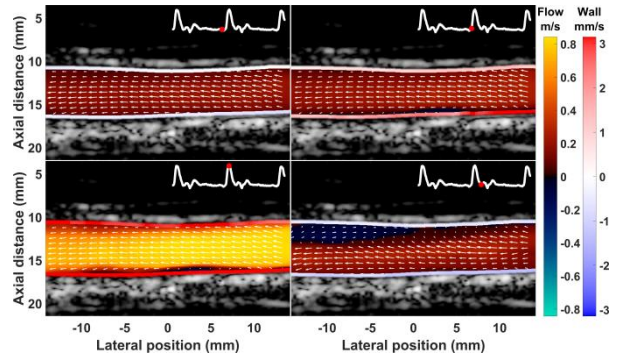


Fig 1: Représentation simultanée du flux vectoriel et de la vitesse axiale pariétale au sein d'une artère carotide [5].

## Remerciements

Les Verasonics ont été co financés par le programme FEDER, Saint-Etienne Métropole (SME) et le Conseil Général de la Loire (CG42) dans le cadre du projet SonoCardioProtection porté par le Pr. Pierre Croisille et le Dr. Magalie Viallon. Ce travail a été réalisé dans le cadre des LABEX CELYA (ANR-10-LABX-0060) et PRIMES (ANR-10-LABX-0063) de l'Université de Lyon, dans le cadre des investissements d'avenir (ANR-11-IDEX-0007) opéré par l'ANR.

## Références

- [1] M. Tanter and M. Fink, "Ultrafast imaging in biomedical ultrasound," *IEEE Transactions on Ultrasonics, Ferroelectrics, and Frequency Control*, vol. 61, pp. 102-119, 2014.
- [2] J. A. Jensen and P. Munk, "A new method for estimation of velocity vectors," *IEEE Transactions on Ultrasonics, Ferroelectrics and Frequency Control*, vol. 45, pp. 837-851, May 1998 1998.
- [3] S. Salles, D. Garcia, B. Bou-Said, A. Sérusclat, D. Vray, and H. Liebgott, "Plane Wave Transverse Oscillation (PWTO): an ultra-fast transverse oscillation imaging mode performed in the Fourier domain for 2D motion estimation of the carotid artery," presented at the ISBI, Beijing, 2014.
- [4] V. Perrot, S. Salles, D. Vray, and H. Liebgott, "Video Magnification Applied in Ultrasound," *IEEE Transactions on Biomedical Engineering*, vol. 66, pp. 283-288, 2019.
- [5] V. Perrot, H. Liebgott, A. Long, and D. Vray, "Simultaneous Tissue and Flow Estimation at High Frame Rate Using Plane Wave and Transverse Oscillation on in Vivo Carotid," in *2018 IEEE International Ultrasonics Symposium (IUS)*, 2018, pp. 1-4.

# IMAGERIE DE MODULATION RADIALE ULTRA-RAPIDE

Pauline Muleki-Seya (1), Kailiang Xu (1), Mickaël Tanter (1), Olivier Couture (1)

1. Institute Physics for Medicine Paris, Inserm U1273, ESPCI Paris, CNRS FRE 2031, PSL University

## Introduction

L'imagerie de modulation radiale (RMI) permet d'améliorer la détection des microbulles à haute fréquence<sup>1-4</sup>, quand d'autres techniques non linéaires sont plus limitées en résolution car nécessitant une fréquence d'excitation proche de la fréquence de résonance des microbulles. Le principe de l'imagerie de modulation radiale est d'utiliser une fréquence de manipulation pour faire osciller les microbulles et une fréquence d'imagerie ; des pulses d'imagerie sont générés pendant les pics de raréfaction et de compression de la fréquence de manipulation puis soustrait pour ne conserver que le signal des microbulles. La synchronisation de ces différents pulses n'est cependant pas trivial et la dispersion des pulses d'imagerie par les pulses de manipulation doit être compensée<sup>2-5</sup>. Pour simplifier le processus de l'imagerie de modulation radiale et résoudre ces difficultés, nous proposons l'utilisation de l'imagerie de modulation radiale ultra-rapide (uRMI).

## Méthode

Des microbulles de Sonovue (dilution 1/3000) circulent dans un fantôme de flux (0 à 20 mL/min). Ce fantôme est insonifié par deux transducteurs confocaux, une barette d'imagerie à 15 MHz et un monoélément à 1 MHz. Le monoélément génère une excitation sinusoïdale continue proche de 1 MHz (10-35 kPa). La barette, contrôlée par un système Vantage Verasonics, génère des acquisitions ultra-rapides en ondes planes (300 kPa, 1 cycle, PRF 1/60  $\mu$ s, 1 à 7 angles). L'imagerie de modulation radiale ultra-rapide consiste à imager les microbulles à différents états de leurs oscillations. La fréquence du monoélément a été variée pour que des acquisitions d'imagerie soient générées sur 3, 4, 5 ou 10 états d'oscillations. Pour chaque acquisition, 1000 images sont enregistrées et démodulées par détection synchrone (autour de la fréquence de modulation). Les images sont ensuite sommées de manière cohérente pour les différents angles et reconstruite. La démodulation par détection synchrone a également été effectuée pour les multiples de la fréquence de modulation. Les images uRMI multi-bandes correspondent au produit des images démodulées à la fréquence de démodulation et ses multiples. Le ratio de contraste microbulles/tissu a été estimé sur la somme des 1000 images. Cette technique a été comparée à d'autres techniques de détection des microbulles : la modulation d'amplitude à 15 MHz, la destruction des microbulles et le filtre spatio-temporel SVD.

## Résultats

Pour nos conditions expérimentales, le ratio de contraste par uRMI est compris entre 7.2 et 14.8 dB. Ce ratio de contraste est stable avec le nombre d'angles. Il augmente avec l'amplitude d'excitation de fréquence de modulation et avec le nombre d'états d'oscillation. L'utilisation de l'uRMI multi-bande permet d'obtenir des ratio de contraste jusqu'à 24 dB. Ce ratio de contraste diminue quand la vitesse du flux des microbulles augmente. En l'absence de flux, le meilleur ratio de contraste est obtenu par uRMI (10 dB), devant le filtre spatio-temporel SVD (8 dB), la destruction des microbulles (6 dB) et la modulation d'amplitude (4 dB). En présence de flux, le filtre SVD permet d'obtenir le meilleur ratio de contraste (16 à 17 dB).

## Discussion

Une limitation inhérente aux techniques RMI et uRMI est la décorrélation des microbulles causée par une vitesse de flux trop élevée ou une fréquence d'images trop faible. Ceci montre, cependant, la complémentarité de l'uRMI et du filtre SVD pour la détection des microbulles à haute résolution. Les résultats de cette étude montrent que la technique uRMI pourrait permettre d'améliorer la détection de microbulles fixées pour des applications d'imagerie moléculaire ultrasonore. De plus, l'uRMI pourrait être utilisée pour détecter les microbulles extrêmement lentes dans les vaisseaux les plus fins pour améliorer les cartographies des structures microvasculaires obtenues par microscopie ultrasonore de localisation<sup>6-7</sup>.

## Références

1. Shariff HH et al, IUS, 104-107, 2006.
2. Angelsen BA et al, IUS, 531-541, 2007.
3. Chérin E et al, Ultrasound Med. Biol., 34(6): 949-962, 2008.
4. Masoy SE et al, IEEE UFFC, 55(5): 1112-1121, 2008.
5. Hansen R and al., IEEE UFFC. 56(2): 280-290. 2009.
6. Couture O et al, IEEE UFFC, 65(8): 1304-1320 2018.
7. Errico C et al. Nature, 527(7579): 499, 2015.

## Remerciements

This work was supported principally by Agence Nationale de la Recherche, within the project ANR Tremplin. This project has received funding from the European Research Council under the European Union Horizon H2020 programme/ERC Consolidator grant agreement No 772786- ResolveStroke.

# IN THE HEART OF THE CARDIAC VORTEX BY COLOR DOPPLER

Florian Vixège<sup>1</sup>, Étienne Gay, Didier Vray<sup>1</sup>, Pierre-Yves Courand<sup>1,2</sup>, Damien Garcia<sup>1</sup>

1. CREATIS, UMR 5220, U1206, Villeurbanne, France; 2. Hospices Civils de Lyon, France

## Heart failure & Diastolic dysfunction

Among cardiovascular diseases, *heart failure* is the cardiomyopathy that will have the greatest impact on the lives of Europeans in the next decades. Heart failure is a cardiac disease that alters the ability of the heart pump to meet the oxygen demand of the organs. It affects more than one million people in France, and its prevalence will double by 2028. Heart failure can be characterized by the reduced ability of the heart to be filled with blood (*diastolic dysfunction*) and or to empty out (*systolic dysfunction*). Echocardiography (cardiac ultrasound imaging) is the pre-requisite technique for evaluating dysfunction of the left ventricle. Although systolic dysfunction is easily diagnosed, the diagnosis of diastolic dysfunction (i.e. filling impairment) often remains imprecise since the recommended echocardiographic indices may show discrepancies.

## The intraventricular vortex

During diastole, the mitral valve forces the left intraventricular flow to create a vortex. This vortex, by rotating in the natural direction of flow, facilitates the transition from filling to ejection in healthy subjects. When filling is impaired (*diastolic dysfunction*), a change in blood flow can be observed, with a significant impact on the intraventricular vortex. According to the recent literature, it is becoming manifest that the vortex properties are strongly related to filling function [1].

## Intraventricular vector flow mapping

A large series of recent clinical studies show that quantification of the intraventricular blood flow could lead to early diagnosis of heart failure. Intracardiac blood flow can be quantified non-invasively by cardiac magnetic resonance (CMR) [2]. Magnetic resonance velocimetry, however, is not used clinically because of its standard cost-benefit. Another method, called *echo-PIV* and better suited for clinical applications, is based on contrast agent echocardiography. Its main obstacle remains the intravenous administration of microbubbles, a time-consuming procedure in a clinical context. Garcia *et al.* thus introduced *iVFM* (“*intraventricular Vector Flow Mapping*”) by conventional Doppler echocardiography. This new technique [3] has the advantage of being 100% clinically-compliant since it uses echocardiographic color Doppler. 2D-*iVFM* has been implemented in commercial Hitachi ultrasound scanners [4]. A new version of the *iVFM* (Fig. 1) has been recently introduced [5], which is much more powerful than the previous form [3] adopted by Hitachi. The latest version, based on a robust regularization approach with an automatic model

selection, has also the advantage of being transferable to 3-D. In light of the success of ultrasound-derived *iVFM*, it is expected that 3D-*iVFM* modality can rival 3D-CMR in clinical intracardiac velocimetry.

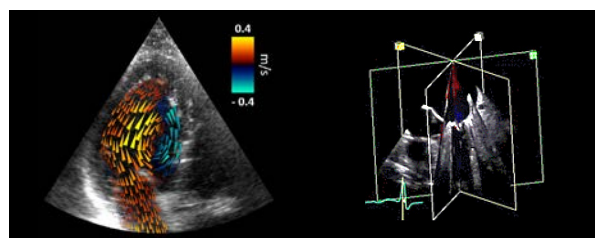


Fig. 1: Left: 2D-*iVFM* from color Doppler. Right: Triplane echocardiography at high temporal resolution.

## From 2D-*iVFM* to 3D-*iVFM*

Color Doppler yields the velocity components projected along the ultrasonic beams. The goal of 3D-*iVFM* is to generate time-resolved 3-D vector fields from three scalar Doppler planes (Triplane, GE Vivid e95, GE Healthcare). The triplane mode lets the cardiologist image three planes from the same heartbeat, with high temporal and spatial resolutions. To reconstruct three-component 3-D velocity fields, we propose an optimization strategy adapted from the recently published 2-D algorithm [5]. To obtain a well-posed problem, the constraints in the cost function are related to mass conservation and smoothness, together with endocardial velocity boundary conditions. The regularization parameters can be selected automatically by analyzing the  $L$ -hypersurface, as in [5]. This step is essential to optimize intra- and inter-operator reproducibility.

## References

- [1] P. M. Arvidsson *et al.*, “Vortex ring behavior provides the epigenetic blueprint for the human heart,” *Sci. Rep.*, vol. 6, 2016.
- [2] M. Markl *et al.*, “Advanced flow MRI: emerging techniques and applications,” *Clin. Radiol.*, vol. 71, no. 8, pp. 779–795, 2016.
- [3] D. Garcia *et al.*, “Two-dimensional intraventricular flow mapping by digital processing conventional color-Doppler echocardiography images,” *IEEE Trans. Med. Imaging*, vol. 29, no. 10, pp. 1701–1713, 2010.
- [4] T. Tanaka *et al.*, “Intracardiac VFM technique using diagnostic ultrasound system,” *Hitachi Rev.*, vol. 64, no. 8, pp. 488–492, 2015.
- [5] K. C. Assi *et al.*, “Intraventricular vector flow mapping—a Doppler-based regularized problem with automatic model selection,” *Phys. Med. Biol.*, vol. 62, no. 17, pp. 7131–7147, 2017.



# Traitement du Signal et de l'Image

# MISE AU POINT D'UN SYSTEME D'ANALYSE AUTOMATISEE DU SIGNAL ACOUSTIQUE DE LA DEGLUTITION

Pierre RAYNEAU (1), Remy BOUTELOUP (2), Pascal MAKRIS (3), Sylvain MORINIERE (4)

1. Interne ORL-CCF, CHU Tours; 2. Etudiant Ingénieur informaticien, Ecole Polytech Tours; 3. Professeur école Polytech Tours ; 4. PU-PH ORL-CCF, CHU Tours

## Introduction

La déglutition est un mécanisme bref et complexe. Son objectif est de propulser le bol alimentaire de la cavité orale à l'œsophage tout en protégeant les voies aériennes. Tout dysfonctionnement peut avoir de lourdes conséquences (fausses routes, dyspnée, pneumopathies, dénutrition) [1]. Actuellement, les deux techniques d'exploration de la déglutition de références sont la nasofibroscopie de déglutition et le radiocinéma mais elles sont invasives et irradiantes. Depuis plusieurs années, notre centre a mené plusieurs recherche permettant de caractériser le signal acoustique de la déglutition chez des sujets sains ou atteints et opérés d'un cancer du pharyngo-larynx [2-3]. Nous avons aussi pu caractériser ce signal au cours d'un repas type [4-5]. Ces analyses, réalisées manuellement, étaient longues et impossibles à mettre en place en pratique clinique. L'objectif de cette étude était de mettre au point une méthode d'analyse automatisée du signal acoustique de la déglutition, utilisable en consultation ORL au moyen d'une application mobile, et ainsi prouver une alternative à la fibroscopie ou au radiocinéma.

## Méthode

Nous avons enregistré les bruits de la déglutition de 2 sujets sains grâce à un laryngophone Nauzer® relié à une tablette Samsung Galaxy tab A6®. Trois aliments ont été testés : purée, yaourt et eau. L'analyse se faisait manuellement grâce au logiciel Audacity® (nombre et durée moyenne des déglutition (NDM et DDM)). Cette analyse était comparée à celle réalisée de façon automatique par l'application en développement par un test de Student. Pour développer notre algorithme, nous avons testé plusieurs paramètres permettant de détecter et d'analyser une déglutition : seuil de détection sonore (définissant un « 1 » en système binaire si atteint sur 1ms), richesse du signal sonore (pourcentage de « 1 » dans les 450ms suivant le 1<sup>er</sup> « 1 ») et l'intervalle définissant la fin de l'analyse d'une déglutition. La sensibilité (Se) et la valeur prédictive positive (VPP) de l'application ont été calculées. Une fois validée sur sujets sains, l'application a été testée sur des patients présentant un cancer du pharynx et/ou larynx, non traité antérieurement, conformément au protocole alimentaire développé par le Dr Bobillier [5].

## Résultats

Chez les sujets sains, 38 déglutitions ont été analysées pour l'eau, 65 pour la purée et 62 pour le yaourt. Les meilleurs résultats ont été obtenus avec un seuil de détection égal à  $S = \text{moyenne (dB)} + \text{écart type}$ . Les richesses sonores et intervalles sélectionnés étaient de 15% de « 1 » et intervalles variables de 50ms-5ms pour la purée et le yaourt et de 10 % de « 1 » et 50 ms pour l'eau. Il n'y avait pas de différence significative en terme de durée de déglutition et les Se et VPP étaient toutes supérieures à 0.85. Seize patients ont ensuite été inclus, et analysés avec ces paramètres, 3 ont été exclus pour cause de dyspnée ou fausse route sévère lors de l'enregistrement. Nous ne retrouvons pas de différence significative hormis pour NDM pour la purée et la DDM du yaourt (Tableau 1).

## Tableau

		Audacity®	Application	p
NDM	Purée	9	16.1	0.004
	Eau	7.2	5.8	0.18*
	Yaourt	9.7	12.5	0.24*
DDM (ms)	Purée	636.2	593.3	0.06*
	Eau	502.6	536.1	0.38*
	Yaourt	635.9	578.5	0.04

Tableau 1: Comparaison des résultats obtenus chez les patients obtenus par l'analyse manuelle sur Audacity® et grâce à l'application. \* = différence non significative

## Discussion

Ainsi, notre application a permis, chez des sujets sains, de détecter efficacement les déglutitions au cours d'un repas type (bonne Se et VPP), sans différence statistique en terme de durée mesurée comparativement à l'analyse manuelle. Cependant, chez les patients inclus, on a noté une différence de nombre de déglutition moyen pour la purée et de durée moyenne pour le yaourt. L'effectif reste faible et d'autres paramètres restent à identifier et à améliorer pour rendre l'application fiable dans cette population.

## Références

1. Blitzer, Dysphagia, 5(3) :129-37, 1990
2. Morinière et al, Dysphagia, 23(3) : 267-73, 2007
3. Morinière et al, Dysphagia, 26(4) : 366-73, 2011
4. Hammoudi et al, Dysphagia, 29(4) : 468-474, 2014
5. Bobillier, Thèse de Médecine, Université de Tours, 2015

# DÉVELOPPEMENT D'UN MODELE DE TRANSPORT POUR L'ANALYSE QUANTITATIVE DE L'IMAGERIE DE CONTRASTE ULTRASONORE

Baudouin Denis De Senneville\* <sup>1</sup>, Anthony Novell <sup>2</sup>, Chloé Arthuis <sup>2</sup>, Vanda Mendes <sup>2</sup>, Paul-Armand Dujardin <sup>3</sup>, Frédéric Patat <sup>3</sup>, Ayache Bouakaz <sup>2</sup>, Jean-Michel Escoffre <sup>† 2</sup>, Franck Perrotin <sup>2</sup>

<sup>1</sup> Institut de Mathématiques de Bordeaux – UMR 5251 CNRS – France

<sup>2</sup> iBrain – UMR 1253, Université de Tours, Inserm, Tours, France., Service d'Obstétrique, de Gynécologie et de Médecine, CHRU de Tours, Tours, France, UMR 1253, Université de Tours, Inserm, Tours, France – France

<sup>3</sup> CIC-IT – Inserm CIC 1415, CHRU de Tours, Tours, France – France

## Contexte

L'imagerie de contraste ultrasonore (ICU) est une modalité non-invasive utilisée pour quantifier la perfusion sanguine des organes [1]. Cette modalité repose sur la détection acoustique d'agents de contraste ultrasonore (microbulles de gaz), utilisés comme traceurs intravasculaires du flux sanguin. La quantification des paramètres liés à l'augmentation de l'intensité du contraste provenant du compartiment vasculaire exploite les courbes temps-intensité (TIC). Ces paramètres sont utilisés comme indicateurs de plusieurs pathologies. Cependant, cette quantification est limitée par deux aspects [2]: (1) Elle repose uniquement sur la variation temporelle de l'intensité du contraste ultrasonore. En effet, la variation spatiale de cette dernière n'est ni mesurée, ni exploitée; (2) La relation qui lie le signal ultrasonore acquis avec la concentration locale de microbulles est difficilement accessible. Dans ce contexte, nous proposons l'utilisation d'une équation de transport afin de mesurer l'amplitude de la vitesse de l'arrivée du bolus et de diagnostiquer l'insuffisance placentaire dans un modèle murin de retard de croissance intrautérin (contrôle *vs* ligature du pédicule utérin) (Figure 1) [3].

## Modèle en dynamique des fluides

Etape 1 – Délimitation manuelle du placenta

Etape 2 – Compensation des mouvements respiratoires et des mouvements de la sonde échographique

Etape 3 – Estimation du transport apparent des microbulles ( $V$ ) : Equation 1

Etape 4 – Calcul de la valeur moyenne du transport apparent des microbulles ( $g$ )

---

\*Auteur correspondant: b.desenneville@gmail.com

†Intervenant

## Résultats

Le critère de classification proposé  $\gamma$ , estimé à partir de d'images échographiques, est un bon critère de classification binaire des placentas de rats ligaturés *vs* contrôles. Notre méthode se révèle être plus performante que les méthodes basées sur les TIC, qui fournissent des meilleurs résultats en utilisant le paramètre PE (AUROC = 0,72; Figure 2), mais elles sont toutefois restées bien en deçà de notre approche basée sur l'utilisation d'une équation de transport. Notre méthode ouvre de bonnes perspectives pour le diagnostic clinique des troubles obstétricaux (Figure 2) [3].

## Références

- Sennoga C et al, Expert Opin Drug Deliv, 14:1031, 2017.
- Tranquart F et al, Ultrashall Med, 33:S31, 2012.
- de Senneville BD et al, IEEE TMI, 37:372, 2018.

## Remerciements

Ce travail a été financé par l'Inserm, l'Université de Tours (AB, FP), la Société Française de Médecine Périnatale (FP), le laboratoire d'Excellence TRAIL – ANR-10-LABX-57, le programme IdEx Bordeaux-CPU – ANR-10-IDEX-03-02 (BDDS).

**Mots-Clés:** Imagerie de contraste ultrasonore, microbulles, analyse quantitative, dynamique des fluides



# ANALYSE D'IMAGES RETINIENNES OCTA PAR APPRENTISSAGE PROFOND POUR LE DEPISTAGE AUTOMATIQUE DE LA DMLA

Kawther TAIBOUNI (1), Yasmina CHENOUNE (2), Alexandra MIERE (3), Eric SOUIED(3), Eric PETIT (1)

1. Université Paris-Est, LISSI (EA 3956), UPEC, F-94010, Vitry-sur-Seine, France ; 2. ESME Sudria Research Lab, 40 rue du Docteur Roux, 75015, Paris, France ; 3. Service Universitaire d'Ophthalmologie, Centre Hospitalier Intercommunal de Créteil, 40, AV de Verdun, 94000 Créteil, France

## Introduction

La dégénérescence maculaire liée à l'âge (DMLA) est une maladie chronique de la rétine qui touche principalement les personnes âgées de plus de 50 ans. C'est la 1<sup>ère</sup> cause de cécité dans les pays développés [1]. Ses stades avancés se caractérisent par l'apparition de vaisseaux sanguins anormaux appelés néovaisseaux, qui altèrent la microvascularisation rétinienne.

L'angiographie par tomographie en cohérence optique (OCTA) est une technique récente d'imagerie non-invasive qui fournit un volume d'images permettant la visualisation précise du réseau vasculaire rétinien [2]. La rétine étant une structure anatomique complexe, sujette à un grand nombre de pathologies, l'exploitation de cette grande masse de données est difficile.

Nos travaux portent sur le développement d'une méthode d'aide au diagnostic de la DMLA. Nous nous sommes intéressés en premier à la segmentation des néovaisseaux choroïdiens sur des images OCTA. Nos résultats ont montré une bonne concordance avec la délimitation des cliniciens [3]. Dans la continuité de ces travaux, notre projet est de développer un système de classification fondé sur l'approche d'apprentissage profond pour le dépistage automatique de la DMLA au niveau de la choriocapillaire. Nous présentons dans cet article les choix méthodologiques effectués en relation avec les données dont nous disposons.

## Méthodes

Nous avons établi avec l'aide d'un expert clinique un arbre diagnostique permettant de définir quatre classes pour notre système de classification automatique: la choriocapillaire normale, la néovascularisation, le masquage choriocapillaire et l'atrophie (voir figure 1).

La première étape du travail consiste à constituer une base de données regroupant un nombre suffisant d'images dans chacune des quatre classes. Les travaux reportés dans la littérature, portant sur la classification d'images par apprentissage profond montrent qu'il s'agit d'un problème très exigeant en termes de données d'apprentissage, notamment en ophtalmologie [4]. Cependant, l'OCTA étant une technique récente, nous ne pourrions obtenir dans un premier temps plus de 3000 images pour représenter les quatre classes. Le défi sera donc d'entraîner un modèle de dépistage automatique de la DMLA à partir de cette base de données réduite.

Les réseaux de neurones convolutifs (CNN) forment la base des systèmes d'apprentissage profond. En imagerie

rétinienne, des travaux récents ont montré des résultats prometteurs de classification automatique en utilisant l'approche d'apprentissage par transfert sur un réseau CNN et en se basant sur peu de données [5].

Pour répondre aux enjeux de notre problématique, nous envisageons d'abord de tester l'apprentissage par transfert sur un réseau CNN de 16 couches « VGG-Net-16 » proposée par Simonyan et al [6].

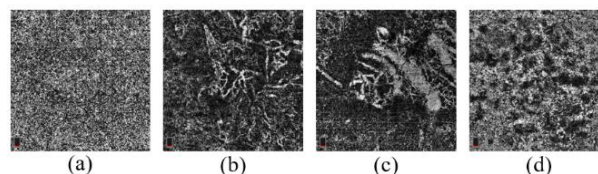


Figure 1: Classes de l'arbre diagnostique OCTA, (a) choriocapillaire normale, (b) néovascularisation, (c) atrophie et (d) masquage choriocapillaire.

## Résultats

Nous avons à ce stade de l'étude constitué une base de données d'environ un millier d'images regroupant les quatre classes et qui est en cours de classification manuelle. Ceci reste insuffisant pour l'apprentissage du modèle et nous confronte donc à un risque de sur-apprentissage. Nous avons réalisé les premiers tests sur une architecture CNN que nous optimisons pour la classification d'images de test. Les premiers résultats du paramétrage du modèle sont encourageants.

## Discussion

En prévision du problème de sur-apprentissage qui risque d'apparaître, notre objectif sera de concevoir une méthode d'apprentissage par transfert sur VGG-Net-16 et de l'appliquer à notre classification d'images rétiniennes OCTA. L'augmentation de données pourrait également constituer une solution en plus de l'enrichissement de notre base avec de nouvelles images OCTA. Une dernière solution pourrait être la réduction du nombre de classes de l'arbre diagnostique.

## Références

1. Wei X et al, *Retina*, 6:1120-1125, 2017.
2. Spaide et al, *Retina (Philadelphia, Pa.)*, 11:2163, 2015.
3. Taibouni, Master en science pour l'ingénieur, 65p, 2018.
4. Grassmann et al, *Ophthalmology*, 9:1410:1420, 2018.
5. Choi et al, *PloS One*, 11:e0187336, 2017.
6. Simonyan et al, *ArXiv preprint* :1409.1556, 2014.

# AUTOMATED MEASUREMENT OF PERI-ORGAN VISCERAL ADIPOSE TISSUE IN MRI AS A POWERFUL BIOMARKER OF METABOLIC PROFILE

Mohamed ZARAI (1), Karine CLEMENT (1,3), Judith ARON (1,3), Nadjia KACHENOURA (1,2), Khaoula BOUAZIZI (1,2), Alban REDHEUIL (1,2,4)

1. Institute of Cardiometabolism and Nutrition (ICAN), Paris, France

2. Laboratoire d'Imagerie Biomédicale (LIB), Paris, France

3. Unité UMRS 1166, NutriOmics team 6, and Nutrition department, Pitié-Salpêtrière Hospital Paris, France

4. Département d'Imagerie Cardiovasculaire et de Radiologie Interventionnelle et Thoracique (DICVRIT), Pitié-Salpêtrière Hospital, Paris, France

## Introduction

Excessive or abnormal accumulation of subcutaneous (SAT) and/or visceral adipose tissue (VAT) alters the metabolic profile and associates with cardiovascular complications [1,2]. Routine measurements are often limited in their diagnostic and prognostic value [3]. Our objective is to propose a new approach to characterize and quantify truncal adipose tissue in MRI and to differentiate patients with metabolic diseases compared to healthy subjects.

## Materials and Methods

MRI acquisitions including cine-SSFP and DIXON were performed at 1.5 T in 121 individuals (64 women, age  $47 \pm 11$ ): 20 obese, 32 metabolic syndrome 50 type II diabetes patients and 19 healthy controls. Cine-SSFP parameters were: TE=1.22 ms, TR=57.8 ms, 26 axial slices with 5 mm thickness, and in-plane resolution of 1.18 mm. Fat maps were acquired using a Dixon sequence (TR=6.96 s, TE1=2.39 ms, TE2=4.76 ms, flip angle  $10^\circ$ , bandwidth 475 Hz/Px). The segmentation of DIXON fat maps was carried out in 4 steps. A mathematical morphology filter was used to increase the contrast between the fat and the background and eliminate the acquisition artifacts. An automatic step allowed for the elimination of the non-interest objects such as arms. An active FTC (Fast Two-Cycle) contour [4] was applied to obtain the SAT. Then we subtracted from the original fat map the SAT in order to have the VAT. Finally, the VAT map without the organs was clustered into 2 classes (peri-organ VAT (pVAT) and deep VAT (dVAT)). Cardiac adipose tissue segmentation was performed manually using a commercial software.

## Results

Very good intra- and inter-operator reproducibility was obtained for AT segmentation ( $R^2 > 0.9$  and mean coefficient of variation  $< 4\%$  for all groups). Obese patients exhibited the largest amount of SAT and VAT ( $P=0.04$ ). Similarly, obese patients had increased amount of dVAT than metabolic syndrome, type II

diabetes patients and healthy controls (all  $P < 0.03$ ). The amount of SAT had a tendency to increase with age for all groups except for diabetics where this quantity decreased significantly with age. The amount of VAT, meanwhile, increased significantly with age for diabetics and healthy subjects. Significant differences between all groups were observed in terms of SAT and pVAT (fig.1). The only significant difference observed between obese and healthy controls was for VAT and dVAT. A significant and positive correlation was found between SAT and ejection fraction for all metabolic patients ( $0.15 < R^2 < 0.8$ ,  $P \leq 0.05$ ). A significant and positive correlation was observed between VAT and cardiac fat for all groups ( $0.18 < R^2 < 0.2$ ,  $P \leq 0.04$ ) except for obese patients ( $R^2 = 0.13$ ,  $P = 0.17$ ).

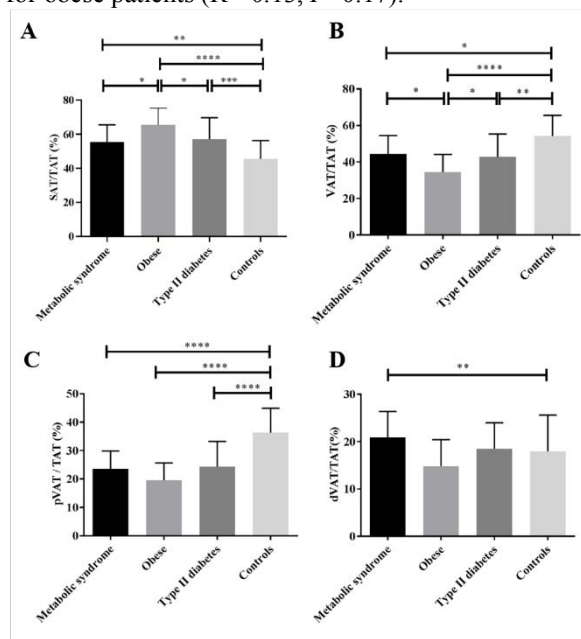


Figure 1. Distribution of different AT compartments in all studied groups.

## Discussion

Accurate and reproducible quantification of the truncular adipose tissue compartments is crucial for metabolic studies since they serve as good indicators of

metabolic and cardiovascular risks. Differential amounts of AT may be automatically and reliably quantified by MRI. They may serve as effective and accurate tool for the diagnosis and differentiation of risk profiles of patients with metabolic diseases and may be considered in the future to predict cardiovascular complications.

## References

1. Kenchaiah S et al. N Engl J Med. 2002;347: 305–313.
2. G. Thörmer et al. J Magn Reson Imaging. 2013;37: 1144–1150.
3. R. N. Bergman et al. Obesity. 2011;19: 1083–1089.
4. Y. Shi and W. C. Karl. IEEE Trans. Image Process. 2008;17: 645–656.

## Sources of funding

This project was supported by EU-FP7 Metacardis.

# MÉTHODE DE CIBLAGE PAR DECIMATION POUR L'IDENTIFICATION D'INFORMATIONS RADIOMIQUES DISCRIMINANTES

Anne-Sophie Dirand, Frédérique Frouin, Irène Buvat

IMIV (UMR1023 Inserm/CEA/Université Paris Sud et ERL 9218 CNRS), CEA SHFJ, 91401 Orsay Cedex

## Introduction

En imagerie médicale, de nombreux travaux s'attachent actuellement à élaborer des modèles radiomiques, ie combinant des informations extraites d'images médicales, pour classer des patients ou des anomalies (eg, bons et mauvais répondeurs à une thérapie). Lorsqu'aucun modèle présentant des performances satisfaisantes n'est identifié, il est difficile de déterminer si cela est dû à l'absence d'informations pertinentes dans les données ou à un nombre insuffisant de patients. Nous proposons une méthode de criblage afin d'identifier la présence d'informations dans les données radiomiques pour une tâche de classification et d'estimer les performances de classification atteignables.

## Méthode

Deux familles de méthodes statistiques (univariées et multivariées) sont considérées pour élaborer des modèles : l'analyse Receiver Operating Characteristic (ROC) univariée et l'apprentissage automatisé (AA). Pour les études ROC et l'AA, la cohorte est séparée en 2 parties, un ensemble composé de données pour l'apprentissage et pour la prédiction des performances et un ensemble pour évaluer la fiabilité de la prédiction. Pour évaluer la stabilité des résultats, cette séparation est répétée 50 fois, en assignant les patients de manière aléatoire à chacune des 2 parties. Les performances de classification sont caractérisées par l'index de Youden (sensibilité + spécificité - 1) et son écart-type ( $YI \pm SD$ ). L'analyse ROC est réalisée pour chacun des paramètres extraits des images en identifiant le seuil maximisant le YI pour prédire le statut du patient. L'AA est réalisé par validation croisée, en utilisant un modèle basé sur les séparateurs à vaste marge ou la régression logistique avec ou sans réduction de dimension et la méthode LASSO (Least Absolute Shrinkage and Selection Operator). Le criblage est effectué en partant du nombre total de patients et en diminuant l'effectif par étape pour créer des sous-échantillons de plus en plus petits (par pas de 40 patients pour C1 & C3 et 27 patients pour C2). Les performances attendues ( $YI_c$ ) si l'effectif était suffisant pour atteindre la convergence sont estimées en ajustant la courbe représentant l'évolution des YI pour chaque sous-échantillon par un modèle logarithmique:  $YI(N_k) = a \cdot \ln(N_k) + b$  (Eq 1) et en estimant sa valeur à convergence. La qualité de la prédiction est mesurée par l'index QP défini par :

$$\frac{YI - YI_r}{3 \cdot SD_r} \quad (\text{Eq 2})$$

avec  $YI_r$  et  $SD_r$  étant  $YI \pm SD$  obtenus à convergence, ie lorsque YI n'augmente plus quand l'effectif augmente.  $QP < 1$  indique une bonne précision.

La méthode a été évaluée sur 2 cohortes C1 [1], C2 [2] et sur une cohorte C3 artificiellement créée et dénuée d'information prédictive, en simulant, à partir de ces 3 cohortes, 130 configurations correspondant à des effectifs de départ allant de 40 à 360 patients (C1 & C3) et de 27 à 214 patients (C2).

## Résultats

Pour C1, 5 méthodes (ROC-LR, ROC-SVM, PCA-SVM, LDA-SVM & LASSO) de classification convergent (11 pour C2) dès lors que la cohorte contient au moins 200 patients pour certaines méthodes de classifications (110 pour C2). Seules ces méthodes de classification sont considérées dans la suite. Pour 28/30 cas,  $QP < 1$  pour C1 (49/55 pour C2, 45/45 pour C3). Les performances atteignables à convergence (ie avec une cohorte plus grande que la cohorte analysée dans la configuration) peuvent être prédites de manière précise (exemple en tableau 1) et la méthode de criblage ne conclut pas à une présence d'information lorsqu'il n'y en a pas (Youden entre -0.03 et 0.05).

Nombre de patients maximum	Youden obtenu par AA	$YI_c$
360	0.73	0.74
320	0.69	0.75
280	0.64	0.74
240	0.59	0.71
200	0.50	0.73
160	0.46	0.76

Tableau 1 : Index de Youden prédit en fonction de différents effectifs pour PCA-SVM sur la cohorte C1. Le tableau montre que la méthode proposée prédit correctement les performances à convergence dès lors que l'on dispose de 160 patients alors que la convergence est observée à partir de 320 patients.

## Conclusion

La méthode de criblage proposée permet de déterminer, à partir d'un jeu de données, s'il existe des informations suffisantes pour une tâche de classification et estime les performances de classification atteignables.

## Références

1. Kirienko et al, Eur J Nucl Med Mol Imaging, 45:1649-1660, 2018.
2. Wolberg et al, Hum Pathol 26:792-796, 1995.