



Posters

Recueil des Résumés



Imagerie Médicale Et Biologique

ELASTOGRAPHIE PAR RESONANCE MAGNETIQUE SUR PORCELET : METHODE RAPIDE POUR VERIFIER LA RESISTANCE HEPATIQUE

Hans Adriaensen (1), François Lecompte(1), Mohamed Bekheit (2), Petru Bucur (2,3), Mylène Wartenberg (4), Chloé Audebert (4,5), Irene Vignon-Clementel (4,5), Eric Vibert (2)

1 Plate-forme CIRE, UMR-PRC, 37380 Nouzilly ; 2 INSERM U1193, Hôpital Paul Brousse, 94800 Villejuif ; 3 Transplantation service and hepatic surgery, Hôpital Trousseau 37000 Tours ; 4 Recherche team REO, INRIA Paris Rocquencourt 78153 Le Chesnay ; 5 Sorbonne Universités, UPMC Univ Paris 06

Introduction

Le programme **iFLOW** (Intraoperative Fluorescent Liver Optimization Workup), réalisé par l'unité INSERM U785 de l'hôpital Paul Brousse à Villejuif, vise à étudier l'effet d'une hépatectomie partielle d'environ 75% sur des porcelets. Cette étude devrait aboutir à la mise en place d'un modèle mathématique qui servira à évaluer le pourcentage de foie qui peut-être réséqué au cours d'une hépatectomie parfois nécessaire dans certaines pathologies.

Les acquisitions au CT (Computed Tomography) scan permettent de modéliser le foie en 3D.

L'Elastographie par Résonance Magnétique (ERM) est une technique d'imagerie médicale non invasive qui mesure les propriétés mécaniques (rigidité, dureté) des tissus mous en introduisant des ondes de cisaillement et en observant leur propagation en Imagerie par Résonance Magnétique (IRM).

Les tissus pathologiques sont souvent plus rigides et durs que les tissus sains environnants. Le foie devient plus rigide après résection à cause de l'augmentation de la pression intraparenchymale liée au flux sanguin.

Technologie innovante

Mise au point de séquence de flux et d'Elastographie par Résonance Magnétique sur porcelets soumis à des hépatectomies majeurs.

Méthodologie

Dans un premier temps les porcelets sont imagés au CT afin de modéliser la partie du foie à réséquer et à prédire l'endroit où les vaisseaux seront sectionnés.

Puis nous mettons en place une expérience en IRM utilisant le kit d'élastographie Resoundant™, avec une amplitude d'émission de 30% du système, couplé à la séquence d'acquisition pour comparer l'état des ondes de propagation dans le foie avant et après hépatectomie (figure 1). Le mode de propagation de ces ondes est par la suite corrélé avec le flux sanguin mesuré par IRM. Le calcul de débit sanguin est réalisé dans divers vaisseaux tels que le tronc porte, l'aorte ascendante, l'artère hépatique et l'artère mésentérique grâce à l'imagerie fonctionnelle par contraste de phase [1].

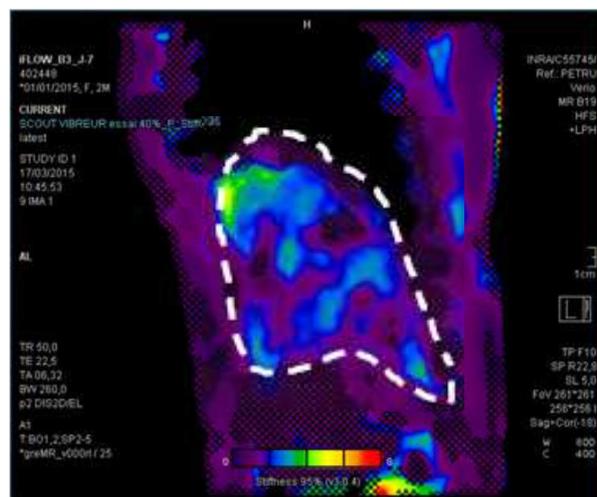


Figure 1 : Carte de rigidité du foie calculé en IRM suite aux acquisitions d'ERM.

Conclusion

Lorsque les paramètres de rigidité et de flux sont bien maîtrisés, il est possible de prédire le pourcentage de foie qui peut-être réséqué.

Le foie du porc est très semblable à celui de l'être humain. A terme, cette méthode devrait être transposable à l'être humain et ceci engendrera une percée technologique pour les applications en clinique humaine. La rigidité du foie est plus élevée après hépatectomie partiel de 75%.

Références

1. Transit time ultrasound perivascular flow probe technology is superior to MR imaging on hepatic blood flow measurement in a porcine model. Mohamed Bekheit, Chloé Audebert, Petru Bucur, Hans Adriaensen, Emilie Bled, Mylène Wartenberg, Irene Vignon-Clementel, Eric Vibert. *Hepatobiliary & Pancreatic Diseases International*. (2018), 17(6), 538-545

Remerciements

Nous remercions la plate-forme CIRE qui a œuvré pour le suivi des porcelets *per-* et *post-* opératoire.

Nous remercions les Dr Petru Bucur, Eric Vibert et Mohamed Bekheit pour leur implication dans la chirurgie. Ce travail a été financé par le projet ANR iFLOW.

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 quantitativs 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 : a) 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.

RADIOGENOMICS : A NEW MULTIMODAL AND MULTIOMIC PEDIATRIC BRAIN TUMOR DATA SHARING WEB SERVICE

Hélène Urien (1), Antoine Grigis (1), Cathy Philippe (1), Vincent Frouin (1)

1. UNATI, Neurospin, CEA Paris-Saclay, Gif-sur-Yvette, France

Introduction

Glioma is the most frequently encountered pediatric brain tumor, and leads to poor 3-year survival rate (15-20%). In this context, the HERBY clinical trial, conducted by an international consortium supervised by Institut Gustave Roussy (France), aimed at assessing the efficiency of adding bevacizumab, an anti-angiogenic drug, into the treatment planning on young patients. The results show that bevacizumab does not improve the survival rate for young patients, while it was successful for adults [1, 2]. In the meantime, this study has provided us with diversified data, including multimodal and longitudinal neuro-imaging, clinical and genomic data, which we would like to incorporate into a web-service. Currently, consortia such as UK Biobank [3] and EU-AIMS [4] have released large-scale data sharing web services for imaging-genetics data. We are striving to develop a similar framework in the context of imaging-genetics in neuro-oncology by combining smaller-scale cohorts, including HERBY and with more complex data. Due to heterogeneous database organization and acquisition protocols, a common challenge in such frameworks is data standardization. In this paper, we propose to share our standardization data pipeline on a web service, to further address hot topics in clinical oncology.

Method

Within the imaging data, usable images, excluding screenshots or calibration images, were identified and organized using the BIDS format [5]. An automatic cleaning step was then applied to eliminate timepoints that do not follow the acquisition guidelines, and images with limited field of view or showing a non-neurological organ. Anonymization was performed on the patients' identifiers using double encoding, and on the MR images by performing a defacing algorithm [6]. Manual standard quality control was then performed on the database to evaluate the defacing quality (see Figure 1). The data passing quality checks are available in the Radiogenomics web service built on the PIWS publication software based on CubicWeb [7].

Results

The data hosted by the server includes 117 patients with pediatric high grade glioma (HERBY), in addition to 50 (PREBIOMEDE) and 38 (BIOMEDE) young patients with diffuse intrinsic pontine gliomas (DIPG).

For now, available data consist in clinical tables and medical images (mostly T1Gd and FLAIR, but also T1, T2, diffusion, perfusion and Arterial Spin Labelling). The server currently embedding the images, as well as demographic data and metadata, is available at the url <https://radiogenomics.cea.fr/main> and is ready to be shared within the HERBY consortium which manages the data access rights.

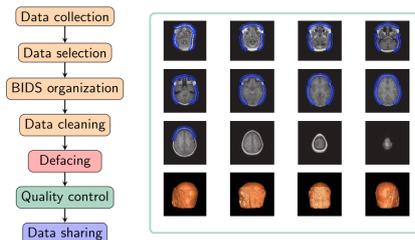


Figure 1 : the pediatric glioma pipeline producing the images currently available on the web server (left), including a quality control step (right).

Discussion

In this work, we described a pipeline to standardize image data from different clinical cohorts. We conducted anonymization and quality control of the patient data, including longitudinal image timepoints with multiple MR sequences. The robustness of our framework relies in the compliance with common standardization rules such as BIDS or defacing, which is shared with other online databases. The sharing process employs the freely available PIWS web semantic framework. The shared data is currently ready for use in various research projects within the consortium, and are ready to feed various machine learning procedures in order to find some predictive biomarkers.

References

1. Mackay, A., et al, Cancer Cell, 33.5:829-842, 2014.
2. Grill, J., et al, Journal of clinical oncology: official journal of the American Society of Clinical Oncology, 36.10:951, 2018.
3. Sudlow, C. et al, PLoS medicine, 12(3):e1001779, 2015.
4. Murphy, D. et al, Nature Reviews Drug Discovery, 11(11):815, 2012.
5. Gorgolewski, K.J., et al, Scientific Data, 3(2018): 160044, 2018.
6. Milchenko, M. et al., Neuroinformatics, 11.1(2013):65-75, 2013.
7. Grigis, A. et al, Frontiers in Neuroinformatics, 11:18, 2017.

LE DÉFI DE LA TRACTOGRAPHIE APPLIQUÉE AUX NERFS CRANIENS: CONCEPTION DES RÉGIONS D'INTÉRÊT

Timothée Jacquesson¹, Méghane Decroocq^{* 1}, Justine Bosc¹, François Cotton¹, Carole Frindel^{† 1}

¹ Univ. Lyon, INSA-Lyon, Université Claude Bernard Lyon 1, UJM-Saint Etienne, CNRS, Inserm, CREATIS UMR 5220, U1206, F69621, VILLEURBANNE – CNRS : UMR5220, Inserm – France

Introduction

L'imagerie par tenseur de diffusion (DTI) permet de suivre les fibres de matière blanche in vivo par tractographie. La prédiction de la trajectoire des nerfs crâniens (CN) est importante pour la chirurgie des tumeurs de la base du crâne. Cependant, la précision de la tractographie est rendue difficile par la petite taille des CN au regard de la faible résolution spatiale de la DTI. La tractographie des CN nécessite également un tracé précis des régions d'intérêt (ROI) pour lancer le processus de suivi des fibres. Or, la conception des ROI s'est avérée très variable dans les études de tractographie liées aux CN: ROI simple [1] ou ROIs multiple [2]; ROI positionnée le long ou orthogonalement au CN [3], ROI ronde ou carrée, ROI placée à différentes localisations anatomiques [4]. Nous proposons donc de rendre compte de notre expérience en matière de tractographie des CN, et d'étudier plus précisément l'influence de la taille et du placement des ROIs.

Méthodes

Participants: Patients présentant des tumeurs complexes de la base du crâne adressés à notre service de neurochirurgie (Lyon, France).

Acquisition des images: une séquence d'IRM de diffusion dédiée a été acquise sur une machine Achieva 3 T (Philips) à l'aide d'une antenne tête à 32 canaux. Les paramètres de diffusion étaient les suivants: $b=1000$ s /mm²; 32 directions; taille du voxel=2 mm isotrope; épaisseur de coupe=2 mm; pas de gap ; champ de vue=224x224; temps d'acquisition=10 min. Deux séquences IRM (T2 et T1 après injection d'agent de contraste) ont été ajoutées pour la référence anatomique et la reconstruction morphologique de la tumeur.

Post-traitement: Les distorsions géométriques ont été corrigées grâce à FSL® (FMRIB, Royaume-Uni). Le processus de tractographie a été réalisé à l'aide du logiciel Mrtrix3 (J-D Tournier, Australie). Une déconvolution sphérique contrainte (6 harmoniques sphériques) a été utilisée pour créer une carte ODF (distribution des orientations des fibres). Les ROI pour l'initiation de

*Intervenant

†Auteur correspondant: carole.frindel@creatis.insa-lyon.fr

la tractographie ont été tracées en superposant la carte ODF sur l'IRM T2 afin d'identifier la trajectoire du CN avec une grande précision. Pour tous les CN, une tractographie probabiliste a été appliquée avec les paramètres suivants: pas=0,1 mm ; angle de courbure maximal=45°, seuil d'anisotropie fractionnelle = 0,3. L'ensemble du post-traitement a duré environ 30 minutes avec un ordinateur doté d'un processeur multicœur (Intel Core® i7, 2,3 GHz, Intel Corporation®, USA / 16 Go 1600 MHz DDR3).

Validation: La position des CN déplacés a été confirmée en intra-opératoire par visualisation directe.

Résultats et discussion

Entre 2016 et 2018, 62 patients ont été inclus et 700 CN ont ainsi été suivis [5]. Du côté sain, la plupart des CN ont été correctement suivis, y compris les nerfs optiques, oculomoteurs, trijumeaux, abducens, acousto-faciaux et inférieurs. Le nerf trochléen était trop mince pour être vu sur l'IRM T2 et le nerf hypoglossal était souvent hors de la boîte d'acquisition. Le suivi des CN à proximité des tumeurs a été difficile, en particulier lorsque les caractéristiques du CN étaient fortement modifiées: étirement, enveloppe par la tumeur, etc. En ce qui concerne la conception des ROI, la modification de la taille des ROI n'avait que peu d'influence tant que les tenseurs de diffusion décrivant la trajectoire du CN étaient toujours choisis et que les autres CN n'étaient pas sélectionnés (Figure 1). Inversement, même un léger déplacement de la ROI a considérablement modifié la quantité de fibres reconstruites. En effet, une ROI initialisant le processus de tractographie trop près du tronc cérébral a conduit à de fausses continuations de fibres en recrutant des voies ponto-cérébelleuses (Figure 2 à gauche). Tandis qu'une ROI déplacée latéralement fournissait moins de fibres en raison d'une diminution de l'anisotropie loin du tronc cérébral via la base du crâne (Figure 2 à droite).

Conclusion

Dans ce travail, nous avons décrit notre expérience de la tractographie des CN détaillant l'influence de la conception des ROIs. Nous avons démontré que la compréhension détaillée de la conception des ROIs et de son influence permet de fournir des fibres cohérentes.

Références

- Kabasawa H et al. Radiat Med. 2007;25(9):462-466.
- Song F et al. J Neurosurg. 2016;125(4):787-794.
- Yoshino M et al. Neurosurgery. 2016;79(1):146-165.
- Roundy N et al. J Neurosurg. 2012;116(4):697-702.
- Jacquesson T. et al. Neurosurgery. 2018

Mots-Clés: Imagerie de tenseur de diffusion, Tractographie, Tumeurs, Planning chirurgical

REAL TIME INTRAOPERATIVE BRAIN MAPPING USING A RGB CAMERA

Charly Caredda (1), Laurent Mahieu Williame (1), Raphaël Sablong (1), Michaël Sdika (1), Jacques Guyotat (2) and Bruno Montcel (1)

1. Université de Lyon, INSA-Lyon, Université Claude Bernard Lyon 1, UJM-Saint Etienne, CNRS, INSERM, CREATIS UMR 5220, U1206, F9100, Lyon, France ;
2. Service de Neurochirurgie D, Hospices Civils de Lyon, Bron, France

Introduction

Non invasive functional brain mapping is an imaging technique used to localize the functional areas of the brain. This technique is used before brain tumor resection surgery to indicate to the neurosurgeon the cortical tissues which should not be removed without cognitive impairment. f-MRI is widely used to localize the patient sensory or motor areas. However, after patient craniotomy, a brain shift invalidates the relevance of neuro-navigation to intraoperatively localize the functional areas of the patient brain. Electrical brain stimulations are achieved to complement f-MRI measurements.

Chance *et al.* [1] have demonstrated that optical imaging can be used to monitor the brain activity with the determination of the concentration changes of oxygenated hemoglobin ΔHbO_2 and deoxygenated hemoglobin ΔHb . It also has been demonstrated that a device consisting of a continuous wave wight light illumination and a RGB camera is a suitable approach [2-3].

The objective of this work is to supply the methodological tools for the real time construction of quantitative functional brain maps based of the analysis of the cortical reflectance spectra acquired by a RGB camera and the analysis of the hemoglobin time courses in the brain tissue following neuronal activation (which is closely linked to the BOLD contrast used in f-MRI studies).

Material and methods

During the video acquisition, the patient was awakened. The stimulation of the motor cortex was achieved through a repetitive and alternative hand opening and closing at ≈ 1 Hz. The paradigm consisted of 3 steps: 30s of rest, followed by 30s of stimulation and 30s of rest.

Once a frame was acquired, the brain motion due to the patient breath and the cardiac pulsation was compensated [4]. Then, the RGB values of the pixels contained in a ROI were corrected [5] and filtered [1]. Finally, the hemoglobin concentration changes were calculated with the modified Beer Lambert law [6].

The assessment of the hemoglobin concentration changes depends on the determination of the optical mean path length of the detected photons. Monte carlo simulations [7] were processed to estimate a global mean path length.

As soon as the hand stimulus of the patient started, the computed concentration changes time courses were compared to the expected hemodynamic response with

the Pearson correlation coefficient. For each pixel whose correlation coefficient is superior to a threshold value, two quantitative functional maps were processed (QMAP). These maps corresponded to the Hb and HbO_2 concentration changes averaged over the patient cortical activity.

Results and discussion

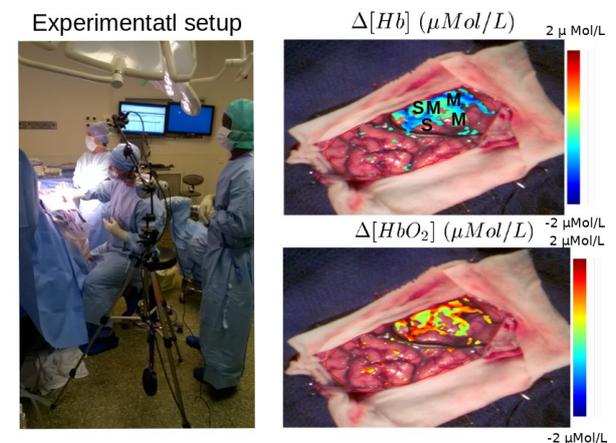


Figure 1: Experimental setup and quantitative functional maps. *M*: motor area. *S*: sensory area.

In Fig. 1, two quantitative functional maps are represented. The highest QMAP values are localized on the sensory and motor areas. The results show that our method can be a useful tool to complement the intraoperative gold standard for the detection of the patient functional areas. However, this model can be improved with a pixel-wise determination of the optical mean path length of the detected photons and GPUs computing acceleration.

References

1. Chance B. *et al.*, Proceedings of the National Academy of Sciences 90, 3770-3774 (1993).
2. Malonek D. *et al.*, Science 272, 551-4 (1996).
3. Steimers A. *et al.*, SPIE-OSA 736813 (2009).
4. Sdika M. *et al.*, Medical Image Analysis 53, 1-10 (2019).
5. Oelschlägel M. *et al.*, Biomedical Engineering 58 (2013).
6. Kohl-Bareis M. *et al.*, (2012).
7. Fang Q. *et al.*, Optics express 17, 20178-20190 (2009).

Acknowledgments

This work was supported by France Life Imaging (FLI) and the Labex PRIMES (ANR-AA-LABX-0063) of Université de Lyon, within the program Investissements d'Avenir (ANR-11-IDEX-0007) operated by the French National Research Agency.

QUANTITATIVE ULTRASOUND IN EX-VIVO FIBROTIC RABBIT LIVERS

Emilie Franceschini ^{*† 1}, Jean-Michel Escoffre ², Anthony Novell ², Laurent Auboire ², Vanda Mendes ², Yanis M. Benane ³, Ayache Bouakaz ⁴, Olivier Basset ³

¹ Laboratoire de Mécanique et d'Acoustique – Aix-Marseille Université, CNRS, Centrale Marseille, Marseille, France – France

² iBrain – UMR 1253, Université de Tours, Inserm, Tours, France., UMR 1253, Université de Tours, Inserm, Tours, France – France

³ CREATIS – Univ. Lyon, INSA-Lyon, Université Claude Bernard Lyon 1, UJM-Saint Etienne, CNRS, Inserm, UMR 5220, U1206, Lyon, France – France

⁴ 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

Context and objectives

Diagnosis and assessment of liver fibrosis grade required for management is mainly based on blood tests and invasive hepatic puncture-biopsy. Quantitative UltraSound (QUS) techniques provide insight into tissue microstructure and are based on the frequency-based analysis of the signals from biological tissues. This study aims to explore the diagnostic performance of QUS technique in high frequency (10-40 MHz) for detection of liver fibrosis. The changes in QUS parameters of healthy and fibrotic livers were investigated and were compared to the changes in liver stiffness using supersonic shear elastography. [1].

Methodology

CCL4 (v/v in olive oil) was s.c. injected in the rabbit neck for 3, 6, 9 or 12 weeks to induce different liver fibrosis stages (2-3 rabbits/group). Attenuation and backscatter coefficients (BSCs) were estimated (in the 10-30 MHz [MS250 probe] and 20-40 MHz [MS550S probe] frequency bandwidth, with Vevo2100 scanner) using the spectral difference method and the reference phantom method, respectively. Effective scatterer diameter and effective acoustic concentration were estimated by fitting the measured BSC to an estimated BSC calculated with a spherical Gaussian model. Liver stiffness was measured using shear wave elastography (SSI). Finally, histopathological analysis of livers was performed using picosirius red staining in order to rank the livers according to the Ishak fibrosis staging scale.

Results

In agreement with the literature, our data showed that the elastic modulus values were on the order of several thousand of Pascals and increased with the fibrosis grade. the EAC was

*Intervenant

†Auteur correspondant: franceschini@lma.cnrs-mrs.fr

found to decrease with increasing fibrosis grade and the ESD was found to be higher in fibrotic livers when compared to normal liver. The EAC parameter was shown to be more sensitive to changes in fibrotic tissues when compared to ESD parameter, especially for differentiating between moderate (G1-2) and severe (G3-5) fibrosis. The results reported here also suggest that ESD and EAC bring complementary information to standard stiffness measurements for fibrosis classification, since the combination of the three QUS parameters (Young's modulus, ESD and EAC) provides the best classification performance. Further study should be performed to demonstrate the superiority of the QUS approach combining tissue microstructure and stiffness in human clinical study for classifying liver fibrosis.

Références

- Franceschini E et al, Ultrasound Med Biol, en révision.

Remerciements

The authors acknowledge Mrs V. Schubnel (PST Animalerie, Universit de Tours, France) for the animal experience. We are grateful for the technical support from Visualsonics. This work was supported by the French National Research Agency under grant ANR TecSan 11-008-01 (OB), and ANR-11-IDEX-0001-02 (EF) and Inserm grant (JME, AB).

Mots-Clés: Quantitative UltraSound, liver fibrosis, elastography, high frequency

DEVELOPPEMENT D'UN PROTOTYPE D'ENDOSCOPE MULTISPECTRAL POUR LE PETIT ANIMAL

Charly Caredda (1), Bruno Montcel (1), Driffa Moussata (2), Raphaël Sablong (1)

1. Université de Lyon, INSA-Lyon, Université Claude Bernard Lyon 1, UJM-Saint Etienne, CNRS, Inserm, CREATIS UMR 5220, U1206, F69100, Lyon, France ;

2. Hôpital Régional Universitaire de Tours - Service hépato-gastroentérologie, Tours, France

Introduction

L'amélioration continue des composants optoélectroniques, notamment en termes de miniaturisation, a peu à peu amené les constructeurs d'endoscopes cliniques à remplacer les traditionnels faisceaux de fibres optiques par des capteurs d'images à haute définition, reliés à la centrale de traitement par des liaisons électriques, et ceci pour la majorité des applications concernant l'endoscopie du tractus digestif [1]. Si les avantages pour l'opérateur sont indéniables en termes de qualité de rendu et pour la maniabilité du tube souple principalement, il reste que ce procédé de conversion directe réduit le contenu informationnel puisqu'il s'agit d'une projection amont dans l'espace colorimétrique. Or on connaît dans d'autres contextes d'optique biomédicale le bénéfice diagnostique que l'on peut tirer d'une analyse spectrale de la lumière interagissant avec les tissus [2,3].

Dans le domaine de la coloscopie précisément, des prototypes de fibroscopes hyperspectraux [4], insérables dans le canal opérateur de l'endoscope, ont récemment été développés pour aider la caractérisation tissulaire au titre d'outils de « biopsie optique ». Ils ne sont cependant pas des instruments de détection plein champ. Nous proposons ici de développer un banc optique et optoélectronique, combinable dans un premier temps à un endoscope rigide utilisable dans le cas de l'exploration du côlon chez la souris [5] afin de permettre une évaluation in vivo de l'imagerie mutispectrale plein champ pour aider à la détection temps réelle de pathologies coliques. Ce montage devra cependant être basé sur un principe compatible avec les endoscopes à capteurs d'imagerie intégrés aux tubes souples, et ne pas se limiter aux endoscopes rigides.

Méthodes

Le montage proposé (voir Figure 1) consiste à coupler un endoscope optique à une caméra permettant des acquisitions à des cadences égales à plusieurs fois la fréquence video. L'ordinateur est l'ordonnanceur de ce système synchrone. Il récolte et traite les informations délivrées par la caméra et le spectromètre. La carte arduino synchronise les acquisitions d'image d'une part et les séquences d'illuminations à bandes spectrales réduites d'autre part. Le spectromètre, qui acquiert des données à chaque nouvelle séquence d'illumination, participe à l'étalonnage et à la correction des dérives

éventuelles pour l'interprétation quantitative des variations locales de réflectance spectrale. Le couplage au canal d'illumination s'effectue au moyen d'une optique dédiée.

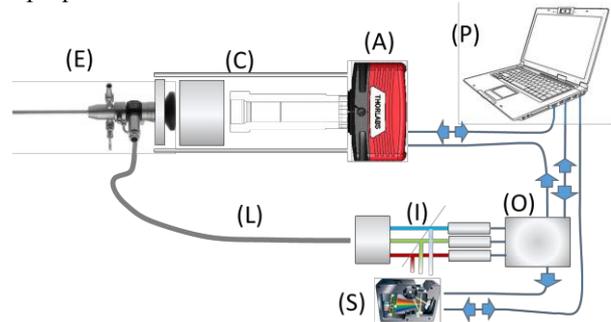


Figure 1: Schéma synoptique de l'endoscope multispectral : (E) Endoscope petit animal / (C) Cage d'alignement optique / (A) Caméra / (L) Guide de lumière / (O) Contrôleur Arduino / (I) Sources d'illumination multispectrale / (S) Spectromètre / (P) Ordinateur portable // Les liaisons à flèches symbolisent les canaux d'échanges de signaux de commandes et/ou de données. NB : les seuls éléments étant à la même échelle sont (E), (C) et (A).

Résultats

La combinaison des principaux composants choisis nous permet désormais de nous assurer de la faisabilité de la méthode, et de mettre en place des tests d'estimation des performances en termes de résolution spatiale et spectrale sur fantômes.

Discussion

Ces premiers résultats positifs nous engagent à tester différentes stratégies de séquences d'éclairiment propres à exalter notamment le contraste oxymétrique de l'image. Ceci nous invite à envisager une campagne de mesure sur modèle murin lors d'études multimodales telle que celles menées au laboratoire [6].

Références

1. Moussata D et al, Gut 2018, 67(4):616-624, 2018.
2. Montcel B et al, Biomedical Optics Express, 4 :548-58, 2013.
3. Dahr S et al, Biomedical Optics Express, 3:3211-22, 2012.
4. Kumashiro R et al, Anticancer research 36:3925-32, 2016.
5. Waldner MJ et al, Nat Protocol, 6(9):1471-81, 2011.
6. Dorez H et al, MAGMA, 29(4):657-69, 2016.



Anticorps thérapeutiques Nanomédecines

SITE-SPECIFIC CONJUGATION OF AURISTATINS ONTO ENGINEERED ANTIBODY FRAGMENTS TO TARGET HER2-POSITIVE BREAST CANCER IN VITRO

Nicolas Aubrey ¹, Allard-Vannier Emilie ², Imene Ait Mohamed Amar * ³, Juliette Lamamy ⁴, Clément Gautron ⁴, Catherine Horiot ⁴, Louis Jolivet ⁴, Stephanie Letast ³, Camille Martin ³, Cyril Colas ⁵, Zineb Lakhrif ⁴, Isabelle Dimier-Poisson ⁶, Igor Chourpa ⁴, Marie-Claude Viaud-Massuard ³, Nicolas Joubert ³

¹ UNIVERSITE DE TOURS (UMR 1282 INRA) – Université de Tours – 31, Avenue Monge 37200 TOURS, France

² UNIVERSITE DE TOURS (EA6295) – Université de Tours – 31, Avenue Monge 37200 TOURS, France

³ Génétique, Immunothérapie, Chimie et Cancer – Université de Tours, Centre National de la Recherche Scientifique : UMR7292 – France

⁴ Université de Tours – Université de Tours, Université de Tours – France

⁵ Institut de Chimie Organique et Analytique (ICOA) – Université Orléans – Rue de Chartres 45067 Orléans cedex 2, France

⁶ BioMAP-BioMédicaments Anti Parasitaires – Université François Rabelais - Tours, Institut National de la Recherche Agronomique - INRA (FRANCE) – BioMAP-BioMédicaments Anti Parasitaires UMR Université - INRA 1282 INFECTIOLOGIE ET SANTE PUBLIQUE Faculté de Pharmacie de Tours 31 avenue Monge 37200 Tours, France

Introduction

The combination of a highly potent cytotoxic agent (drug) with a specific therapeutic monoclonal antibody (mAb) *via* a suitably constructed spacer arm (linker) (Figure 1) appear to be an ideal embodiment of the "magic bullet" concept leading to the development of a novel therapeutic class named Antibody-Drug-Conjugates (ADC) [1]. These armed antibodies can be viewed as a way to improve tumor-cell killing while sparing normal tissues. While ADC have been successfully implemented in clinical strategies for the treatment of hematological cancers, the case of solid tumors suffer from insufficient ADCs activity at the maximum doses that can be tolerated. Currently, almost all ADC in clinical trials are based on canonical IgG molecules associated with limitations including bad tumor penetration as well as Fc-mediated off-target toxicity, due to an increase of normal tissue exposure (due to long half-life *via* FcRn recycling) and cross reaction with immune cells (due to FcγR interactions).

Thereby, the aim of our project is to use antibody fragments to try to circumvent this limitations.

*Intervenant

Methodology

Our strategy is based on a site-specific conjugation [2], [3] of an auristatin derivative onto an engineered anti-HER2 antibody fragment including single chain fragment variable (scFv) of the trastuzumab antibody, generating new scFv-drug conjugates (SDC). Cysteines were judiciously incorporated in the scFv aminoacid sequence to allow controlled bioconjugation of a heterobifunctional linker, either cleavable (for monomethyl auristatin E) or noncleavable (for monomethyl auristatin F) (Figure 1).

Results and discussion

The cytotoxicity profiles of conjugates were evaluated *via in vitro* assays, on HER2-overexpressing (SK-BR-3) and HER2-negative (MCF-7) cell lines (figure 2). Among our tested conjugates, both SDCs scFv-VC-MMAE and scFv-MMAF, with a DAR of 1.0, demonstrated high cytotoxicity against the target SK-BR-3 cell line at subnanomolar concentrations with similar efficacy (EC50 of 0.68 nM and 0.32 nM respectively, Figure 2) [4]. Another SDC scFv-MMAF, with a DAR of 2, exhibited an even better activity on SK-BR-3 (EC50 of 70 pM). Until now, our smaller conjugates have not yet reach the potency of our ADCs (EC50 of 17 pM). Therefore, we are working on the design of more effective small conjugates, paving the way for future *in vivo* translation to evaluate their full potential.

Mots-Clés: Small, Format Drug Conjugate, Site, Specific Conjugation, Breast Cancer, HER2, POSITIVE

Deposition in three nasal cast models with a new concept of nasal administration (Retronose) vs nasal spray

Déborah Le Pennec * ¹, Laurent Vecellio *

, Guillaume Grevin *

, Alain Regard *

¹ CEPR, Inserm U1100 – UFR médecine et pharmacie – France

Nasal drug delivery is a non-invasive method that allows a rapid and high local therapeutic effect. It also offers significant opportunities for new drug development in order to deliver systemic drugs, vaccines and treatments for the central nervous system. A recent study on chronic rhinosinusitis (CRS) patients has shown how corticosteroids deposition distribution in the nasal cavities can have an impact on clinical outcomes. This study has demonstrated the importance of a homogenous deposition in the different target regions of the nasal cavity to treat CRS. A different aerosol concept has been developed for better drug deposition in the distal region of the nose without lung deposition. This new device (Retronose) uses a breath-actuated pMDI to administer the drug through the buccal cavity during the nasal expiratory phase. The drug particles enter the nasal cavities through the rhino pharynx, which has a significant impact on drug deposition profile. This main objective of our study was to compare the deposition obtained by nasal spray to Retronose prototype using three different nasal casts.

The Retronose® prototype device (Inhalia®, Nemera, France) was filled with HFA 134a gas (no surfactant) and a 12 μ m active compound (API-1) particle size, resulting in a $14.8 \pm 0.4 \mu\text{m}$ in term of Mass Median Aerodynamic Diameter measured by cascade impactor [3]. A standard nasal pump (Flixonase®, France, GSK) was filled with API-1 solution resulting $48 \pm 2 \mu\text{m}$ in terms of volume mean diameter measured by laser diffraction (n=3). API-1 deposition in the nasal casts was studied using three different anatomical models.

The deposition differences between nasal spray and Retronose can be explained by the particle size and the route of administration. Particle size generated by the Retronose device is smaller (12 μ m) than the nasal spray (47 μ m) and the kinetic of the particles in the nasal cavities should be different, resulting in difference in term of deposition. The Retronose device resulted in a 50% deposition into the mouth model, which can be explained by the particle velocity generating by the pMDI. The homogenous deposition obtained with the Flixotide® Retronose® prototype device demonstrates the ability to address the cortisteroid directly into the different anatomical region of interest including sinuses.

Overall, the Retronose device reduces the variability of nasal deposition and allows a more

*Intervenant

homogenous deposition than the nasal spray in different models of anatomical regions. The Retronose device could be of interest for local, vaccine and systemic drugs delivery.

Mots-Clés: nasal delivery, nasal spray, device

Airway administration of therapeutic antibody (tAb) confers higher protection than parenteral administration in a murine model of acute lung infection

Nathalie Vourc'h *¹, Thomas Sécher , Emilie Dalloneau , Christelle Parent , Nicolas Azzopardi , Gilles Paintaud

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

P. aeruginosa lung infections are associated with considerable morbidity and mortality in patients due to antibiotic resistance. *P. aeruginosa* is a major threat to human health and require the promotion of novel anti-infectious agents. Among those under evaluation, pathogen specific tAbs display multiple advantages, including a low risk of unpredicted toxicity and a unique pharmacological profile. Antibodies approved or under development for RTI are mainly administered intravenously. However, the airways represent an attractive route for the delivery of drugs designed for treating respiratory diseases. Herein, we compared the efficacy and fate of anti-*P. aeruginosa* pcrV monoclonal antibody (mAb166) according to its route of administration in a murine model of acute pneumonia.

We observed that airway-administered mAb166 exhibited a favorable pharmacokinetics during the acute phase of the infection. This was associated with a better protection of mice against pneumonia as compared to other delivery routes. In addition, airway administration reduced lung inflammation and enhanced bacterial clearance. Airway delivery of mAb166 was correlated with an increased recruitment of neutrophils in the airways. In addition, the humoral immune response was transiently enhanced in mice treated with airway-administered mAb166.

In conclusion, we provide evidences that airway administration of tAb led to a more potent anti-bacterial response in mice as compared to parenteral administration and opens new perspectives for the treatment of respiratory tract infections.

Mots-Clés: therapeutic antibody, aerosol, pulmonary infection, pharmacology

*Intervenant

NONLINEAR PHARMACOKINETICS AND CONCENTRATION-EFFECT RELATIONSHIP OF RITUXIMAB IN VASCULITIS

Amina Bensalem (1), Denis Mulleman (1,2), Gilles Paintaud (1,3), Nicolas Azzopardi (1,4), Valérie Gouilleux-Gruart (1,5), Divi Cornec (6,7), Ulrich Specks (6), David Ternant (1,3)

1. Université de Tours, EA 7501 GICC, Tours, France; 2. Department of Rheumatology, CHRU de Tours, Tours, France; 3. Department of Medical Pharmacology, CHRU de Tours, Tours, France; 4. CNRS ERL 7001, Tours, France; 5. Laboratory of Immunology, CHRU de Tours, Tours, France; 6. Division of Pulmonary and Critical Care Medicine, Mayo Clinic, Rochester, MN, USA; 7. Rheumatology Department, Brest University Hospital, and INSERM U1227, Brest, France.

Introduction. Rituximab is approved in patients with anti-neutrophil cytoplasmic antibody (ANCA) associated vasculitis (AAV). Levels of antibodies to proteinase 3 (PR3-ANCA) or myeloperoxidase (MPO-ANCA) are correlated with disease activity, decrease with treatment [1], and may therefore be used as biomarkers of response. The objectives of this study were to investigate the pharmacokinetics of rituximab and the relationship between rituximab concentration and ANCA levels in AAV patients.

Methods. Ninety-two AAV patients from the RAVE trial (rituximab for ANCA-associated vasculitis) were assessed [2]. Blood samples were collected at baseline, at weeks 2, at month 1, 2, 4, 6, 9, 12, 15 and 18, and every 6 months until the end of follow-up. Rituximab concentrations were measured using a validated enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) by Genentech. Concentrations were not available at months 12 and 15. Levels of both MPO-ANCA and PR3-ANCA were measured using an ELISA supplied by Euroimmun. Pharmacokinetics of rituximab was described using a semi-mechanistic model that included a latent target antigen turnover and allowed the estimation of both target-mediated elimination and non-specific elimination. Concentration-ANCA relationship was described using semi-mechanistic Friberg models [3] that included a blood compartment, where ANCA concentrations are measured, and a production compartment that was sensitive to rituximab treatment and to negative feedback by blood ANCA. These models included 0, 1, 2 or 3 transit compartments. Pharmacokinetic and PK-PD parameters were estimated using nonlinear mixed-effects models with Monolix Suite 2018R2.

Results. A two-compartment model including target-mediated elimination best described pharmacokinetic data. A Friberg model [3] with no transit compartment best described the concentration-autoantibody relationship. Mean (interindividual standard deviation) estimated systemic clearance and target-mediated elimination rate constant were 0.15

L/days (7.7 %) and, $20.10 \cdot 10^{-6} \text{ nmol}^{-1} \text{ day}^{-1}$, respectively. Concentrations of rituximab leading to 50% decrease of ANCA input in patients with MPO-ANCA and PR3-ANCA were 37.5 mg/L (29.3%) and 21.1 mg/L (34.7%), respectively.

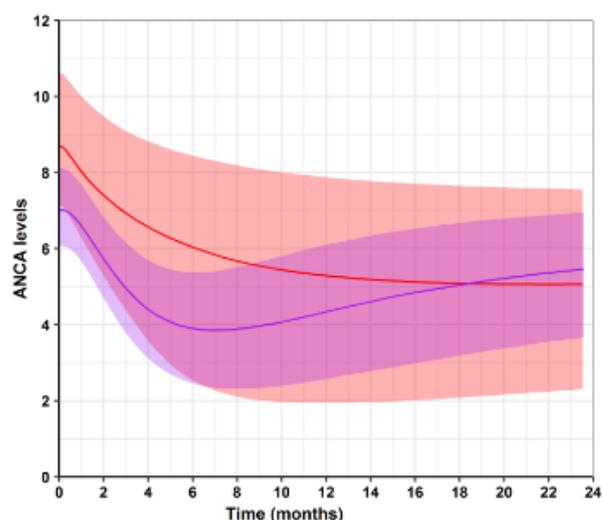


Figure 1: Simulations of ANCA-time profile in patients with MPO-ANCA (red line) and PR3-ANCA (purple line), using typical pharmacodynamic parameters. The central curve are the median dynamics of ANCA and the shadow are 90% prediction intervals.

Discussion. This study is the first to describe rituximab pharmacokinetics in AAV using population PK-PD modeling approach. A nonlinear target-mediated elimination of rituximab was detected. Concentration-ANCA levels relationship was well described by a validated Friberg model with no transit compartment. The potency of rituximab in depleting ANCA input was higher in patients with PR3-ANCA than in patients with MPO-ANCA.

References.

[1] Fussner LA. et al. Factors Determining the Clinical Utility of Serial Measurements of Antineutrophil Cytoplasmic Antibodies Targeting Proteinase 3. *Arthritis Rheumatol* (2016).

[2] Stone JH. et al. Rituximab versus cyclophosphamide for ANCA-associated vasculitis. N Engl J Med (2010).

[3] Friberg LE. et al. Model of chemotherapy-induced myelosuppression with parameter consistency across drugs. J Clin Oncol (2002).

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

Vinh NGUYEN¹, Katel Hervé-Aubert¹, Nicolas Aubrey², Igor Chourpa¹, Émilie Allard-Vannier¹

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/ μg de Fe). Néanmoins, l'ELISA indirect montre que le scFv avec 2 cystéines est moins fonctionnel.

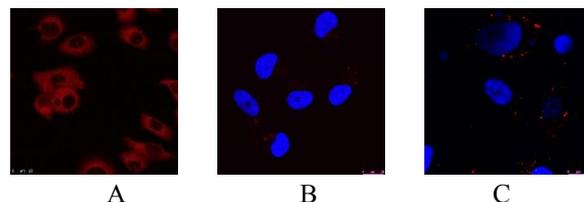


Figure 1 : Localisation des NVM dans les cellules SK-BR3 après 24 h d'incubation observées en microscopie confocale. A) FluoPIR libre. B) NVM avec sulfocyanine5 C) NVM avec Dylight680.

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

NANOMICELLES DE PEO-PPO-PEO : CARACTÉRISTIQUES ET PROPRIÉTÉS THERMOSENSIBLES.

Louise Van Gheluwe, Eric Buchy, Sonia Asstito, Martin Soucé, Katel Hervé-Aubert, Igor Chourpa, Emilie Munier.

Université de Tours, EA 6295 Nanomédicaments et Nanosondes, Faculté de Pharmacie, Tours, France

Introduction

Parmi les polymères présentant une thermoréactivité, les Pluronic® (ou Poloxamers®) sont bien connus et autorisés pour une utilisation pharmaceutique et cosmétique [1, 2]. Ces copolymères triblocs sont formés par un groupe hydrophobe de poly(oxyde de propylène) (PPO) entouré de deux groupes hydrophiles de poly(oxyde d'éthylène) (PEO). Leur biocompatibilité en fait des candidats potentiels pour l'élaboration de systèmes d'encapsulation destinés à la protection puis à la libération contrôlée d'actifs pharmaceutiques ou cosmétiques, à des températures supérieures à celle de la température corporelle.

Dans cette étude, le Pluronic® F127 a été modifié chimiquement (F127-NH₂) puis utilisé pour encapsuler un dérivé du panthénol (acétate de panthénol) et un fluorophore, le rouge Nile. Les nanomicelles résultantes pourront présenter en fonction du pH une surface neutre ou chargée positivement.

Méthodes

Le Pluronic® F127 ainsi que le panthénol ont été modifiés respectivement en F127-NH₂ et acétate de panthénol (AP). Des nanomicelles ont été préparées par la méthode dite d'émulsion/évaporation de solvant (assistée par ultrasons). La thermosensibilité des systèmes a été étudiée par des mesures de taille en fonction de la température par spectroscopie de corrélation de photons (20 - 85°C). Deux dosages ont été réalisés par chromatographie liquide haute performance après greffage du chromophore de l'acide 2,4,6-trinitrobenzenesulfonique (TNBS) : 1. dosage de la quantité d'amines greffées sur le Pluronic® F127 et 2. dosage de la quantité d'acétate de panthénol encapsulé.

Résultats et Discussions

Les modifications du Pluronic® F127 et du panthénol ont été réalisées avec succès et attestées par des études par spectroscopies Infrarouge et RMN.

Le résultat du dosage a permis d'évaluer à 68 ± 1 % la quantité de fonctions hydroxyles du polymère transformées en fonctions amines sensibles au pH. La technique dite d'émulsion/évaporation de solvant a été utilisée pour préparer des nanomicelles de Pluronic F127-NH₂ chargées en acétate de panthénol (Figure 1). Ces nanosystèmes ont une taille de 25 ± 1 nm et un faible indice de polydispersité ($0,2 \pm 0,08$).

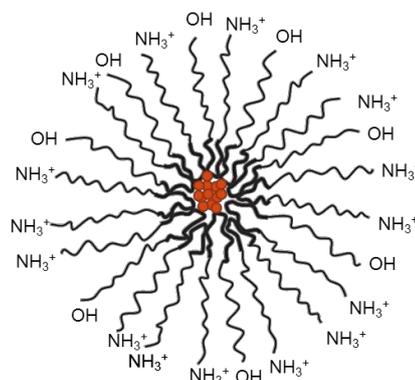


Figure 1: Schéma d'une nanomicelle de Pluronic F127 modifié chargée en acétate de panthénol

L'efficacité d'encapsulation de l'acétate de panthénol atteint 91 ± 3 %. La taille de ces micelles a été mesurée en fonction de la température : on observe une thermosensibilité avec une température de transition entre 60 et 75°C.

Conclusions

La technique d'émulsion-évaporation peut être utilisée pour préparer des nanosystèmes stables et reproductibles à base de Pluronic® modifiés F127-NH₂. L'efficacité d'encapsulation de l'acétate de panthénol ainsi que la thermosensibilité de ces nanosystèmes justifient leur intérêt dans la protection puis la libération contrôlée d'actifs pharmaceutiques ou cosmétiques.

Références

1. Aseyev V. *et al*, Adv. Polym. Sci. 242 29–89, 2010.
2. Chiper M *et al*, Nanotechnology, 24, 2013.

Remerciements

Nous remercions la Région Centre-Val de Loire pour le soutien financier du projet MISTIC (ARD 2020 Cosmetosciences 2017-00118114).

VIRUS ADENO-ASSOCIES CHIMIQUEMENT MODIFIES POUR LE TRANSFERT DE GENES

Mathieu Mével (1,2), Mohammed Bouzelha (2), Aurélien Leray (1), Véronique Blouin (2), Eduard Ayuso (2), David Deniaud (1)

Affiliation des auteurs (style « Affiliation »)

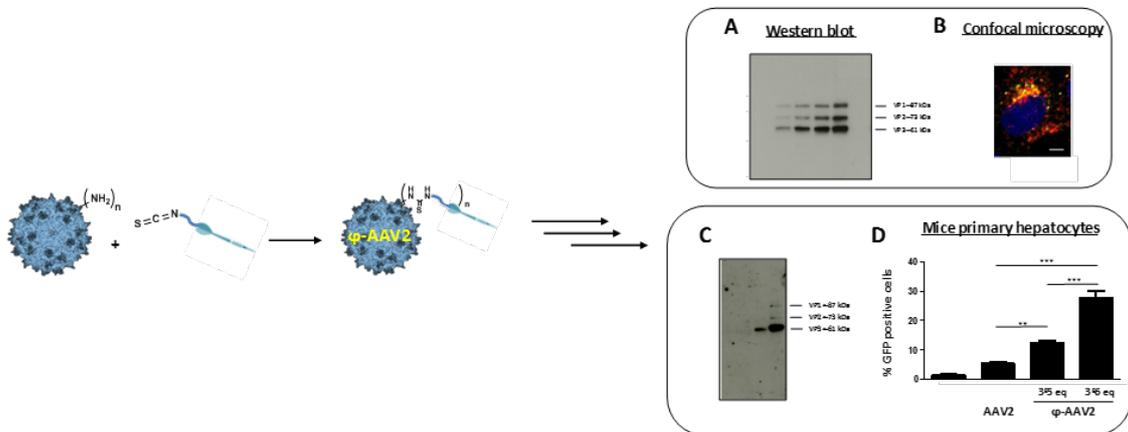
1. LUNAM Université, CEISAM, UMR CNRS 6230, UFR des Sciences et des Techniques, Nantes, France ;
2. INSERM / University of Nantes UMR 1089, Nantes, France,

Les Virus Adéno-Associés (AAV) sont des outils thérapeutiques performants pour le transfert de gènes dans le cadre du traitement de maladies génétiques mais avec certaines limitations observées lors d'essais cliniques^{1,2}.

L'objectif de notre travail est de répondre à cette problématique en développant des AAV chimiquement modifiés afin de renforcer la délivrance du gène d'intérêt en **ciblant spécifiquement un organe ou un tissu**. Cette approche a été validée en couplant une sonde fluorescente aux résidus des lysines présents à la surface des capsides d'AAV2. Pour cela nous avons utilisé le fluorophore FITC et montré sans ambiguïté un **couplage covalent de la molécule FITC à la surface de l'AAV2** et non une adsorption de cette molécule sur la surface de la capside (A). Par microscopie confocale il a été possible de visualiser les

AAV-FITC au niveau intracellulaire lors de la transduction de cellules HeLa (B).

Par la suite, nous avons fonctionnalisé un AAV2 par un ligand dérivé du *N*-acétylgalactosamine (GalNAc) permettant une reconnaissance spécifique des récepteurs aux asialoglycoprotéines présents à la surface des hépatocytes. L'objectif final étant d'avoir un outil thérapeutique pour le traitement des maladies génétiques hépatiques (hémophilie ou maladie de Crigler-Najjar). Après un travail de synthèse et de caractérisation, les analyses biochimiques (C) ont validé l'efficacité du couplage. De plus, une étude *in vitro* sur des hépatocytes primaires murins, a montré que l'utilisation des AAV modifiés avec le ligand GalNAc engendre une augmentation significative des cellules transduites comparé à l'AAV natif (non modifié chimiquement) (D)². Ces différents éléments seront présentés et discutés.



Références

1. M. Moskalenko et al., J Virol 74(4):1761-1766 2000.
2. C.S. Manno et al., Nat Med 12(3): 342-347, 2006.
3. M. Mével et al., Molecular Therapy 25(5S1): 258, 2017
4. M. Mével et al., EP16305681 2016.



Traitement du Signal et de l'Image

MODELE FAST-SLOW DE L'HYPEREMIE FONCTIONNELLE POUR L'IRMf ASL

Diane Mornas (1), Clément Huneau (1), Jérôme Idier (1)

1. LS2N, Laboratoire des Sciences du Numérique de Nantes, 1 rue de la Noë 44321 NANTES

Introduction

Le cerveau humain est un organe irrigué continûment en sang artériel par le réseau vasculaire. Il lui apporte l'oxygène et le glucose nécessaires à son fonctionnement. L'activation transitoire des neurones d'une région cérébrale est systématiquement suivie d'une variation locale du débit sanguin. Cette réponse en débit provenant du couplage neuro-vasculaire est appelée hyperémie fonctionnelle [1]. Des altérations de l'hyperémie fonctionnelle peuvent être constatées dans certaines démences vasculaires en particulier chez les patients atteints de la maladie CADASIL [2], maladie génétique des petits vaisseaux sanguins. La dynamique de l'hyperémie fonctionnelle est mesurable en imagerie par résonance magnétique fonctionnelle (IRMf) avec une technique de marquage de sang artériel (ASL : arterial spin labeling). La modélisation du couplage neuro-vasculaire permettrait l'identification et l'étude de ce type d'altérations. Cependant, il n'existe toujours pas de modèle pour des données IRMf ASL [3]. Des découvertes récentes [4], sur les mécanismes du couplage neuro-vasculaire permettent d'appréhender l'hyperémie fonctionnelle comme la combinaison de deux mécanismes aux temporalités différentes. Notre travail vise à proposer un modèle paramétrique l'hyperémie fonctionnelle et l'identifier à partir de données réelles humaines en IRMf ASL.

Méthodes

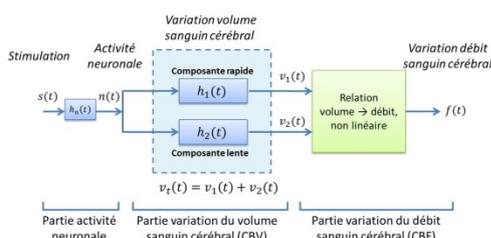


Figure 1: Proposition du modèle Fast-Slow.

Notre hypothèse de travail est d'envisager l'hyperémie fonctionnelle comme étant le mélange de deux sources : « rapide » et « lente ». Nous proposons un modèle Fast-Slow, qui est un modèle descriptif et explicatif structuré en plusieurs blocs (Figure 1). Chaque composante de la partie variation de volume a été construite à partir de mesures de variation de volume sanguin cérébral chez la souris ($v_t(t)$). Pour le moment, seule l'identification des paramètres de la partie du modèle sur la variation du volume est

effectuée sur des données simulées proches des variations de volumes observées chez la souris. L'estimation de ces paramètres est réalisée avec la méthode des moindres carrés non linéaires à l'aide de l'algorithme d'optimisation de Levenberg-Marquardt.

Résultats

Les premiers résultats concernent uniquement les blocs activité neuronale et volume sanguin. Ils suggèrent une bonne capacité de la méthode à estimer les composantes rapide et lente de volume à partir de données bruitées. L'estimation paramétrique est restreinte au bloc volume. Nous avons constaté une faible influence du bloc neuronal.

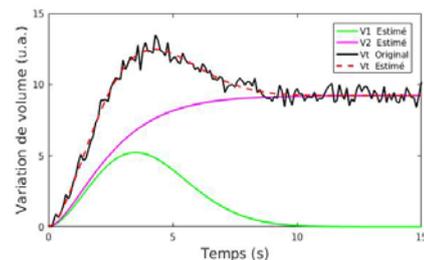


Figure 2: Composantes Fast-Slow estimées à partir de variation de volume sanguin simulées (RSB = 25dB), u.a. unité arbitraire.

Discussion

Nous avons construit un modèle relativement simple basé sur les mécanismes responsables de l'hyperémie fonctionnelle. Après la validation du bloc volume, la perspective proche est d'intégrer le bloc débit sanguin afin de confronter le modèle complet à des mesures de débit chez l'homme acquises par IRMf ASL.

Références

1. Iadecola, C., & Nedergaard, M. (2007). Glial regulation of the cerebral microvasculature. *Nature neuroscience*, 10(11), 1369.
2. Chabriat, H., Joutel, A., Dichgans, M., Tournier-Lasserre, E., & Boussier, M. G. (2009). Cadasil. *The Lancet Neurology*, 8(7), 643-653.
3. Huneau, C., Benali, H., & Chabriat, H. (2015). Investigating human neurovascular coupling using functional neuroimaging: a critical review of dynamic models. *Frontiers in neuroscience*, 9, 467.
4. Chen, B. R., Kozberg, M. G., Bouchard, M. B., Shaik, M. A., & Hillman, E. M. (2014). A critical role for the vascular endothelium in functional neurovascular coupling in the brain. *Journal of the American Heart Association*, 3(3), e000787.

DETECTION D'ACTIVITES PHYSIQUES PAR ACCELEROMETRIE

Manuel Abbas, Majd Saleh, Régine Le Bouquin Jeannès

Univ Rennes, Inserm, LTSI – UMR 1099, F-35000 Rennes, France

Introduction

Détecter et reconnaître des activités physiques à partir de signaux recueillis sur des capteurs portables sont des questions d'actualité [1] pour répondre à des problématiques de santé de notre société. Dans ce contexte, le but de notre étude est de développer un algorithme à base d'apprentissage pour un dispositif porté au poignet (le plus majoritairement accepté) qui peut accompagner le sujet pendant toute la journée, en utilisant uniquement un accéléromètre dans un souci de réduction de consommation énergétique au regard de l'utilisation supplémentaire d'un gyroscope [2].

Méthodes et matériels

Pour identifier les caractéristiques les plus pertinentes pouvant détecter l'activité humaine, notre stratégie consiste à extraire des milliers de variables à partir de signaux enregistrés, puis à sélectionner le sous-ensemble qui pourra atteindre la plus grande précision comme illustré sur la Figure 1. Sept sujets, âgés de 23 à 51 ans, ont participé aux expérimentations et simulé plusieurs fois (56 simulations par sujet) les activités suivantes : sauter, marcher, courir, monter et descendre les escaliers. Une fenêtre de 3 secondes est utilisée pour découper les signaux enregistrés. L'outil *hctsa* de MATLAB est utilisé ensuite pour extraire automatiquement des milliers de caractéristiques de chaque signal, chacune d'elles provenant d'une méthode d'analyse scientifique particulière [3].

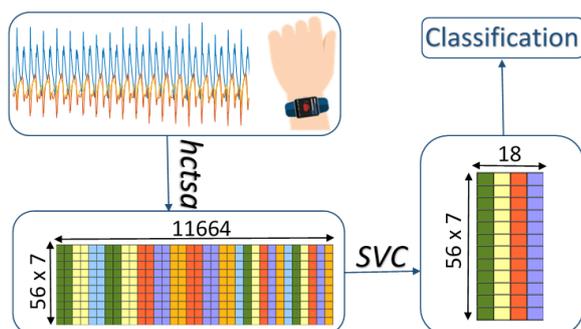


Figure 1. Stratégie proposée

Afin que le dispositif puisse opérer en temps réel, l'approche que nous proposons, nommée SVC (sélection de variables combinée), combine deux méthodes de sélection de variables : la première, NCA (Neighborhood Components Analysis) [4], appliquée en amont, consiste à rechercher une application linéaire pour optimiser l'apprentissage et éliminer un grand nombre de variables dont le poids est faible dans le nouvel espace. La seconde, SBS (Sequential Backward Selection) [5], prend en entrée la sortie précédente et

teste chaque combinaison possible des variables restantes pour ne retenir que les plus pertinentes. Notre approche SVC présente l'intérêt de ramener le nombre de variables de 11664 à 18.

Résultats

La validation croisée est adoptée à la fois dans la technique SVC décrite précédemment et pour mesurer les performances des classifieurs, en prenant 90% des données comme ensemble d'apprentissage et les 10% restantes comme ensemble de validation. Ce processus est répété dix fois et la précision finale est la moyenne des dix précisions obtenues. Les classifieurs testés sont les machines à vecteur de support avec un noyau quadratique, SVM_Q , ou polynomial d'ordre 3, SVM_{P3} , ainsi qu'un réseau de neurones (RNN) à une seule couche de 10 neurones (voir Table 1).

Classifieur	SVM_Q	SVM_{P3}	RNN
Précision	97%	96.46%	96.28%

Table 1. Résultats des trois classifieurs testés

Prédiction	Étiquettes				
	Sauter	Marcher	Courir	Monter	Descendre
Sauter	7	0	0	0	0
Marcher	0	18	0	0.2	0.2
Courir	0	0	6	0	0
Monter	0	0.4	0	3	0.2
Descendre	0	0.2	0	0	4

Figure 2. Matrice de confusion moyenne du classifieur SVM_Q

Discussion

La stratégie proposée, très peu coûteuse en termes de consommation d'énergie, s'avère tout à fait pertinente, puisqu'elle peut reconnaître l'activité physique à partir de l'accélération avec une précision pouvant atteindre 97%. Les résultats obtenus montrent l'importance de l'extraction de milliers de variables très hétérogènes (statistiques, caractéristiques spectrales ou issues de la théorie de l'information ...). En outre, la Figure 2 montre que la confusion a lieu entre trois activités : marcher, monter et descendre les escaliers. On peut espérer réduire ou même éviter cette confusion en utilisant une fenêtre d'analyse plus longue, ces activités se ressemblant fortement sur une durée courte.

Références

1. V. Osmani et al, J Netw Comput Appl, 31(4):628-655, 2008.
2. Q. Liu et al, IEEE Trans Mob Comp, 16(9):2531-2544, 2017.
3. B. D. Fulcher et al, Cell Systems, 5:527-531, 2017.
4. W. Yang et al, J Comp, 7(1):161-168, 2012.
5. T. Marill et al, IEEE Trans Inf Theory, 11-17, 1963.

DETECTION DE LYMPHOMES A PARTIR DES IMAGES TEP-TDM

Jierui Zha ⁽¹⁾, Pierre Decazes ⁽¹⁾⁽²⁾, Jérôme Lapuyade ⁽¹⁾, Abderrahim Elmoataz ⁽³⁾, Su Ruan⁽¹⁾

1. Quantif-LITIS, Normastic CNRS FR n°3638, Université de Rouen, France; 2. Centre Henri Becquerel, rue d'Amiens, Rouen; 3. GREYC, Normastic CNRS FR n°3638, Université de Caen, France

Introduction

Dans cet article, nous présentons une méthode de détection de lymphome sur image TEP-TDM en combinant supervoxel [1] et champs conditionnels aléatoires [2]. La tomographie par émission de positrons (TEP) est souvent utilisée pour analyser des maladies comme le cancer. Elle est généralement combinée avec la tomodensitométrie (TDM), qui fournit l'information anatomique tandis que la TEP fournit l'information fonctionnelle. La plupart des méthodes de détection des lymphomes en TEP sont basées sur une technique d'apprentissage automatique qui nécessite une grande base de données d'apprentissage. Cependant, dans le domaine médical, il n'est pas toujours possible d'avoir une telle base de données. Dans ce travail, nous proposons une méthode de détection des lymphomes basée sur supervoxels et champs aléatoires conditionnels (CRFs).

Méthodes

Notre méthode de détection de lymphomes est constituée de trois étapes. La première étape consiste à regrouper les voxels de l'image TEP en supervoxels afin de diminuer la taille des données considérées. Ceci est effectué à l'aide d'un algorithme de type K-means, prenant en compte à la fois la similarité d'intensité entre les voxels et la distance euclidienne entre les voxels. Chaque voxel d'un même supervoxel ont une intensité et une position similaire. La deuxième étape consiste à appliquer un algorithme de multi-atlas sur l'image TDM correspondante afin de segmenter les organes qui ont fortes fixations (cerveau, foie) (Fig.1). La dernière étape est effectuée sur l'image supervoxels pour détecter et segmenter les lymphomes dans les zones où les organes localisés dans l'étape précédente sont exclus. Celle-ci est effectuée à l'aide des champs conditionnels aléatoires qui consistent à minimiser une fonction de perte dépendant des valeurs : intensité et position du supervoxel [3].

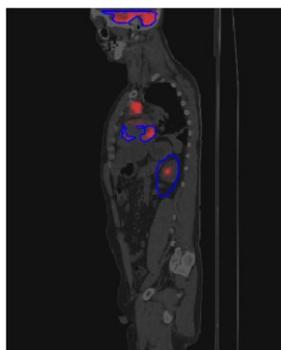


Fig1. Multi-atlas. Les organes à forte fixation sont entourés en bleu.

Résultats et discussion

Les images ont été acquises par un scanner PET / TDM (Biograph, Siemens) avec une résolution spatiale de 5,3 x 5,3 x 2 mm. Chaque patient présente au moins un site tumoral lié au lymphome de Hodgkin. Chaque lymphome est défini manuellement par un médecin. Nous avons appliqué notre méthode aux 14 patients. Pour les patients ayant moins de 10 lymphomes, la sensibilité peut atteindre 100%. La sensibilité moyenne sur les 14 patients est de 85,83%. La Fig.2 présente les résultats de segmentation pour 3 patients.

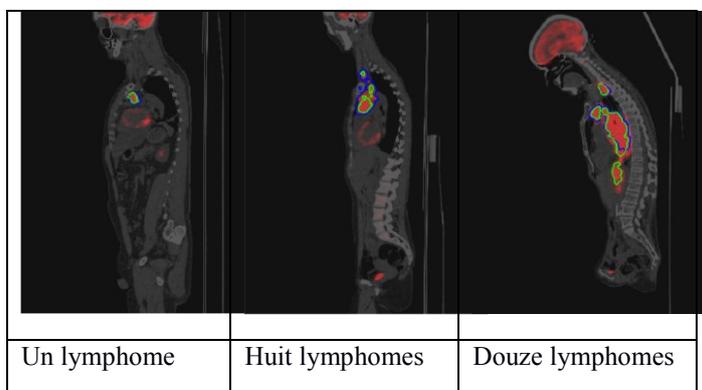


Fig. 2 Résultats pour trois patients. Le contour manuel est en vert et le résultat de segmentation est en bleu.

Dans le cas des deux premiers patients, les lymphomes sont parfaitement détectés. Pour le dernier patient possédant 12 lymphomes, la plupart des lymphomes sont détectés.

Bibliographie

- [1] Z. Tian, et al., Superpixel Based Segmentation for 3D Prostate MR Images, IEEE Trans. Med. Imaging, 35(3): 791-801, 2016.
- [2] P. Krähenbühl, V. Koltun, Efficient Inference in Fully Connected CRFs with Gaussian Edge Potential. Advances in Neural Information Processing Systems, 24:109-117, 2011.
- [3] Y. Yu, et al., 3D Lymphoma Segmentation in PET/CT Images Based on Fully Connected CRFs, in MICCAI Workshop Computational Methods for Molecular Imaging, 2017.

SEGMENTATION DE L'ARTERE HEPATIQUE : COMPARAISON DES FILTRES DE REHAUSSEMENT DE VAISSEAUX

Sahadatou Touré (1), Elena Cutrì (1), Yan Rolland (1), Hervé Saint-Jalmes (1), Johanne Bézy-Wendling (1), Pierre-Antoine Eliat (2)

1. Univ Rennes, CLCC Eugène Marquis, Inserm, LTSI - UMR 1099, F-35000, Rennes, France;

2. Univ Rennes, CNRS, Inserm, BIOSIT - UMS 3480, US_S 018, F-35000 Rennes, France

Introduction

La segmentation des vaisseaux du foie est importante dans le diagnostic et le traitement des maladies hépatiques. La majorité des méthodes de segmentation de vaisseaux, qui reposent sur une première étape de rehaussement des structures vasculaires [1], sont utilisées pour l'extraction des veines sur des angiographies de TDM et d'IRM. Très peu sont focalisées sur la segmentation des artères hépatiques en angiographie Cone-Beam CT (CBCT).

Dans cet article une comparaison des filtres de rehaussement de vaisseaux est effectuée sur des angiographies CBCT du foie et sur des arbres vasculaires synthétiques.

Matériels et méthodes

Nous avons traité des images d'angiographie CBCT au temps artériel de cinq patients atteints de lésions hépatiques tumorales et pour lesquels nous disposons, comme vérité terrain, d'une segmentation réalisée manuellement et validée par un radiologue expert.

Par ailleurs, des images synthétiques d'arbre vasculaire ont été générées avec le logiciel VasuSynth [2]. Du bruit a été ajouté à ces images en considérant trois cas : bruit élevé (BE), moyen (BM) et faible (BF). La taille de l'image est de $512 \times 521 \times 374$ voxels avec une résolution spatiale de $0.46\text{mm} \times 0.46\text{mm} \times 0.46\text{mm}$ pour les données cliniques et synthétiques.

Deux filtres multi-échelles basés sur la matrice Hessienne proposés par Frangi (FF) et Jerman (FJ) ainsi qu'un filtre basé sur le flux orienté optimal (OOF)[3] ont été appliqués sur les images. Le rehaussement a été complété par un seuillage et une analyse de connectivité. La performance des filtres a été évaluée avec les coefficients de Dice (DICE), de corrélation de Matthews (MCC) et l'aire sous la courbe ROC (ROC)[1].

Résultats

De manière générale, sur les données synthétiques les filtres présentent une sensibilité aux niveaux de bruit en particulier dans le cas où le bruit est élevé (Tableau 1). Le filtre OOF apparaît être le moins performant tandis que les filtres FF et JF semblent les plus robustes au bruit. Le filtre JF présente globalement de meilleures performances en présence de faible bruit. Sur les images CBCT, les métriques présentent des valeurs de similarité plus faibles mais peu différentes selon les méthodes de filtrage (Tableau 2).

Bruit	BE	BM	BF
DICE			
FF	0.868±0.004	0.909±0.001	0.835±0.001
FJ	0.909±0.002	0.906±0.009	0.780±0.002
OOF	0.805±0.001	0.785±0.015	0.407±0.006
ROC			
FF	0.976±0.009	0.940±0.001	0.861±0.007
FJ	0.947±0.002	0.920±0.004	0.824±0.001
OOF	0.986±0.005	0.966±0.003	0.805±0.001
CCM			
FF	0.870±0.003	0.909±0.001	0.844±0.005
FJ	0.910±0.006	0.908±0.001	0.796±0.006
OOF	0.806±0.007	0.794±0.002	0.500±0.001

Tableau 1 Similarité (moyenne et écart type) entre les images synthétiques segmentées après filtrage par FF, FJ et OOF et la vérité terrain, mesurée par DICE, ROC et MCC.

	FF	FJ	OOF
DICE	0.477±0.007	0.401±0.003	0.461±0.004
ROC	0.758±0.004	0.650±0.001	0.717±0.003
MCC	0.478±0.001	0.462±0.006	0.477±0.008

Tableau 2: Similarité entre les images CBCT de patients après filtrage par FF, FJ et OOF et la vérité terrain, mesurée par DICE, ROC et MCC.

Discussion

Sur les données synthétiques, les filtres basés sur la matrice Hessienne (FF et FJ) montrent une meilleure robustesse au bruit. Sur les images CBCT, les métriques révèlent un écart important entre segmentation et vérité terrain avec des valeurs proches de celles obtenues à bruit élevée sur les images synthétiques. En effet, la plus grande complexité des images, due à l'existence des tissus à proximité du foie et des micro-calcifications dans la zone tumorale, a un impact important sur la détection des vaisseaux.

Références

- Moccia, S. & al Mattos, "Blood vessel segmentation algorithms — Review of methods, datasets and evaluation metrics," Computer Methods and Programs in Biomedicine, vol. 158, pp.71–91, may 2018.
- Hamarnah, G. & al.. VasuSynth: Simulating Vascular Trees for Generating Volumetric Image Data with Ground Truth Segmentation and Tree Analysis.
- Phellan, R. & al., Comparison of vessel enhancement algorithms applied to time-of-flight MRA images for cerebrovascular segmentation. Med. Phys. (2017)

FILTRAGE ADAPTATIF DE FRANGI POUR LA SEGMENTATION D'IMAGES 3D D'ANGIOGRAPHIE CONE-BEAM CT DU SYSTÈME ARTÉRIEL HÉPATIQUE

Sahadatou Touré (1), Elena Cutri (1), Yan Rolland (1), Hervé Saint-Jalmes (1), Johanne Bézy-Wendling (1), Pierre-Antoine Eliat (2)

1. Univ Rennes, CLCC Eugène Marquis, Inserm, LTSI - UMR 1099, F-35000, Rennes, France ;

2. Univ Rennes, CNRS, Inserm, BIOSIT - UMS 3480, US_S 018, F-35000 Rennes, France.

Introduction

Plusieurs méthodes de segmentation des vaisseaux du foie sont basées sur le rehaussement préliminaire des vaisseaux [1]. L'un des filtres de rehaussement le plus utilisé dans la littérature est celui de Frangi (FF) [2] qui s'avère être efficace contre le bruit, mais n'offre pas de compromis suffisant, d'une part entre le rehaussement des petits vaisseaux et l'élimination du bruit, et d'autre part entre le rehaussement de certaines bifurcations et l'estimation exacte de la taille des vaisseaux. Le principal objectif de ce travail est de proposer une méthode d'utilisation adaptative des paramètres du FF en fonction de la région vasculaire sur des images 3D d'angiographie Cone-Beam CT (CBCT) artérielle de patients souffrant de tumeur de foie.

Matériels et méthode

Des acquisitions 3D d'angiographie CBCT artérielle de cinq patients souffrant de tumeur de foie ont été segmentées manuellement et approuvées par un radiologue. La taille de chaque volume est de $512 \times 512 \times 372$ voxels, avec une résolution spatiale de $0.46 \times 0.46 \times 0.46 \text{mm}^3$.

Le FF est un filtre multi-échelle qui décrit un critère basé sur les trois valeurs propres ($\lambda_1, \lambda_2, \lambda_3$) de la matrice Hésienne, avec lesquels il définit des rapports mesurant une déviation par rapport à une forme sphérique (R_a) ou par rapport à une forme plane (R_b) respectivement modulée par α et β :

$$F \begin{cases} 0 & \text{si } \lambda_2 > 0 \text{ ou } \lambda_3 > 0 \\ \left(1 - \exp\left(-\frac{R_a^2}{2\alpha^2}\right) \exp\left(-\frac{R_b^2}{2\beta^2}\right) \left(1 - \exp\left(-\frac{S^2}{2\gamma^2}\right)\right) \right) \sin\theta & \text{sinon} \end{cases} \quad (1)$$

Dans le FF l'image est lissée avec un noyau gaussien d'écart-type σ pour réduire le bruit, et la fonction F est définie à différentes échelles de σ pour tenir compte des tailles des vaisseaux. Le FF est d'abord appliqué sur les images avec des paramètres fixes. Afin d'évaluer la sensibilité de ces paramètres, diverses combinaisons ont été testées en faisant varier pour chaque image un paramètre tout en maintenant les autres constants. Puis chaque volume 3D est divisé manuellement en plusieurs sous-volumes d'intérêt (VOI) selon la taille des vaisseaux et la localisation de la tumeur. Pour chaque VOI, un filtrage adaptatif (FA) est appliqué. La segmentation est ensuite complétée par un seuillage puis évaluée à l'aide du coefficient de Dice (DICE), du coefficient de corrélation de Matthews (MCC) et de l'aire sous la courbe ROC (ROC) [1].

Resultats et dicussion

Pour σ petit, les petits vaisseaux sont rehaussés, mais dans les zones de faible signal les gros vaisseaux sont dédoublés (Fig. 1a). Un σ grand ne rehausse pas les plus petits vaisseaux et surestime la taille des petits vaisseaux rehaussés (Fig. 1b). Pour α petit, des structures non tubulaires sont rehaussées, mais le rehaussement des zones de bifurcation (Fig. 1i). Un α grand supprime les structures planes mais les vaisseaux sont déconnectés dans les jonctions (Fig. 1d). Dans les régions de faible signal, une petite valeur de β ne permet pas de bien rehausser les vaisseaux (Fig. 1e). A l'inverse, une grande valeur de β rehausse bien les vaisseaux, mais également les micro-calcifications dans la tumeur (Fig. 1h). Le FA proposé ici améliore la qualité de la segmentation. En effet, la surestimation des vaisseaux et la déconnexion à la jonction sont résolues (Fig. 1j). Selon les 3 métriques, la similarité entre la segmentation semi-automatique et la segmentation manuelle (vérité terrain) augmente d'environ 20% (Tableau 1).

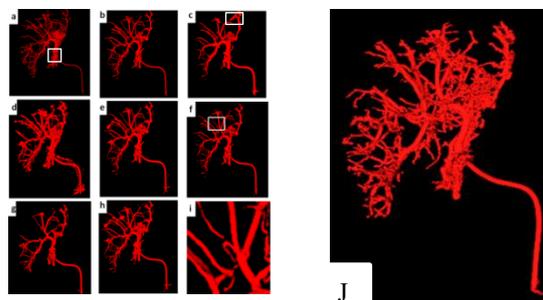


Figure 1: Résultat de la segmentation après variation des paramètres et après FA.

Méthode	DICE	ROC	MCC
FF	0.477±0.007	0.758±0.004	0.478±0.001
FA	0.750±0.003	0.996±0.002	0.723±0.005

Table 1: Mesure de similarités entre de la segmentation automatique après filtrage par FF et FA avec la vérité terrain.

Références

- S. Moccia & al, "Blood vessel segmentation algorithms: Review of methods, datasets and evaluation metrics Computer Methods and Programs in Biomedicine, vol. 158, pp. 71–91, may 2018.
- A.F. Frangi & al, "Multiscale vessel enhancement filtering," pp. 130–137. Springer, Berlin, Heidelberg, oct 1998.

INFERENCE ET ANALYSE DE CONNECTIVITE EFFECTIVE PAR DECOMPOSITION TENSORIELLE

Pierre-Antoine Chantal, Ahmad Karfoul, Régine Le Bouquin Jeannès

Univ Rennes, INSERM, LTSI-UMR 1099, Rennes, F-35000, France

Introduction

La connectivité effective désigne l'influence, directe ou non, qu'exerce un système sur un autre. Cette notion est très utile pour la compréhension de systèmes neuronaux, notamment dans le contexte de l'épilepsie, où l'on cherche à estimer un graphe de propagation de la crise et localiser la source émettrice. Cet article propose une méthode d'estimation de graphe de connectivité basée sur une modélisation vectorielle (VAR) des données observées telles que les enregistrements électroencéphalographiques intra-cérébraux (iEEG). Les coefficients du modèle VAR sont les éléments du tenseur de connectivité issus de ce modèle. L'estimation de ces derniers est réalisée suivant une décomposition PARAFAC [1].

Méthodes et Matériels

Soit X ($N \times T$) une matrice d'observations (enregistrements iEEG) de durée T relevées sur N électrodes. Un modèle VAR de X est défini par :

$$X = \mathcal{A}_{\{N,L\}} X + W \quad (1)$$

où \mathcal{A} ($N \times L \times N$) est un tenseur dont la tranche frontale A_τ ($N \times N$), $1 \leq \tau \leq L$, est une matrice dont les éléments sont les coefficients du modèle VAR pris au retard τ et L désigne l'ordre du modèle VAR ; X ($N \times L \times N$) est le tenseur des versions retardées de X et $\mathcal{A}_{\{N,L\}} X$ est la contraction de \mathcal{A} et X définie dans [2]. Etant donné que les coefficients du modèle VAR reflètent les liens causaux (au sens de Granger) entre les différents signaux, le tenseur \mathcal{A} est vu comme un tenseur de connectivité et chaque matrice A_τ reflète un graphe dirigé à N nœuds et N^2 liens possibles de connectivité. Par conséquent, le tenseur \mathcal{A} traduit l'interaction entre les nœuds émetteurs et récepteurs suivant différents retards. Analyser une telle interaction est possible par une décomposition tensorielle de type PARAFAC [2] de \mathcal{A} , notée $\mathcal{A}[M_r, H, M_s]$ où M_r ($N \times R$), M_s ($N \times R$) et H ($L \times R$) font référence respectivement aux matrices facteurs des nœuds récepteurs, émetteurs et du retard temporel, R étant le rang du tenseur. Sous l'hypothèse que seuls certains nœuds sont émetteurs et d'autres récepteurs, M_s et M_r sont des matrices parcimonieuses. L'inférence de la connectivité effective est rendue possible en résolvant le problème d'optimisation suivant :

$$\min_{M_s, M_r, H} \left(\|X - \mathcal{A}_{\{N,L\}} X\|_F^2 + \lambda_s \|M_s\|_1 + \lambda_r \|M_r\|_1 \right)$$

sous $\mathcal{A}[M_r, M_s, H]$, $M_s > 0$, $M_r > 0$ (2)

où λ_s et λ_r sont des paramètres de pénalité. La contrainte de positivité sur M_s et M_r dans (2) permet une meilleure interprétation des mesures de connectivité obtenues. Le rang R est estimé grâce au

critère CorConDia [3]. Le problème présenté en (2) est résolu à l'aide de la méthode ADMM (Alternating Direction Method Model) [4] basée sur l'optimisation du Lagrangien augmenté associé à cette équation.

Résultats et Discussion

La méthode proposée a été testée et validée sur des données iEEG simulées de courte et moyenne durées (500 et 1000 points temporels) suivant un modèle VAR à cinq voies, issu de [5], représentatif de signaux neurophysiologiques caractérisant un réseau cérébral. La Figure 1 représente les graphes de connectivité théorique et estimés permettant d'apprécier le rôle prépondérant du nœud 3 en émission ce que l'on retrouve sur les normes des lignes de M_s . De même, on peut relever le caractère récepteur des nœuds 2 et 4. On note que le graphe estimé reproduit exactement le graphe réel pour des estimations sur 1000 points ce qui n'est pas tout à fait le cas sur 500 points et souligne donc l'enjeu de l'estimation sur des durées courtes. Ces développements et expérimentations validés sur signaux simulés demandent à être maintenant appliqués sur signaux réels pour lesquels la vérité-terrain reste souvent inconnue.

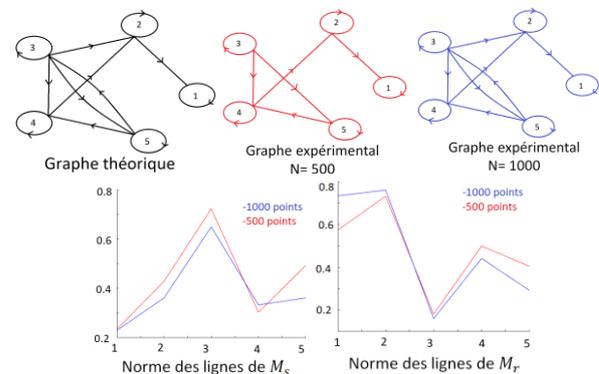


Figure 1. Résultats pour un modèle VAR à 5 voies

Références

1. R. Bro et al, PARAFAC. Tutorial and applications. Chemometrics and Intelligence Laboratory systems 39, 1997.
2. E. Karahan et al, Tensor Analysis and Fusion Multimodal Brain Images, Proceedings of the IEEE, June 2015.
3. R. Bro et al, A new efficient method for determining the number of components in PARAFAC models, Journal of Chemometrics, 17, pp. 274-286, 2003.
4. M.J.D Powell et al, A method for Nonlinear Constraints on Minimization Problems, Fletcher, Optimization, Academic Press, pp. 283-298, 1969.
5. A. Fasoula et al, Comparative of data-driven causality measures applied to brain networks, Journal of Neuroscience Methods, Issue 2, 215, pp. 170-189, 2013.



Spectroscopie Vibrationnelle

ESTIMATION DE PROFILS DE PENETRATION A L'AIDE D'APPROCHES DE DEMELANGE NON-SUPERVISEES EN IMAGERIE SPECTROSCOPIQUE RAMAN

Aline Stella¹, Franck Bonnier², L.Miloudi², A.Tfayli³, F.Yvergnaux⁴, Emilie Munnier², Clovis Tauber¹

¹ UMR 1253, iBrain, Université de Tours, Inserm, Tours, France. clovis.tauber@univ-tours.fr

² Université de Tours, EA6295 Nanomédicaments et Nanosondes, Tours, France.

³ U-Psud, Univ.Paris-Saclay, Lip(Sys)2, EA7357, UFR-Pharmacy, Chatenay-Malabry, France.

⁴ Bioeurope Solabia Group, Anet, France

Introduction

L'Imagerie Confocale Raman couplée à des méthodes d'analyses multivariées non supervisées permet de suivre un Ingrédient Cosmétique Actif (ICA) pénétrant dans la peau.

La Nonnegative Constrained Least Square (NCLS) décompose les données en combinaison linéaire de spectres de composants auxquels sont associées des concentrations. Cette méthode a précédemment été utilisée dans [1] pour établir des cartes de distribution et des profils de pénétration de l'ICA. Cependant, la NCLS est une méthode supervisée puisqu'elle nécessite la connaissance a priori du spectre de l'ICA ainsi que d'un grand nombre de spectres contrôles pour définir une initialisation spectrale non ré-évaluée dans l'algorithme. La taille de cette initialisation spectrale influe sur les résultats ce qui montre les faiblesses de NCLS.

Dans cette étude, deux méthodes d'analyses multivariées, la Multivariate Curve Resolution Alternating Least Square (MCR-ALS [2]) et la Minimum Volume Constrained Nonnegative Matrix Factorization (MVC-NMF [3]) ont été étudiées pour suivre l'ICA sans aucune information a priori sur son spectre. Elles estiment automatiquement et simultanément un ensemble réduit de spectres d'éléments purs et leur abondance dans les données.

Méthodes

5% de Delipidol[®] (ICA) dilué à de l'éthanol a été appliqué sur des échantillons d'Epiderme Humain Reconstitué (Episkin[®], France). Différentes cartographies Raman ont été acquises après 1h, 2h et 3h d'exposition à température ambiante.

NCLS, MCR-ALS et MVC-NMF modélisent les données par un ensemble de spectres de composants purs S sur lesquels chaque pixel est décomposé en minimisant l'erreur d'ajustement du modèle.

Alors que NCLS requiert un a priori sur le spectre de l'ICA et un grand nombre de spectres provenant d'images contrôles pour déterminer S , MCR-ALS et MVC-NMF construisent, sans aucun a priori, un modèle linéaire simplifié en utilisant un nombre réduit de spectres S .

MCR-ALS et MVC-NMF relâchent l'hypothèse d'une éventuelle présence de composants purs au sein même des données supposée lors de l'initialisation par SIMPLISMA. De plus, MVC-NMF contraint les spectres de composants purs estimés à être proches des données.

Résultats

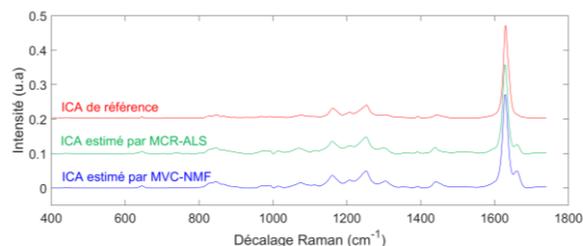


Figure 1 : Spectres de l'ICA estimé par la MCR-ALS (vert) et la MVC-NMF (bleu) comparés à son spectre de référence (rouge).

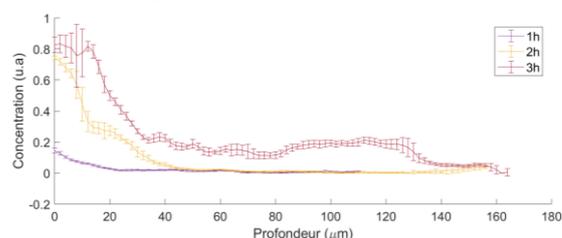


Figure 2 : Profils de pénétration du spectre estimé du Delipidol[®] par la MCR-ALS dans les échantillons de peau exposés 1h (violet), 2h (jaune) et 3h (rouge) à température ambiante.

MCR-ALS et MVC-NMF ont été capables de détecter de façon non supervisée un spectre caractéristique proche du spectre de référence du Delipidol[®] (Figure 1) et de permettre d'établir un profil de pénétration de l'ICA (Figure 2). La méthode MCR-ALS a produit un meilleur démelange avec de très faibles résidus.

Conclusion

L'utilisation de méthodes non-supervisées MCR-ALS et MVC-NMF a permis d'analyser sans a priori les images Raman, avec des résultats de qualité identique par rapport à la méthode supervisée de référence (NCLS).

Références

1. Miloudi, L. *et al.* *J. Biophotonics* **11**, 1–12 (2018).
2. De Juan, A., Jaumot, J. & Tauler, R. *Anal. Methods* **6**, 4964–4976 (2014).
3. Miao, L. M. L. & Qi, H. Q. H. *IEEE Trans. Geosci. Remote Sens.* **45**, 1–12 (2007).

Remerciements

Ce travail fait parti du projet MISTIC (2017 – 00117681). Nous remercions le Conseil Régional Centre Val de Loire et le programme ARD-2020 Cosmétosciences pour leur soutien financier.

QUANTIFICATION ET DISCRIMINATION DE SOLUTIONS CHIMIOThÉRAPEUTIQUES PAR SPECTROSCOPIES INFRAROUGE ET RAMAN

Alaa A. Makki¹, Franck Bonnier^{*1}, Renaud Respaud², Fatma Chtara¹, Ali Tfayli³, Clovis Tauber⁴, Dominique Bertrand⁵, Hugh J. Byrne⁶, Elhadi Mohammed⁷, Igor Chourpa¹

¹Université de Tours, EA 6295 Nanomédicaments et Nanosondes, 31 avenue Monge, 37200 Tours, France

²Université de Tours, UMR 1100, CHRU de Tours, Service de Pharmacie, F-37032 Tours, France

³U-Psud, University of Paris-Saclay, Lip (Sys)2, EA7357, UFR-Pharmacy, Châtenay-Malabry, France

⁴Université de Tours, INSERM UMR 1253 iBrain, 37000 Tours, France.

⁵Data_Frame, 25 rue Stendhal, 44300 Nantes, France

⁶FOCAS Research Institute, Technological University Dublin, Kevin Street, Dublin 8, Ireland

⁷Department of Pharmacognosy, Faculty of Pharmacy, University of Gezira, Sudan

Résumé

Les spectroscopies vibrationnelles sont des techniques de caractérisation de la matière par le biais de l'interaction rayonnement incident / échantillon. Elles délivrent des signatures spectrales qui renseignent sur la composition moléculaire de manière non destructive mais surtout sans aucun marquage. Dans cette étude, les spectroscopies d'absorption infrarouge et de diffusion Raman ont été appliquées à l'analyse de 3 solutions thérapeutiques TEVA®, MYLAN®, CERUBIDINE® qui contiennent respectivement de la doxorubicine, épirubicine et daunorubicine. La vérification des solutions chimiothérapeutiques est une étape importante pour la santé des patients puisqu'une inversion des molécules ou l'administration d'une dose non adaptée pourraient avoir des conséquences graves.

En tenant compte des concentrations utilisées en routine clinique pour le traitement des patients, des gammes de dilutions ont été préparées afin d'évaluer les performances quantitatives (prédiction d'une concentration correcte) et discriminatives (identification de la molécule en solution) des spectroscopies vibrationnelles. Les données collectées sont complexes et des méthodes statistiques sont nécessaires afin d'extraire l'information utile. Des approches multivariées de type PLSR (Partial Least Square Regression) et PCA-FDA (Principal Component Analysis – Factorial Discriminant Analysis) sont employées pour l'analyse des spectres vibrationnels.

Les résultats de la PLSR montrent que les spectroscopies vibrationnelles permettent de proposer des analyses quantitatives avec cependant une meilleure précision pour la spectroscopie Raman (RMSECV 0.0127 – 0.0220 g.L⁻¹) comparée à la spectroscopie infrarouge (RMSECV 0.0573 – 0.0759 g.L⁻¹).

La discrimination des solutions thérapeutiques est le critère principal d'évaluation des deux techniques. Les spectres Raman sont fortement perturbés par les conditions expérimentales et nécessitent des corrections

(prétraitements) plus complexes. En fonction des opérations de prétraitement appliquées la spécificité et la sensibilité des analyses peut chuter, dans certains cas, en dessous des 50%. En comparaison, la spectroscopie infrarouge apporte des résultats beaucoup plus encourageants avec des taux d'identification compris entre 99-100%.

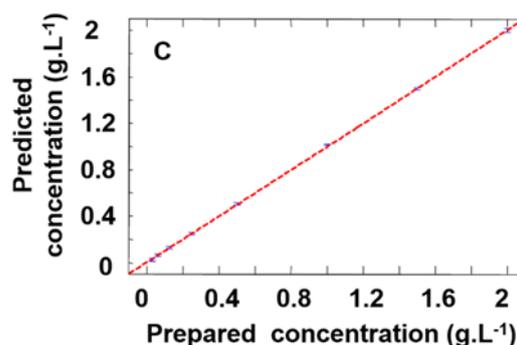


Figure 1: Modèle de régression PLSR obtenu avec les spectres Raman collectés à partir de solutions chimiothérapeutiques.

Commercialized formulation	Active drug	R ²	RMSECV (g.L ⁻¹)
TEVA®	DOX	0.9996	0.0127
MYLAN®	EPI	0.9993	0.0173
CERUBIDINE®	DAU	0.9990	0.0220

Table 1: Résultats des analyses quantitatives par PLSR sur les données spectrales Raman pour les 3 formulations testées.

Remerciements

Le financement de thèse d'Alaa A. Makki est supporté par l'ambassade de France au Soudan et Campus France.

APPORTS DE LA SPECTROSCOPIE INFRAROUGE DANS LE DIAGNOSTIC DE LA SCLEROSE LATERALE AMYOTROPHIQUE

Clément Bruno (1,2,3*), Hélène Blasco (2,3), Christian Andres (2,3), Igor Chourpa (1), Franck Bonnier(1)

1.EA 6295 Nanomédicaments et Nanosondes, Université de Tours, France ; 2.Laboratoire de Biochimie et Biologie Moléculaire, CHRU Tours, France ; 3.U1253 iBrain, Université de Tours, Inserm, Tours, France

Introduction

La recherche de biomarqueurs s'est développée depuis quelques années dans le domaine de la santé, notamment pour aider au diagnostic de pathologies complexes, multifactorielles et hétérogènes. Dans ce contexte, les approches « omiques » sur les liquides biologiques et les tissus ont montré leur intérêt et sont largement utilisées aujourd'hui malgré leurs limites techniques. Cependant, la nécessité de progresser sur ces stratégies, voire de développer de nouvelles méthodes analytiques persiste[1]. La spectroscopie infra-rouge permet une analyse simple et rapide de matrices complexes comme les fluides biologiques. Malgré des avancées encourageantes[2], cette technique est peu utilisée pour analyser des milieux biologiques et il n'existe toujours pas de consensus concernant l'analyse du sérum par des techniques vibrationnelles. L'objectif de cette étude était de valider les conditions d'enregistrement des spectres par réflectance totale atténuée (ATR-IR). Le traitement de données spectrales et leur couplage aux profils métabolomiques ciblés est explorée.

Matériel et Méthodes

Les protéines sériques abondantes (albumine, immunoglobulines) représentent un obstacle majeur car elles peuvent interférer en masquant certains signaux de biomarqueur d'une maladie présents à des concentrations plus faibles. Dans un premier temps, différents protocoles pré-analytiques visant à éliminer la fraction protéique de haut poids moléculaire de nos échantillons par ultrafiltration ont été évalués. Les concentrations de molécules « tests » (albumine, immunoglobuline G, glucose, urée, acide urique, cholestérol total, triglycérides, créatinine) sont mesurées avec une technique de référence accréditée (Cobas®6000 (Roche)) pour comparaison des valeurs avant et après traitement pré-analytique. Le protocole optimal est déterminé en fonction de la reproductibilité de la filtration (coefficient de variation), et la quantité recueillie dans le filtrat. Dans un deuxième temps, des sérums de patients atteints de Sclérose Latérale Amyotrophique (SLA) (n=5) et de patients témoins (n=5) ont été analysés par ATR-IR (Frontier, Perkin Elmer) et par spectrométrie de masse (métabolomique ciblée, LC-MSMS Acquity-TQS, Waters, Kit AbsoluteIDQ®p180, Biocrates). La capacité de l'ATR-IR, de la LC-MSMS et de la combinaison des deux

techniques, à discriminer les profils métaboliques des patients (SLA vs témoins) est évaluée par analyse multivariée type Orthogonal Partial Least Square-Discriminant Analysis (OPLS-DA).

Résultats

Les profils de discrimination obtenus en spectroscopie ATR-IR ont permis de montrer l'amélioration du modèle grâce à l'étape d'ultrafiltration. De plus, ces profils restent comparables à ceux obtenus en LC-MSMS.

Cette étude a permis de démontrer le potentiel des technologies spectroscopiques vibrationnelles basées sur l'analyse des empreintes spectrales des échantillons qui restent peut utiliser dans le domaine de la santé. La déplétion des protéines abondantes par ultrafiltration ouvre de nouvelles perspectives de préparation des échantillons afin d'optimiser la sensibilité de la technique. La méthode ATR-IR offre de performances adaptées pour la recherche de biomarqueurs par méthode globale sans a priori et mérite d'être développée en ce sens comme stratégie à part entière ou combinée aux approches omiques conventionnelles.

Références

1. Bruno et al, J Pharm Biomed Anal, 148 :273-279, 2018
2. Bonnier et al, Analyste, 142(8) : 1285-1298, 2017

Remerciements

Les remerciements (style « Acknowledgements ») ne sont pas obligatoires.

Nous remercions M. X pour son aide au cours des expérimentations. Ce travail a été financé par le projet YY de l'Agence de Financement.

EVALUATION DE LA PENETRATION D'UNE EMULSION DANS DE LA PEAU RECONSTRUITE PAR IMAGERIE SPECTRALE RAMAN

Christophe Eklouh-Molinier¹, Yuri Dancik¹, Laurianne Gressin²,
Guillaume Gillet², Igor Chourpa¹, Franck Bonnier^{1*}

¹EA6295, Nanomédicaments et Nanosondes, Université François Rabelais, Tours, France

²GENIALIS, Henrichemont, France

*Email: franck.bonnier@univ-tours.fr

Introduction

La spectroscopie de diffusion Raman est une technique innovante permettant de déterminer la signature spectrale d'une molécule, et ce de manière non-invasive et sans marquage préalable. Depuis quelques années, de grandes avancées ont été réalisées en spectroscopie Raman couplée à la micro-imagerie afin de réaliser des cartographies 2D de grande qualité. Ce mode d'acquisition de données spectrales est nécessaire pour connaître la distribution spatiale d'une molécule d'intérêt cosmétique appliquée sur un modèle de peau reconstruite.

Méthodes

Dans cette étude, une émulsion de caféine (2% w/w) a été appliquée sur des échantillons de peaux reconstruites (n=2) pendant différents temps d'exposition (30 min, 1h, 2h, 4h). Suite à l'exposition de l'échantillon de peau à l'émulsion, des coupes tissulaires ont été réalisées, puis analysées par spectroscopie Raman.

Résultats

A l'aide de méthodes statistiques multivariées telles que la classification K-means et la NCLS (*Non-negatively Constrained Least Squares*)¹, il a été possible de suivre la pénétration cutanée de la caféine après différents temps d'exposition (30 min, 1h, 2h, 4h).

Discussion

La micro-imagerie spectrale Raman couplée à des techniques avancées d'analyses de données constitue une méthodologie efficace pour évaluer la capacité d'une émulsion à pénétrer à travers la peau. En perspectives, d'autres méthodes de traitement de données non supervisées telles que la MCR-ALS² (*Multivariate Curve Resolution-Alternating Least Squares*) seront employées afin de gagner en information

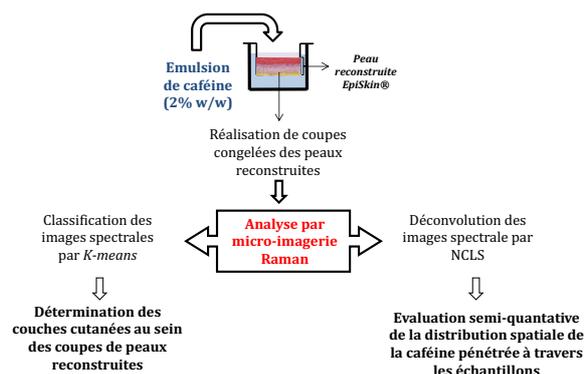


Figure : Schéma représentant la méthodologie permettant d'étudier la pénétration et la distribution de l'émulsion de caféine à travers les échantillons de peaux reconstruites.

Références

1. Miloudi L et al., J Biophotonics., 11:1-12, 2018.
2. Felten J et al, Nat Protoc., 10:217-40, 2015.

Remerciements

Ce travail a été financé par le programme ARD 2020 CosmétoSciences (Projet BIOACTIS: 2017-00118114), l'entreprise GENIALIS, et la Région Centre-Val de Loire.



Ultrasons Thérapeutiques

POTENTIALISATION DE LA CHIMIOThERAPIE PAR ULTRASON SUR UN MODELE DE CO-CULTURE 3D D'ADENOCARCINOME PANCREATIQUE

Jean-Louis Mestas (1), Romain Leenhardt (2), Einas Abou Ali (2), Benoit Bordacahar (2), Marine Camus (2), Frédéric Prat (2), Cyril Lafon (1)

1. Inserm, U1032, LabTau, Lyon, F-69003, France ; Université de Lyon, Lyon, F-69003, France ; 2. INSERM U1066, Institut Cochin, Université Paris Descartes, Sorbonne Paris Cité, Faculté de Médecine ;

Introduction

L'adénocarcinome pancréatique (AP) connaît une forte augmentation d'incidence qui en fait la quatrième cause de mortalité par cancer avec un pronostic extrêmement sombre, moins de 5% des patients étant en vie à 5 ans. L'AP est caractérisé par une chimiorésistance accrue de par son stroma tumoral très dense. L'objectif de ce travail était de développer un modèle de co-culture tridimensionnel associant des cellules d'AP à des cellules fibroblastiques activées (FA) et d'étudier l'efficacité d'un traitement par cavitation ultrasonore (US) inertielle en association avec une chimiothérapie dans ce modèle.

Matériels & méthodes

Les cellules tumorales sont issues d'une lignée cellulaire d'AP murin DT66066 issue de souris transgéniques KPC (LSL-KrasG12D/+; LSLTrp53 R172H/+; Pdx-1-Cre). Les fibroblastes sont issus de cellules souches embryonnaires de souris (MEF). Après une étape de développement et caractérisation du modèle (microscopie confocale à fluorescence, anatomopathologie, amplification génique par RT-qPCR, étude de la viabilité cellulaire) l'étude thérapeutique a porté sur 8 groupes (contrôle, gemcitabine [Gem], US, US+Gem ; US pour 3 niveaux de cavitation). Le dispositif ultrasonore [1] a été adapté pour traiter les sphéroïdes par unité [2]. L'efficacité des différents traitements sont évaluée à 24 heures par la viabilité cellulaire mesurée en cytométrie de flux et par Uptiblué.

Résultats

Concernant le développement et la caractérisation du modèle, l'utilisation de nanoparticules magnétiques ont permis la formation rapide de sphéroïdes de co-culture AP/FA et ont facilité leur manipulation. Modèle pertinent et reproductible, la détection de fibres de collagène synthétisées par les fibroblastes a été le témoin de la constitution d'un microenvironnement tumoral. La présence de fibroblastes est apparu comme étant un facteur responsable de chimiorésistance en comparaison avec un modèle sphéroïdal monocellulaire de cellules tumorales seules. Concernant l'application thérapeutique, six sphéroïdes AP/FA ont été analysés pour chaque condition de traitement. L'association d'un traitement par (US+Gem) a entraîné une diminution significative de la viabilité cellulaire par rapport au groupe Gemcitabine seule ($p=0.0050$). En cytométrie de flux, l'application d'US+Gem est associée à une

réduction de la viabilité des cellules tumorales seules et non des fibroblastes. (Figure 1).

Conclusion

Ce travail a permis d'élaborer un modèle pertinent et reproductible de co-culture tridimensionnelle d'AP murin in vitro. L'application d'un traitement par US associé à la chimiothérapie entraînait une réduction significative de la viabilité cellulaire par rapport à la chimiothérapie seule.

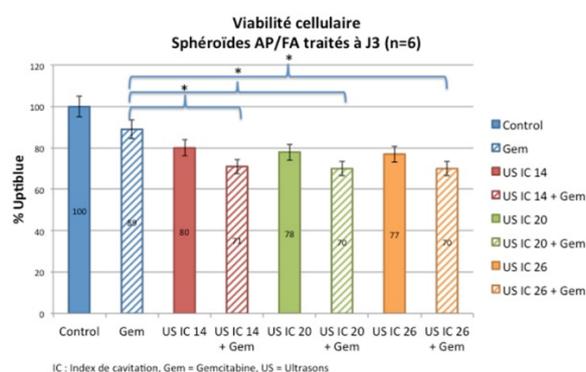


Figure 1: Viabilité cellulaire évaluée par Uptiblué ; L'indice de cavitation IC est l'image du niveau de cavitation entretenu par le processus de contrôle ultrasonore.

Références

1. Chettab A. et al. PLOS One, 2015
2. Abou Ali I. et al, PLOS One, 2018.

Remerciements

Ce travail a été financé par la Focused Ultrasound Foundation et l'ARC. Le dispositif ultrasonore a été réalisé dans le cadre du LabEx DevWeCan (ANR-10-LABX-0061)

EFFET DES ULTRASONS FOCALISES A HAUTE INTENSITE SUR LES CELLULES CANCEREUSES

Nour Al Rifai* ^{1,2}, Muhamad Nassereddine ¹, Jamal Charara ³, Wladimir Urbach ⁴, Nicolas Taulier ², Delphine Le Guillou-Buffello ^{† 2}

¹ Université Libanaise – Liban

² Laboratoire d’Imagerie Biomédicale – Sorbonne Université : UMR117, Centre National de la Recherche Scientifique : UMR7371 – France

³ Université libanaise – Liban

⁴ Laboratoire de Physique Statistique de l’École Normale Supérieure – UMR 8550 – France

Introduction

L’utilisation d’agents anti-cancéreux en clinique est principalement limitée par des effets secondaires toxiques, étant donné que les cellules normales et néoplastiques sont exposées à ces agents cytotoxiques en même temps [1]. Toutefois, il existe de nouvelles méthodes innovantes alternatives afin d’éviter ses effets secondaires et l’efficacité du traitement thérapeutique en utilisant des nanoparticules, agents théranostiques, vecteur de médicaments anti-tumorales. De plus, l’effet de ces agents théranostiques a une efficacité locale contre les tumeurs mais demande un éclatement des nanoparticules par des ultrasons afin de libérer le médicament localement à proximité de la tumeur [2-3].

Notre objectif à long terme est de pouvoir étudier *in vitro* et *in vivo* l’effet localisé d’agents anticancéreux inclus dans des nanoparticules sur la croissance de cellules cancéreuses en les activants par ultrasons sans faire éclater les nanoparticules [2-3] afin de libérer localement l’agent antitumorale. Toutefois, nous nous proposons au préalable d’étudier *in vitro* les effets des ultrasons focalisés à haute intensité (HIFU) sur les cellules cancéreuses de colons CT26 afin d’estimer la pression ultrasonore maximal qui peut être appliquée sans causer d’effets thermiques ou sub-léthaux sur les cellules.

Méthodes

Des cellules CT26 de tumeur colerectale murine ont été cultivées dans du milieu DMEM (Dulbecco’s Modified Eagle’s Medium) Glutamax supplémenté avec 10% de SVF (sérum de veau fœtal) et 1% de pénicilline-streptomycine dans un incubateur à CO₂ à 37°C. Lorsque que les cellules CT26 ont été à confluence, elles ont été ajustées à 6 millions de cellules par mL. Pour chaque expérience, nous avons déposés 300 μ L de cellules CT26 dans un tube contenant 5x10⁵ cellules.

Le tube a ensuite été introduit dans une cuve remplie d’eau dégazée et à une température

*Auteur correspondant: nour.alrifai@etu.upmc.fr

†Intervenant

de 37°C et placé aux points focaux d'un hydrophone et d'un transducteur à une fréquence de 1,1 MHz constituant notre système HIFU.

Les différents tubes contenant les cellules CT26 sont traités par ultrasons respectivement à différentes conditions de pressions acoustiques (0,4 et 3,5 MPa) et de temps d'insonification (3, 6, 12 ou 20 min). Un contrôle pour chaque temps d'action des ultrasons est réalisé en parallèle sans traitement aux ultrasons et chaque expérience a été réalisée en triplicate.

A la fin de chaque expérience, les cellules contenues dans le tube ont été comptées à l'aide d'une cellule de Malassez et la moyenne et l'écart-type ont été calculées pour chaque condition expérimentale.

Résultats

Nous observons qu'il n'y a aucun effet significatif des HIFU, quelque soit la pression ou le temps d'insonification, sur la mortalité des cellules cancéreuses CT26.

Discussions

L'exposition des cellules CT26 à une haute pression ultrasonore (plus grande que 7 MPa) cause des effets subléthaux et des effets secondaires tels que des lyses cellulaires dues à la présence de phénomène de cavitation inertielle qui est accompagné par une augmentation importante de la température des cellules de (+55°C) [1]. Pour des pressions comprises entre 0,4 et 3,5 MPa, il n'y a pas de cavitation inertielle mais nous avons mesuré une augmentation de la température de +5°C au bout de 20 min ce qui ne représente pas des conditions léthale et explique le faible taux de mortalité des cellules.

Références

Vyas N *et al.*, J. Oncol. Pharm. Pract, 20: 278-87, 2014.

T. Boissenot *et al.*, Eur. J. Pharm. Biopharm., 108:136–144, 2016.

T. Boissenot *et al.*, Eur. J. Pharm. Biopharm., 108:136–144, 2016.

Remerciements

Ces travaux ont été réalisés grâce au soutien financier de :
Plan cancer BubDrop4Glio, Plan cancer AIDA et CNRS-L/UL.

Mots-Clés: Ultrasons, CT, 26, HIFU

ULTRASOUND GUIDANCE OF A TRANSESOPHAGEAL HIFU THERAPY

Batoul Dahman, Jean-Louis Dillenseger

Univ Rennes, Inserm, LTSI - UMR 1099, F-35000 Rennes, France;

Introduction

This paper will deal about cardiac fibrillation ablation therapy based on transesophageal high-intensity focused ultrasound (HIFU) technique, which consists of generating ablation using a HIFU transducer placed in the esophagus [1]. In this procedure, an ablation planning is defined on high-resolution preoperative CT and the ablation itself is can be performed under ultrasound (US) guidance by help of some imaging transducers set on the transesophageal probe. In a previous study, only one 2D-US imaging plane perpendicular to the esophagus axis was available. We proposed a guidance method based on a registration scheme between one 2D-US intraoperative image and the preoperative CT driven by some anatomical constraints [2]. A new transesophageal HIFU probe with now 2 perpendicular 2D US imaging planes is under study. In this paper, we propose a new registration approach that aligns the two perpendicular 2D-US images provided by the new probe with preoperative 3D-CT using just an image-based information. The result of the registration will be the estimation of the transesophageal HIFU device 3D pose (location and orientation) inside the preoperative 3D volume in order to guide the therapy according to the preoperative planning.

Two 2D-US to 3D-CT registration

As input we have an initial pose of the probe inside the 3D-CT (e.g. estimated roughly by the method described in [2]). From this initial pose, we propose to perform a two 2D/3D (two perpendicular slices/volume) image-based registration framework to refine the estimation of the transesophageal probe pose. Because the US imaging tool is ECG gated, we consider only the US images at the same cardiac phase as the CT and so only a 3D rigid transform with six DOF has to be estimated. The key points of the framework are: (1) slices extraction; (2) metric; (3) optimizer.

- Slices extraction

For a specific pose, the 3D transform allows us to define the US imaging referential system $(\vec{O}_i, \vec{x}_i, \vec{y}_i, \vec{z}_i)$, in which 2 perpendicular slices, (\vec{x}_i, \vec{y}_i) and (\vec{z}_i, \vec{y}_i) can be extracted from the CT.

- Metric

The similarity between the US and CT is estimated by mutual information.

The global similarity will be the sum of the similarity measures between the two sets of slices of fixed and moving images.

- Optimizer

We use the Gradient Descent optimizer to find the 3D pose which maximizes the similarity measurements.

Results and discussion

A feasibility study has been conducted on a patient with fibrillation CT dataset, obtained from Louis Pradel University Hospital. We first defined an initial ground truth (GT) pose and extracted two perpendicular slices from the CT. We simulated US images using those 2 perpendicular slices [3]. We run the registration framework for 55 randomly defined pose initialization around the initial GT pose. The results of these 55 trials are compared with the GT. Figure 1 shows the boxplot of the rigid transformation estimation error, median errors less than 0.7mm for translation, and 0.9 degree for rotation.

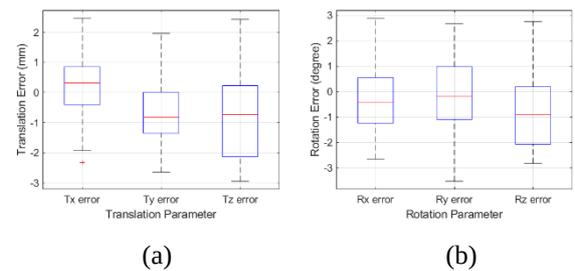


Figure 1: Boxplot corresponding to the estimated error. (a) in terms of translation parameters. (b) in terms of rotation parameters.

References

1. F. Bessi re et al., “Ultrasound-Guided Transesophageal High-Intensity Focused Ultrasound Cardiac Ablation in a Beating Heart: A Pilot Feasibility Study in Pigs,” *Ultrasound Med. Biol.*, 42(8), pp. 1848–1861, 2016.
2. Z. Sandoval et al., “Transesophageal 2D Ultrasound to 3D Computed Tomography registration for the guidance of a cardiac arrhythmia therapy,” *Phys. Med. Biol.*, 63(15), p. 155007, 2018.
3. J.-L. Dillenseger et al., “Fast simulation of ultrasound images from a CT volume,” *Comput. Biol. Med.*, 39(2):180–186, 2009.

acknowledgments

This work was part of the CHORUS (ANR- 17-CE19-0017) project which have been supported by the French National Research Agency (ANR).