

# MAGNETIC RESONANCE ELASTOGRAPHY FOR THE STUDY OF HEPATIC TUMOR MALIGNANCY

Philippe Garteiser<sup>1</sup>, Sabrina Doblaz<sup>1</sup>, Mathilde Wagner<sup>1</sup>, Jean-Luc Daire<sup>1,2</sup>, Helena Leitao<sup>3</sup>,  
Valérie Vilgrain<sup>2</sup>, Ralph Sinkus<sup>1</sup> and Bernard E. VanBeers<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Laboratoire d'Imagerie Physiologique et Moléculaire de l'Abdomen (IPMA), INSERM UMR 773, Clichy, France

<sup>2</sup>Department of Radiology, Beaujon University Hospital, University Paris Diderot, Clichy, France

<sup>3</sup>Department of Radiology, Hospitais de Universidade de Coimbra, Coimbra, Portugal

L'élastographie par résonance magnétique (ERM) est une modalité non-invasive qui permet de quantifier les propriétés mécaniques des tissus. En tant que tel, l'ERM offre un aperçu remarquable sur le large groupe de processus pathologiques associés à des altérations des propriétés solides des tissus. En ERM, la capacité à caractériser la propagation des ondes à chaque pixel en termes de longueur d'onde et d'amplitude fournit la capacité de distinguer l'aspect purement élastique (élasticité, Gd) de la viscosité (viscosité, Gl) dans la dureté ( $|G^*|$ ). Les efforts précédents impliquant l'utilisation de données ERM pour faciliter le diagnostic clinique des tumeurs du foie ont établi un lien entre la malignité de la lésion et la rigidité, mais manquaient un traitement complexe du cisaillement. Dans cette étude, l'ERM a été menée sur une cohorte de 76 patients atteints de tumeurs du foie histologiquement confirmées. Les paramètres viscoélastiques résultants ont été comparés à l'évaluation histologique. Notre démarche exploratoire, a consisté à examiner lequel de Gd ou Gl aurait le plus d'impact sur l'augmentation de la rigidité globale détectée dans les tumeurs malignes par rapport aux hyperplasies bénignes. Les participants de cette étude prospective ont été inclus sur une base de diagnostic de tumeur du foie, et comprenaient des tumeurs bénignes (10 hémangiomes, 25 hyperplasies nodulaires focales (HNF) et 7 adénomes) et malignes (18 métastases, 24 carcinomes hépatocellulaires (CHC) et 5 cholangiocarcinomes). L'étude a été menée sur une série consécutive de patients à l'hôpital Beaujon, (Clichy, France) sur une période de 18 mois de Janvier 2009 à Juin 2010. Les expériences ont été menées sur un système IRM clinique de 1,5T. Pour l'ERM, des ondes acoustiques (50 Hz) ont été produites par un transducteur sur le flanc droit du patient, et synchronisées à des gradients bipolaires d'encodage du mouvement ajoutés à une séquence d'écho de spin. Trois cartes de déplacement orthogonaux et 8 images de phase ont été acquises pour chaque patient. Les cartes de Gd et Gl ont été reconstruites en ajustant une fonction polynomiale (en appliquant des contraintes physiques d'isotropie mécanique locale et d'incompressibilité des tissus) aux valeurs de déplacement mesurées à travers les images de phase, avec un programme C++.

Un bon accord a été trouvé entre les images et les cartes de paramètres mécaniques pour la localisation et la forme des lésions (Fig. 1). La dureté moyenne (Fig. 2) des lésions malignes était supérieure à celle des lésions bénignes ( $3,33 \pm 0,21\text{kPa}$ ,  $n = 47$  vs  $2,42 \pm 0,14\text{kPa}$ ,  $n = 42$ , respectivement,  $p < 0,001$ ). Lors de l'examen individuel de l'élasticité et de la viscosité, Gd n'a pas changé de manière significative ( $p > 0,05$ ) par rapport à leur malignité. Gl a dominé la réponse de la dureté, puisque les lésions malignes avaient des valeurs de Gl nettement plus élevées dans les tumeurs malignes ( $2,05 \pm 0,21\text{kPa}$ ,  $n = 47$ ) que dans les lésions bénignes ( $1,05 \pm 0,12\text{kPa}$ ,  $n = 42$ ). Les courbes ROC (non

montré) affichent les mêmes tendances statistiques, selon lesquelles à la fois la dureté et la viscosité (mais pas d'élasticité) sont des prédicteurs statistiquement efficaces de la malignité des lésions. Les meilleures valeurs pour discriminer entre les lésions bénignes et malignes étaient de 1,40 kPa pour la viscosité et 2,56 kPa pour la dureté.

Cette étude démontre que la distinction entre les composantes élasticité et viscosité du module de cisaillement apporte un éclairage plus complet sur les tumeurs hépatiques que la dureté seule, tout en étant en accord global avec les résultats précédemment rapportés. Les mesures ERM semblent être des biomarqueurs prometteurs pour la détermination de la malignité des tumeurs hépatiques.

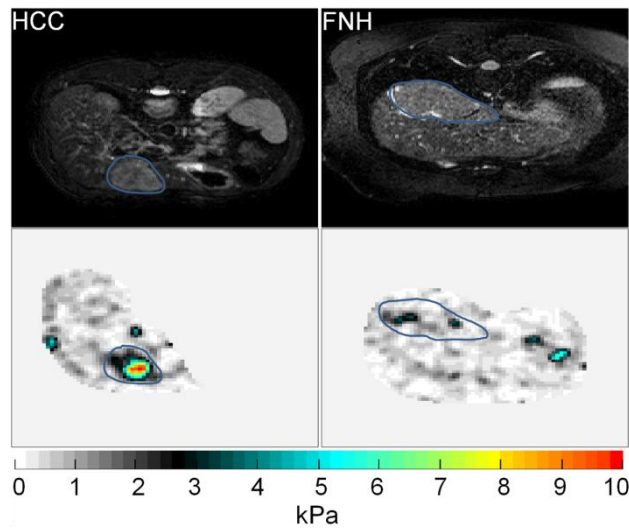


Fig. 1: typical MR images for a case of hepatocellular carcinoma (left) and a focal nodular hyperplasia. Top row: reference anatomical images. Bottom row: corresponding  $G_I$  maps (color scale in kPa). The position of the lesion is outlined on both images.

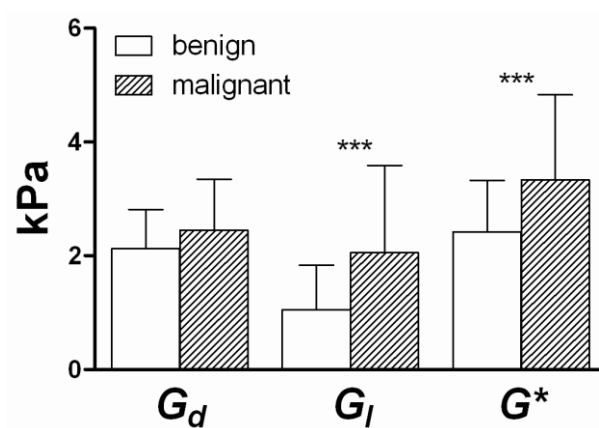


Fig.2: Histogram of average values of Elasticity ( $G_d$ ), viscosity ( $G_l$ ) and shear modulus ( $G^*$ ) for benign (plain white bars) or malignant (hashed bars) lesions. \*\*\*: statistical significance of student T-test between average values for benign and malignant lesions.

# MAGNETIC RESONANCE ELASTOGRAPHY FOR THE STUDY OF HEPATIC TUMOR MALIGNANCY

Philippe Garteiser<sup>1</sup>, Sabrina Doblas<sup>1</sup>, Mathilde Wagner<sup>1</sup>, Jean-Luc Daire<sup>1,2</sup>, Helena Leitao<sup>3</sup>,  
Valérie Vilgrain<sup>2</sup>, Ralph Sinkus<sup>1</sup> and Bernard E. VanBeers<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Laboratoire d'Imagerie Physiologique et Moléculaire de l'Abdomen (IPMA), INSERM UMR 773, Clichy, France

<sup>2</sup>Department of Radiology, Beaujon University Hospital, University Paris Diderot, Clichy, France

<sup>3</sup>Department of Radiology, Hospitais de Universidade de Coimbra, Coimbra, Portugal

Magnetic resonance elastography (MRE) is a non-invasive MR imaging (MRI) modality which quantifies the mechanical properties of tissues. As such, MRE offers a remarkable insight on the wide group of pathological processes associated with alterations of solid properties. In MRE, the ability to characterize the wave propagation at each pixel in terms of wavelength and amplitude endows MRE with the ability to distinguish the purely elastic (elasticity,  $G_d$ ) from the viscous (viscosity,  $G_l$ ) components of overall stiffness ( $G^*$ ). Previous efforts involving the use of MRE data to aid the clinical diagnosis of liver tumors established a link between lesion malignancy and overall stiffness, but lacked a complex treatment of shear. In this study, MRE was conducted on a cohort of 76 patients with histologically confirmed liver tumors. The resulting viscoelastic parameters were compared to evaluation by histology. Our exploratory approach consisted of examining which of  $G_d$  or  $G_l$  would have the highest impact on the increase in overall stiffness reported elsewhere for malignant tumors relative to benign hyperplasias.

The participants to this prospective study were selected from the criterion of proven liver tumor, including both benign (10 hemangiomas, 25 focal nodular hyperplasias (FNH) and 7 adenomas) and malignant (18 metastases, 24 hepatocellular carcinomas (HCC) and 5 cholangiocarcinomas) lesions. The study was conducted on a consecutive series of patients in Beaujon Hospital, Clichy, France over a period of 18 months from January 2009 to June 2010.

MR Experiments were conducted on a 1.5T clinical MRI system. For MRE, acoustic waves (50 Hz) were produced by a transducer on the right flank of the patient, and synchronous motion-encoding bipolar gradients were added to a spin-echo sequence with EPI readout to encode 3 orthogonal displacement maps in 8 phase images.  $G_d$  and  $G_l$  maps were reconstructed by fitting a polynomial function to the displacement values under physical constraints of local mechanical isotropy and tissue incompressibility using C++.

A good agreement was found for the localization and shape of the lesions between the anatomical images and the maps used to measure lesion mechanical parameters (Fig. 1). The average shear stiffness, (Fig. 2) of malignant lesions was found to be higher than that of benign lesions ( $3.33 \pm 0.21$  kPa,  $n=47$  vs.  $2.42 \pm 0.14$  kPa,  $n=42$ , respectively,  $p < 0.001$ ). When

examining individually the elasticity and the viscosity,  $G_d$  did not change significantly ( $p>0.05$ ) with respect to their malignancy. Instead,  $G_l$  was found to dominate the stiffness response, as malignant lesions displayed markedly higher  $G_l$  values ( $2.05\pm 0.21\text{kPa}$ ,  $n=47$ ) than benign lesions ( $1.05\pm 0.12\text{kPa}$ ,  $n=42$ ), yielding a significant difference to the 0.0001 threshold. The ROC curves (not shown) display similar statistical trends, whereby both stiffness and the viscous component of stiffness (but not elasticity) are statistically efficient predictors of lesion malignancy. The best discriminating values between benign and malignant lesions were of 1.40 kPa for viscosity and 2.56 kPa for stiffness.

This study showed that the distinction between the elastic and the viscous components of the shear modulus brings a more complete insight on hepatic tumors than stiffness alone, while being in overall agreement with previously reported findings of higher mechanical parameter values associated with malignant lesions. MRE measurements appear to be promising biomarkers for the determination of hepatic tumor malignancy.

# **MICROSCOPIE BIPHOTONIQUE IN VIVO POUR EVALUER LA SELECTIVITE ET L'EFFICACITE DE TRAITEMENTS DANS DES MODELES MURINS DE PATHOLOGIES CEREBRALES**

**DEBARBIEUX Franck, ROUGON Geneviève**

*Live imaging of cell interactions in the normal and diseased brain*

*Institut de Biologie du Developpement de Marseille-Luminy (IBDML)*

*UMR CNRS-Université 6216, Case 907, Parc Scientifique de Luminy*

*13288 Marseille Cedex 9 France*

Les capacités à imager dans les milieux diffusifs de la microscopie biphotonique (2P) ont été initialement utilisées pour suivre in vivo l'activité électrique de neurones marqués par des fluorophores organiques. L'existence de protéines fluorescentes génétiquement encodables et les progrès de la transgénèse animale ont ouvert la porte à l'étude morphologique haute résolution en 3D de larges réseaux de neurones. La mise au point du protocole de fenêtres crâniennes a alors permis d'imager le cerveau sain de façon chronique. Dans ce contexte, nous tirons avantage de la résolution subcellulaire offerte par la microscopie 2P dans le cadre d'une recherche préclinique sur les pathologies du système nerveux central (SNC). Notre objectif est en premier lieu de décrire les interactions cellulaires qui gouvernent l'évolution d'une maladie pour ensuite optimiser les tests d'efficacité de nouveaux traitements pharmaceutiques.

Des études ont montré que de nombreux types cellulaires interagissent de façon séquentielle ou concomittante dans le SNC malade (macrophages, fibroblastes, lymphocytes, péricytes, cellules endothéliales...) et contrôlent de façon synergique l'évolution des pathologies. Cependant, ni les dynamiques de ces interactions ni leurs conséquences directes ou indirectes sur la progression de la pathologie n'ont été caractérisées faute de méthodes non invasives pour visualiser ces interactions in vivo. Grâce au microscope 2P, nous imageons ces interactions dans deux modèles de pathologies incurables du SNC, les glioblastomes et les traumatismes de la moelle épinière, avec une résolution cellulaire, sur plusieurs semaines. Nous avons pour cela généré des souris fluorescentes multicolores dans lesquelles les neurones, les vaisseaux sanguins, les cellules immunitaires et/ou les cellules gliales expriment des marqueurs protéiques caractérisés par leur propriété de fluorescence et les avons soumises à 1) une xenogreffe orthotopique de tumeur cérébrale, ou à 2) une microlésion de moelle épinière. Nous avons 1) adapté le protocole de fenêtre crânienne pour le glioblastome et 2) développé un protocole similaire pour la moelle épinière lésée ce qui permet un très grand nombre de visualisations sur un même animal sans recours à des actes chirurgicaux additionnels.

L'imagerie pratiquée simultanément sur tous les canaux offre la possibilité d'une analyse quantitative et corrélative des distributions de populations cellulaires dans un environnement physiologique. Une telle analyse nous a déjà permis de mettre en évidence 1) que

l'environnement périvasculaire exerce une action neurotrophique sur les axones après traumatisme spinal; 2) que contrairement à l'idée commune, l'angiogénèse tumorale pourrait ne pas être un facteur déterminant du développement des glioblastomes. Pour ces deux modèles, nous étudions actuellement les interactions qu'établissent les axones en repousse ou les cellules tumorales avec les nombreux types de cellules immunitaires circulantes qui envahissent la zone malade par les vaisseaux sanguins. La microscopie 2P permet d'accumuler de nombreuses données à partir d'un même animal ce qui a pour avantage de réduire le nombre d'animaux impliqués dans une étude tout en améliorant la significativité statistique des résultats.

Nous avons également qualifié la microscopie 2P pour étudier la biodistribution, l'efficacité et la sélectivité de traitements délivrés à des souris vivantes. Un intérêt majeur réside dans la possibilité d'utiliser les cinétiques de croissance cellulaire à une échelle micrométrique comme indicateur précoce de l'efficacité des traitements. Les dosages peuvent ainsi être ajustés en temps réel et il n'est a priori plus nécessaire de prolonger les traitements pour obtenir un effet macroscopique ou comportemental détectable.

# **IN VIVO 2P MICROSCOPY TO EVALUATE TREATMENT SELECTIVITY AND EFFICACY ON RODENT MODELS OF CNS PATHOLOGIES**

**DEBARBIEUX Franck, ROUGON Geneviève**

*Live imaging of cell interactions in the normal and diseased brain*

*Institut de Biologie du Développement de Marseille-Luminy (IBDML)*

*UMR CNRS-Université 6216, Case 907, Parc Scientifique de Luminy*

*13288 Marseille Cedex 9 France*

Given its ability to image in diffusing media, 2P microscopy was initially used in neuroscience to monitor the electrical activity of exogenously labeled neurons *in vivo*. Genetically encodable fluorescent proteins and improvements in animal transgenesis have since opened the way to examining the morphology of large 3D networks of fluorescent neurons at high resolution. Soon thereafter, protocols for implanting glass windows over exposed brain regions were established, thus opening the door for long-term chronic imaging of the healthy brain. In this context, our goal is to demonstrate that preclinical research on central nervous system (CNS) pathologies can benefit from repeated imaging of damaged brain regions with sub-cellular resolution using *in vivo* 2P microscopy. With this approach we expect not only to better understand the fundamental cellular interactions that govern pathological fate but also to test the efficacy of new pharmaceutical treatments.

Earlier work shows that many cell types interact sequentially or concomitantly in the diseased CNS (macrophages, fibroblasts, lymphocytes, pericytes, endothelial cells...) and synergistically control the evolution of pathologies. However, the actual dynamics of these interactions as well as their direct or indirect consequences are poorly known due to the lack of non-invasive methodologies to resolve cellular interaction *in vivo*. Our efforts are focussed on two models of incurable CNS pathologies, namely glioblastoma and spinal cord injury, whose evolution is repeatedly imaged over several weeks at a cellular level with a 2P microscope. To this end, we have bred multicolor fluorescent mice whose neurons, blood vessels, immune cells, and/or glial cells express marker proteins distinguishable by their fluorescent properties and submitted them either to 1) an orthotopic brain tumor xenograft or to 2) a spinal cord pin-prick lesion. We have next 1) adapted the standard cranial glass window protocol to study pathological conditions in the brain, and 2) developed a method for implanting glass windows over the exposed spinal cords of adult mice. These protocols suppress the need of extra surgery and allow a large number of examinations of the same field of view.

Imaging is performed simultaneously on all channels, opening the way to quantitative and correlative analyses of the various cell distributions in a truly physiological environment. Our

data revealed that the perivascular environment exerts a neurotrophic action on regenerating spinal axons after injury. Moreover, our results on glioblastoma challenge the common idea that angiogenesis is a major parameter for brain tumor development. For both pathological models, we are currently studying the interactions between regenerating axons or tumor cells and the various immune cell types that invade the diseased area through blood vessels. Importantly, in vivo 2P imaging generates huge amounts of data from a single animal hence allowing for strong reduction in the number of animals engaged in an experimental study and simultaneously improving the statistical significance of the results.

We have also qualified 2P microscopy to study the biodistribution, the efficacy, and the target selectivity of treatments delivered to a living rodent. Of outstanding interest is that the changes of cell growth kinetics at a microscopic scale can be used as early indicators of treatment efficacy. This allows an adjustment of drug dosages in real time, avoiding the prolongation of treatments needed to obtain macroscopic or behavioral readout of the effect.



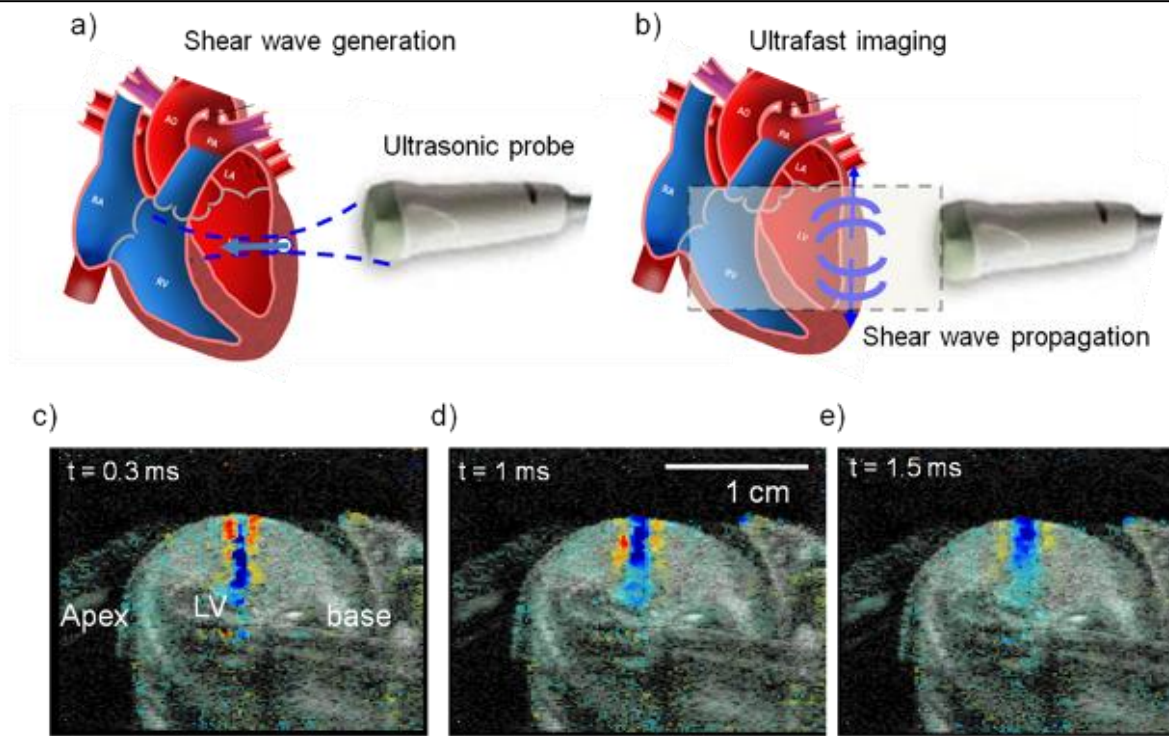
## **IMAGERIE QUANTITATIVE DES PROPRIÉTÉS VISCOÉLASTIQUES DU CŒUR PAR IMAGERIE ULTRARAPIDE D'ONDES DE CISAILLEMENT.**

PERNOT Mathieu, COUADE Mathieu, LEE Wei-Ning, FINK Mathias, TANTER Mickael

*Institut Langevin, ESPCI ParisTech, CNRS UMR 7587, INSERM U979, 10 rue vauquelin, 75005 Paris*

Les maladies cardiovasculaires se caractérisent souvent par des changements importants des propriétés viscoélastiques des tissus cardiaques. On sait qu'il existe un lien fort entre les variations de l'élasticité du myocarde et les altérations de la fonction cardiaque dues à des nombreuses pathologies comme les cardiomyopathies hypertrophiques ou ischémiques. L'approche développée dans ce travail repose sur la technique d'imagerie par ondes de cisaillement développée ces dernières années à l'institut Langevin (CNRS UMR 7587, INSERM U979) qui permet de réaliser une cartographie temps-réelle des propriétés élastiques des tissus mous. Cette technique appartient au domaine de l'imagerie multi-onde car elle combine deux ondes: une onde de cisaillement fournissant le contraste des propriétés élastiques, et une onde ultrasonore offrant une résolution spatiale millimétrique. Le principe de cette technique repose sur deux étapes successives: d'abord, une onde de cisaillement est induite à distance dans le myocarde en utilisant la force de radiation acoustique d'un faisceau focalisé, puis la propagation des ondes de cisaillement est imagée en utilisant l'imagerie ultrarapide (10 000 images par seconde ). Le module de cisaillement est alors déduit de la vitesse de propagation des ondes de cisaillement, basée sur la relation intrinsèque entre  $\mu$  le module de cisaillement et la vitesse de propagation  $CT$ ,  $CT = \sqrt{\mu / \rho}$  où  $\rho$  est la masse volumique du tissu mou. La dynamique de variation du module de cisaillement au cours du cycle cardiaque peut être mesurée en temps-réel donnant ainsi accès à des paramètres fonctionnels comme la contractilité cardiaque, mais aussi de l'organisation microscopique du tissu myocardique comme l'orientation des fibres musculaires.

Le principe de la technique d'imagerie multi-onde sera d'abord brièvement présentée, puis les principaux résultats obtenus sur des cœur isolés ainsi que *in vivo* sur des modèles animaux précliniques de cardiomyopathies seront présentés. Le lien entre les propriétés viscoélastiques et les paramètres physiologiques tels que la contractilité seront discutés. Enfin, une technique d'imagerie de l'orientation des fibres myocardique est développée en exploitant l'anisotropie de propagation des ondes de cisaillement dans le myocarde. Cette technique permet de cartographier la distribution complexe des fibres musculaires dans le cœur et une comparaison est réalisée avec l'imagerie de tenseur de diffusion IRM.



**Figure 1: Basic principles of the Shear Wave Imaging (SWI) technique**

# QUANTITATIVE IMAGING OF MYOCARDIAL VISCOELASTIC PROPERTIES USING SHEAR WAVE IMAGING.

PERNOT Mathieu, COUADE Mathieu, LEE Wei-Ning, FINK Mathias, TANTER Mickael

*Institut Langevin, ESPCI ParisTech, CNRS UMR 7587, INSERM U979, 10 rue vauquelin, 75005 Paris*

Cardiac pathologies are often characterized by a significant change of myocardial stiffness, re-organization of muscle fiber structure, and the accompanying dysfunction, all of which remain challenging to be quantitatively assessed *in vivo*. A strong link has been established between myocardial stiffness and alterations in cardiac function due to many diseases such as hypertrophic or ischemic cardiomyopathy. The approach developed in this work is based on Shear Wave Imaging (SWI) a technique developed at institut Langevin (CNRS UMR 7587, INSERM U979) that provides real-time mapping of the viscoelastic properties of soft tissues. SWI belongs to the field of multiwave imaging as it combines two different waves: one (shear wave) providing stiffness contrast, and another (ultrasonic wave) providing millimeter spatial resolution. Thanks to the combination of the two waves, shear wave imaging produces a quantitative map of the visco-elastic properties of soft tissues in real-time. The basic principle of this technique relies on two successive steps: first, a shear wave is remotely induced in soft tissues using the acoustic radiation force of a focused beam, and second, the shear wave propagation is imaged using ultrafast imaging (10,000 frames per seconds). The shear modulus (i.e. stiffness) is then derived from the shear wave propagation velocity, based on the following intrinsic relationship between the shear modulus  $\mu$  and the propagation speed  $c_T$ ,  $c_T = \sqrt{\mu/\rho}$  where  $\rho$  is the local tissue volumic mass. It is possible to generate shear waves at a specific location of the heart and follow their propagation within milliseconds, allowing to map the shear modulus of the myocardium in real-time. The dynamics of change in shear modulus during the cardiac cycle gives access to operating parameters such as cardiac contractility, but also the microscopic organization of myocardial tissue as the orientation of muscle fibers.

The principle of multi-wave imaging SWI will be first briefly introduced and the results obtained on isolated heart and *in vivo* in preclinical animal models of cardiomyopathy will be presented. The relationship between the viscoelastic myocardial properties and physiological parameters such as the myocardial contractility will be discussed. Finally, an ultrasound based imaging technique of the myocardial fiber orientation is developed by exploiting the anisotropy of shear wave propagation in the myocardium. This technique can map the complex distribution of muscle fibers in the myocardium and is compared to MR diffusion tensor imaging.

# COMPARAISON DE TROIS MODALITÉS D'IMAGERIE MOLECULAIRE PAR IRM : APPLICATION À L'IMAGERIE DE L'ANGIOGENÈSE DANS UN MODÈLE SOURIS DE TUMEUR CÉRÉBRALE.

Benjamin MARTY<sup>1</sup>, Julien FLAMENT<sup>1</sup>, Céline GIRAUDEAU<sup>1</sup>, Françoise GEFFROY<sup>1</sup>, Christelle MEDINA<sup>2</sup>, Caroline ROBIC<sup>2</sup>, Philippe ROBERT<sup>2</sup>, Marc PORT<sup>2</sup>, Denis LE BIHAN<sup>1</sup>, Julien VALETTE<sup>1</sup>, Sébastien MERIAUX<sup>1</sup>, Fawzi BOUMEZBEUR<sup>1</sup>, Franck LETHIMONNIER<sup>1</sup>

<sup>1</sup>NeuroSpin, <sup>2</sup>BM, Commissariat à l'Energie Atomique, Gif-sur-Yvette, France

<sup>2</sup>Guerbet, Research Division, Roissy-Charles de Gaulle, France

## Introduction

Récemment, le développement d'agents de contraste (AC) fonctionnalisés ouvre de nouveaux horizons pour l'imagerie moléculaire par IRM. Nous avons évalué trois AC reposant sur des principes différents : émulsion Gd (agent paramagnétique), LipoCEST [1] (agent shiftant) et émulsion fluorée (IRM du <sup>19</sup>F). La comparaison des sensibilités et des spécificités relatives des trois modalités a été menée sur un modèle de tumeur cérébrale chez la souris, avec des AC fonctionnalisés par greffage d'un peptide RGD ciblant spécifiquement l'intégrine  $\alpha_v\beta_3$  exprimée lors de l'angiogenèse tumorale.

## Matériels et Méthodes

**Modèle animal.** L'induction de tumeur cérébrale ( $\emptyset \sim 2$  à 6mm) chez la souris est obtenue par injection IC de cellules U87MG.

**AC.** Pour chaque modalité, 2 AC ont été utilisés (RGD et Ctrl) : 2 émulsions de Gd ( $r_1 = 2,4 \cdot 10^5 \text{mM}^{-1} \text{s}^{-1}$ ), 2 LipoCEST présentant des contrastes aMTR (asymmetric Magnetization Transfer Ratio) maximaux pour  $B_{1\text{opt}} = 7 \mu\text{T}$  et  $\delta_{\text{opt}} = \pm 8 \text{ppm}$  et 2 émulsions de <sup>19</sup>F (PFOB à 40% en masse).

**IRM.** Les acquisitions ont été réalisées à 7T, avant et dans les 2 heures suivant l'injection IV de chaque AC.

**Gd :** Une séquence IR-FGE de cartographie  $T_1$  [2] ( $R = 150 \times 150 \times 660 \mu\text{m}^3$ ,  $T_{\text{acq}} = 12,5 \text{min}$ ) a été acquise sur 10 souris (5 RGD et 5 Ctrl). Les cartes de concentration sont calculées en utilisant la relaxivité  $r_1$  de l'AC.

**CEST :** Une séquence MSME ( $R = 150 \times 150 \times 660 \mu\text{m}^3$ ,  $T_{\text{acq}} = 14 \text{min}$ ) précédée d'une saturation a été acquise sur 24 souris (12 RGD et 12 Ctrl).

**<sup>19</sup>F :** Une séquence MSME optimisée pour le  $\text{CF}_3$  du PFOB [3] ( $R = 500 \times 500 \times 6000 \mu\text{m}^3$ ,  $T_{\text{acq}} = 18 \text{min}$ ) a été acquise sur 12 souris (6 RGD et 6 Ctrl).

## Résultats et Discussion

Comme l'illustre la figure 1, les AC sont détectés avec une sensibilité subnanomolaire quelle que soit la méthode employée. De plus, on observe systématiquement un contraste plus important avec les AC RGD au niveau de la tumeur (Fig.1.b,d,f). Cette différence peut être attribuée à l'association spécifique des peptides RGD aux récepteurs  $\alpha_v\beta_3$  présents à la surface des néo-vaisseaux entourant la tumeur. Tel que résumé par le Tableau 1, les décours temporels (RGD et Ctrl) sont significativement différents ( $p < 0,05$ ) dès la première acquisition pour les émulsions de Gd et <sup>19</sup>F alors qu'ils ne le deviennent qu'après 1h pour le LipoCEST. Pour les AC RGD, un plateau est rapidement atteint à des concentrations précisées dans le Tableau 1. On observe une diminution du contraste uniquement pour le LipoCEST-Ctrl,

probablement en raison d'un temps de demi-vie plus court des liposomes circulants (~1h30) par rapport aux émulsions (~4h).

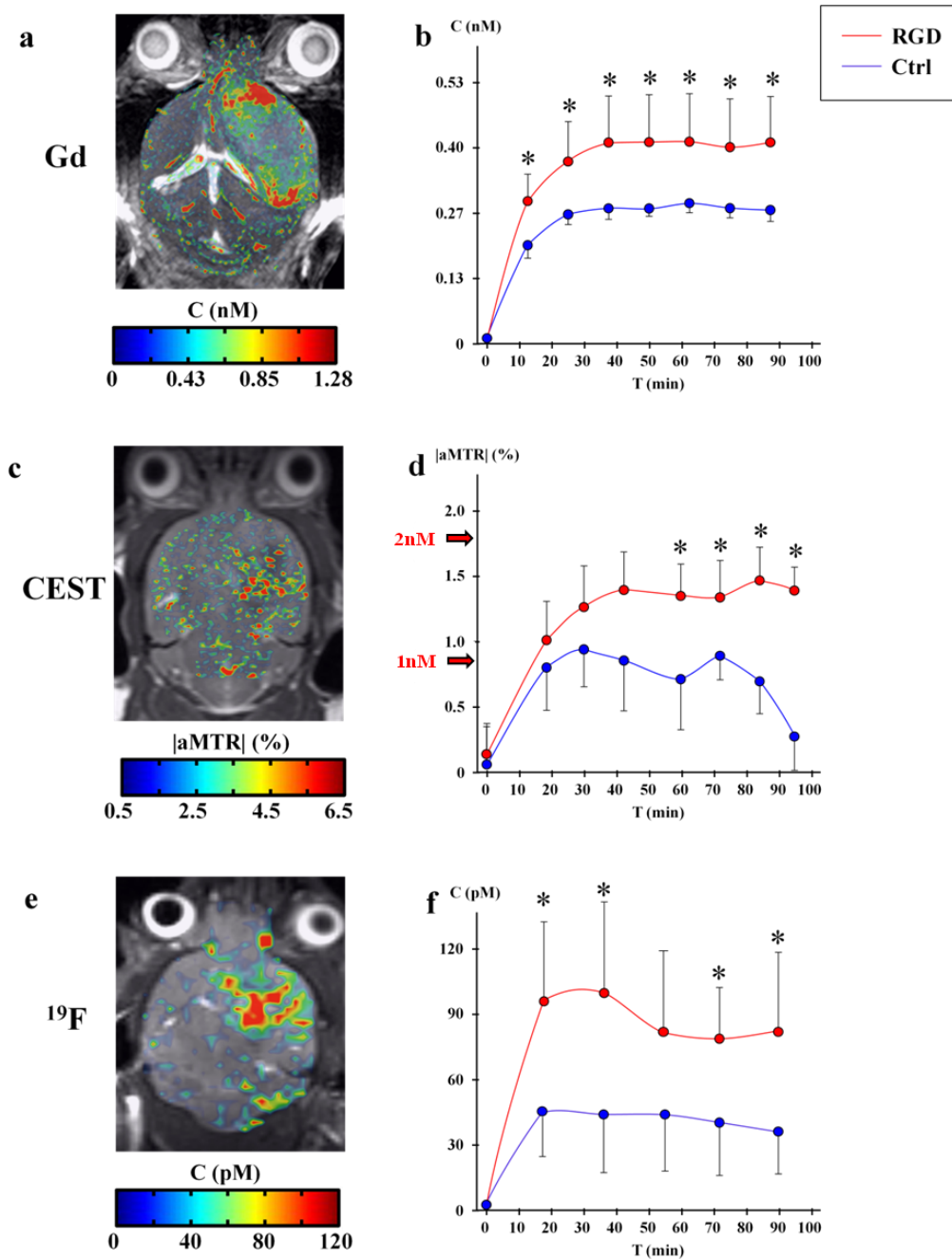


Figure 1. Exemple d'images acquises après injection IV du AC RGD pour les modalités Gd, CEST et <sup>19</sup>F (a, c, e respectivement). Décours temporels obtenus après injection IV des AC RGD et Ctrl (lignes rouges et bleues respectivement) pour les modalités Gd, CEST et <sup>19</sup>F (b, d, f respectivement). Le signal est moyenné dans la zone tumorale et à travers la cohorte (n=5/5 pour Gd, n=12/12 pour CEST et n=6/6 pour <sup>19</sup>F).

Figure 1. Example of images acquired after IV injection of RGD CA for Gd, CEST and <sup>19</sup>F modalities (a, c, e respectively). Time course obtained after IV injection of RGD et Ctrl CA (red and blue curve respectively) for Gd, CEST and <sup>19</sup>F modalities (b, d, f respectively). Signal is averaged in the tumor region and through the animal cohort (n=5/5 for Gd, n=12/12 for CEST et n=6/6 for <sup>19</sup>F).

Les avantages et limitations de chaque approche sont résumés dans le Tableau 1. L'approche Gd semble proposer le meilleur compromis pour garantir une résolution spatiale élevée ainsi qu'une grande sensibilité de détection, mettant en évidence des différences significatives liées à la fonctionnalisation de l'AC même sur un petit nombre d'animaux. Toutefois la méthode de quantification utilisée repose sur une mesure *in vitro* de la relaxivité  $r_1$  de l'AC. L'approche CEST permet aussi d'atteindre une bonne résolution spatiale et présente l'avantage d'être peu sensible aux AC circulants. Néanmoins, elle demeure sensible aux inhomogénéités de  $B_0$  et  $B_1$  et la quantification reste difficile en raison du contraste MT endogène. Enfin, l'absence de fluor endogène et la linéarité entre signal IRM et concentration en AC permet une quantification directe avec l'approche  $^{19}\text{F}$ , mais celle-ci souffre d'une résolution spatiale plus faible que les modalités  $^1\text{H}$ .

	Gd	LipoCEST	$^{19}\text{F}$
Spatial resolution	150x150x660 $\mu\text{m}^3$	150x150x660 $\mu\text{m}^3$	500x500x6000 $\mu\text{m}^3$
1 <sup>st</sup> significant time point	12,5min	60min	18min
Concentration at the plateau	0.4nM	1.6nM	80pM
Advantages	Spatial resolution Specificity Quantification	Spatial resolution Quite insensitive to movements	Quantification
Limitations	Access to <i>in vivo</i> $r_1$ relaxivity	Endogenous MT $B_0$ et $B_1$ inhomogeneities	Spatial resolution

Tableau 1. Tableau récapitulatif des caractéristiques observées pour les modalités Gd, CEST et  $^{19}\text{F}$ .

Table 1. Main characteristics of Gd, CEST and  $^{19}\text{F}$  modalities

## Conclusion

Cette étude constitue la première comparaison d'AC fonctionnalisés dans des conditions expérimentales similaires. Telle que l'illustre l'application sur un modèle souris de tumeur cérébrale, chaque modalité apporte des informations complémentaires ouvrant le champ d'exploration multimodale des pathologies cérébrales.

[1] Aime et al. Angew Chem 2005

[2] Deichman et al. MRM 1999

[3] Giraudeau et al. MRM 2010

# COMPARISON OF THREE MRI MOLECULAR IMAGING MODALITIES: APPLICATION TO ANGIOGENESIS IMAGING IN A BRAIN TUMOR MOUSE MODEL.

Benjamin MARTY<sup>1</sup>, Julien FLAMENT<sup>1</sup>, Céline GIRAUDEAU<sup>1</sup>, Françoise GEFFROY<sup>1</sup>, Christelle MEDINA<sup>2</sup>, Caroline ROBIC<sup>2</sup>, Philippe ROBERT<sup>2</sup>, Marc PORT<sup>2</sup>, Denis LE BIHAN<sup>1</sup>, Julien VALETTE<sup>1</sup>, Sébastien MERIAUX<sup>1</sup>, Fawzi BOUMEZBEUR<sup>1</sup>, Franck LETHIMONNIER<sup>1</sup>

<sup>1</sup>NeuroSpin, <sup>2</sup>BM, Commissariat à l'Energie Atomique, Gif-sur-Yvette, France

<sup>2</sup>Guerbet, Research Division, Roissy-Charles de Gaulle, France

## Introduction

The recent development of targeted contrast agents (CA) has opened the way for MRI molecular imaging. Here we evaluated three different CA based on different principles: Gd-based emulsion (paramagnetic agent), LipoCEST [1] (shifting agent) and fluorine emulsion (<sup>19</sup>F MRI). A comparison of the three modalities sensitivity and specificity was performed on a mouse model of brain tumor using CA grafted with RGD peptides to specifically target  $\alpha_v\beta_3$  integrins over-expressed in angiogenic vessels.

## Materials and Methods

**Animal model.** Brain tumors ( $\varnothing \sim 2$  to 6mm) were induced in nude mice by IC injection of U87MG cells.

**CA.** For each modality, 2 CA were used (RGD and Ctrl): 2 Gd-based emulsions ( $r_1=2,4 \cdot 10^5 \text{mM}^{-1}\text{s}^{-1}$ ), 2 LipoCEST exhibiting maximum aMTR (asymmetric Magnetization Transfer Ratio) contrasts for  $B_{1\text{opt}}=7\mu\text{T}$  and  $\delta_{\text{opt}}=\pm 8\text{ppm}$ , and 2 <sup>19</sup>F emulsions (PFOB, 40% w/w).

**MRI.** Acquisitions were carried out at 7T, before and within the 2h following IV injection of each CA.

**Gd:** A  $T_1$  mapping IR-FGE sequence [2] ( $R=150 \times 150 \times 660 \mu\text{m}^3$ ,  $T_{\text{acq}}=12,5\text{min}$ ) was acquired on 10 mice (5 RGD and 5 Ctrl). Concentration maps were derived using the CA relaxivity  $r_1$ .

**CEST:** A MSME sequence ( $R=150 \times 150 \times 660 \mu\text{m}^3$ ,  $T_{\text{acq}}=14\text{min}$ ) preceded by a saturation was acquired on 24 mice (12 RGD and 12 Ctrl).

**<sup>19</sup>F:** A MSME sequence optimized for the CF3 peak of PFOB [3] ( $R=500 \times 500 \times 6000 \mu\text{m}^3$ ,  $T_{\text{acq}}=18\text{min}$ ) was acquired on 12 mice (6 RGD and 6 Ctrl).

## Results and Discussion

As illustrated by Figure 1, CA are detected with a sub-nanomolar sensitivity by the three modalities. Moreover a higher contrast is systematically observed for RGD contrast agents inside the tumor. This difference can be ascribed to a specific association of RGD peptides to  $\alpha_v\beta_3$  integrins expressed at the neo-vessels surface. As summarized in Table 1, time courses (RGD vs Ctrl) are significantly different ( $p < 0.05$ ) from the first time point for Gd-based and <sup>19</sup>F emulsions but only after 1h with the LipoCEST. For each RGD-CA a plateau is rapidly reached at concentrations specified in Table 1. A contrast decrease is only observed for the Ctrl LipoCEST, probably due to a shorter half life of flowing liposomes ( $\sim 1\text{h}30$ ) compared to emulsions ( $\sim 4\text{h}$ ).

Advantages and limitations of each approach are summarized in Table 1. Gd-based approach seems to offer the best compromise to ensure a high spatial resolution and sensitivity of detection, highlighting significant differences with functionalized CA, even on a small number of animals. However, quantification method is based on *in vitro* measurement of the CA relaxivity  $r_1$ . CEST approach also leads to a high spatial resolution and is quite insensitive to flowing CA. Nevertheless, this method is sensitive to  $B_0$  and  $B_1$  inhomogeneities and quantification is hampered by endogenous MT contrast. Finally,  $^{19}\text{F}$  approach allows direct quantification thanks to both lack of endogenous fluorine and linearity between MRI signal and CA concentration, but suffers from a lower spatial resolution compared to  $^1\text{H}$  modalities.

### **Conclusion**

To our knowledge, this study is the first comparison of functionalized CA used in similar experimental conditions. As shown by their application on a brain tumor mouse model, each modality provides additional information, promising for multimodal investigation of brain diseases.

[1] Aime et al. *Angew Chem* 2005

[2] Deichman et al. *MRM* 1999

[3] Giraudeau et al. *MRM* 2010



# LA DETECTION OPTIQUE DU GANGLION SENTINELLE DANS LES CANCERS DU SEIN: PHOTONS DIFFUSES OU FLUORESCENCE ?

TELLIER Franklin<sup>1,2</sup>, SIMON Hervé<sup>2</sup>, CHABRIER Renée<sup>1</sup>, STEIBEL Jérôme<sup>1</sup>, RODIER Jean François<sup>3</sup>, CHAMBRON Jacques<sup>2</sup>, POULET Patrick<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Laboratoire d'Imagerie et de Neurosciences Cognitives, UMR 7237 Université de Strasbourg/CNRS, 4 rue Kirschleger, 67085 Strasbourg, France*

<sup>2</sup>*EURORAD, 2 rue Ettore Bugatti 67201 Eckbolsheim, France*

<sup>3</sup>*Centre régional de lutte contre le cancer Paul-Strauss, Département de Chirurgie Oncologique, 3 rue de la Porte de l'Hôpital, 67085 Strasbourg Cedex, France*

Le cancer du sein est la forme la plus répandue de cancer chez la Femme et également celui présentant le plus fort taux de mortalité. L'opération du sein est accompagnée de l'exérèse des ganglions sentinelles (GS) et de leur analyse extemporanée. Un curage axillaire est décidé en fonction des résultats. Les GS sont localisés par le chirurgien, après incision, soit par détection d'un radiotracteur, soit par recherche visuelle d'un colorant, couramment le Bleu Patenté V (BPV).

Deux méthodes de détection optique objective sont présentées et comparées dans cette présentation.

La première repose sur la détection de photons diffusés. Un appareil à 4 longueurs d'onde a été construit, afin de séparer le BPV des chromophores endogènes. Les faisceaux laser, d'une puissance inférieure à 1 mW, sont injectés dans une fibre optique 4x1 dont l'extrémité commune est scellée dans une sonde stylo, positionnée en regard de la zone explorée. Une seconde fibre permet de collecter les photons diffusés. Ceux-ci sont envoyés sur un détecteur, photodiode ou tube photomultiplicateur (PM). Une carte multifonction contrôle les lasers et numérise les signaux optiques. Elle est commandée par un microordinateur portable. Chaque diode est modulée à une fréquence propre. Une analyse spectrale permet de séparer les 4 signaux et d'éliminer la contribution de la lumière ambiante. Les concentrations de BPV, et d'autres molécules, en particulier les formes oxydée et réduite de l'hémoglobine, sont ensuite calculées par résolution d'un système d'équations.

La seconde méthode exploite les photons de fluorescence émis par relaxation radiative d'un colorant, après excitation par un faisceau laser de puissance moyenne égale à 200 mW. La sonde stylo, utilisant le PM, et la carte d'acquisition décrites ci-dessus sont utilisées dans cette configuration. Le laser est modulé et la contribution au signal de la lumière ambiante éliminée par analyse spectrale. Cette méthode à détecteur unique peut être étendue à une méthode d'imagerie de fluorescence par illumination de la région d'intérêt et utilisation d'une caméra CCD.

Trois types d'études préliminaires ont été menées afin de valider et de comparer les configurations présentées.

Les premières ont été réalisées sur des suspensions diffusantes, afin de déterminer le seuil de détection du BPV et de vérifier la linéarité des concentrations mesurées, en fonction des concentrations réelles. Ce type d'objet test a également permis de vérifier l'effet d'autres chromophores sur les résultats des mesures de BPV [1].

Des expériences *in vivo* ont été réalisées sur des rats Lewis, afin de détecter des ganglions dans un modèle d'inflammation. Elles ont permis de démontrer que le dispositif basé sur la détection des photons diffusés permet de suivre l'accumulation et la fixation du BPV dans les différents ganglions de ce modèle, après injection d'une faible quantité de colorant [2]. Des expériences préliminaires par détection des photons de fluorescence sur ce même modèle animal ont permis de suivre la migration et l'accumulation de colorant dans les ganglions.

Des études cliniques ont permis de détecter *ex vivo* le GS, après injection de différents volumes de BPV. Les résultats de détection du GS par la méthode optique utilisant les photons diffusés ont été comparés aux résultats obtenus par les méthodes isotopiques et visuelles. Ils montrent que la sonde optique a permis de détecter tous les GS, à des doses de colorant injectées réduites, par comparaison avec la pratique courante. L'instrumentation développée présente l'avantage essentiel de détecter le BPV, colorant utilisé en routine clinique. Elle peut être utilisée lors de l'excision des GS et constitue un outil diagnostique simple et économique qui peut être utilisé par les chirurgiens sans modification notable de leur pratique.

Ce travail a été réalisé grâce au soutien financier de l'ANRT.

[1] Tellier F. *et al*, Proc. SPIE 8092, DOI: 10.1117, 2011.

[2] Tellier F. *et al*, Biomed. Opt. Express 1(3): 902-910, 2010.

## THE OPTICAL DETECTION OF BREAST CANCER SENTINEL LYMPH NODE: SCATTERED OR FLUORESCENCE PHOTONS?

TELLIER Franklin<sup>1,2</sup>, SIMON Hervé<sup>2</sup>, CHABRIER Renée<sup>1</sup>, STEIBEL Jérôme<sup>1</sup>, RODIER Jean François<sup>3</sup>, CHAMBRON Jacques<sup>2</sup>, POULET Patrick<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Laboratoire d'Imagerie et de Neurosciences Cognitives, UMR 7237 Université de Strasbourg/CNRS, 4 rue Kirschleger, 67085 Strasbourg, France*

<sup>2</sup>*EURORAD, 2 rue Ettore Bugatti 67201 Eckbolsheim, France*

<sup>3</sup>*Centre régional de lutte contre le cancer Paul-Strauss, Département de Chirurgie Oncologique, 3 rue de la Porte de l'Hôpital, 67085 Strasbourg Cedex, France*

Breast cancer is the most prevalent form of cancer in female patients, and that with the highest mortality rate. Axillary dissection has been gradually replaced with minimally invasive surgery involving sentinel lymph node (SLN) biopsy. A lymphophilic tracer (radioisotopic and dye) injected and the SLN is detected, after skin incision in the armpit, on the basis of radioactive counts and visual inspection. Patent Blue Violet (PBV) is the dye most frequently used by surgeons, for this purpose.

Two objective optical methods for SLN detection, using the PBV dye, will be presented and compared in this contribution.

The first one is based on the recording of scattered photons. A 4-wavelength setup was build to discriminate PBV from other tissue chromophores. The laser beams, with a power not exceeding 1 mW, are injected in a 4x1 optical fiber. The single output is sealed in a pen-shaped probe, facing the explored sample. The probe includes a second fiber for photon detection. Back-scattered photons are detected by a photodiode or a photomultiplier tube (PMT). The lasers and optical signals are controlled via an acquisition board connected to a laptop computer. Each laser diode is modulated at a given frequency and a Fast Fourier Transform (FFT) of the recorded signal is computed. It allows to separate the 4-wavelength signals and to eliminate background light. The concentrations in PBV and other absorbing molecules, such as oxy- and deoxy-haemoglobin, are computed by solving a system of 4 equations.

The second method is based on the detection of fluorescence photons emitted by radiative relaxation of a dye after excitation with a single laser beam with an average power of 200 mW. The same pen-shaped probe can be used to explore the sample, fluorescence photons being detected by the PMT. The lasers and PMT signals are controlled as described above. The laser diode is modulated at a given frequency and a FFT analysis is used to eliminate the contribution of background light. This single-voxel fluorescence method has been extended to an imaging method, by illuminating the whole region of interest and using a CCD camera. Background light was eliminated by synchronizing image acquisition and laser illumination.

In order to characterize the different configurations presented above, we carried-out three kinds of preliminary studies.

First measurements were made on scattering suspensions to determine the PBV detection threshold, and check the linearity of measured versus real PBV concentrations. Such samples were also used to control the effect of other chromophores on the PBV measured concentration [1].

*In vivo* experimentation with Lewis rat was performed in order to detect active nodes. We have shown that the probe, using photodiode and scattered photons, could detect PBV accumulation and fixation on different nodes, after injection of a small volume of dye [2]. Preliminary fluorescence experiments were also successfully performed on this animal model. The migration of the dye and its accumulation in the active nodes can be dynamically imaged.

Clinical results were obtained by ex-vivo detection of SLN after injection of different volumes of PBV. We compared the accuracy and success rate of detection using an isotopic probe, the visibility threshold of the human eye, and the optical probe operating in the back-scattered photons and photodiode configuration. Results showed that the optical probe detected all the nodes, regardless of the volume of dye injected. Our instrumentation developed for the optical detection of SLN presents the advantage of working with PBV, a dye already used in clinical routine. It could be used during node excision and would provide surgeons with a simple diagnostic tool, without changing significantly their surgical practice.

This work was performed thanks to a research grant from the ANRT.

[1] Tellier F. *et al*, Proc. SPIE 8092, DOI: 10.1117, 2011.

[2] Tellier F. *et al*, Biomed. Opt. Express 1(3): 902-910, 2010.

# **THÉRAPIE PHOTODYNAMIQUE DU CANCER DE LA PROSTATE GUIDÉE PAR IMAGERIE**

BETROUNI Nacim, PUECH Philippe, COLIN Pierre, MORDON Serge

*INSERM U703*

*152, rue du Docteur Yersin*

*59120 Loos*

La thérapie photo-dynamique (PDT) est un traitement utilisant un agent photo-sensibilisant qui se concentre dans les tissus pathologiques. L'agent est ensuite activé par une lumière de longueur d'onde précise produisant des réactions visant à détruire les cellules cancéreuses.

Même si la PDT procure d'excellents résultats, il reste cependant encore à résoudre plusieurs problèmes dont la prédiction et la reproductibilité de son efficacité thérapeutique. Dans cette étude nous nous sommes intéressés à la planification dosimétrique de la PDT pour réaliser des traitements focaux du cancer de la prostate avec le WST11 TOOKAD-Soluble.

Des études précliniques et cliniques de phase I et II durant lesquelles une escalade de doses a été réalisée ont permis de définir les paramètres optimaux pour la concentration de produit nécessaire, le temps du traitement et la fluence de lumière. Cette dernière est conduite à la zone à traiter grâce à des fibres optiques diffusantes. Reste donc le problème de la définition de la configuration optimale de fibres à utiliser : nombre, positions et longueurs.

Le but du travail est d'établir un modèle en analysant les données récoltées durant les phases précédentes pour guider au positionnement des fibres pour assurer que la lumière soit délivrée dans la cible tout en épargnant les tissus sains dans la prostate et les organes à risque comme la vessie et le rectum.

28 patients ont été traités lors de phase II de l'étude multicentrique internationale. Pour chaque patient, on disposait des données suivantes : IRM acquise au J7, le nombre de fibres utilisées, leurs longueurs et leurs positions. L'IRM J7 permet d'estimer le volume de la nécrose induite.

En supposant que chaque fibre optique diffusante agit comme un cylindre de lumière caractérisé par un rayon d'action et une longueur (la longueur de la partie diffusante de la fibre), l'idée consistait à définir le rayon optimal qui permet d'avoir la corrélation spatiale la plus précise entre le volume formé par l'ensemble des fibres et le volume de la nécrose observé sur l'IRM J7.

Une fois ce rayon établi, l'étape suivante était l'utilisation de ce modèle pour la planification d'un traitement en définissant la configuration de fibres qui garantit la couverture optimale par lumière de la cible à traiter. Ainsi, un logiciel a été développé dans le quel le clinicien définit la cible à nécroser sur des IRM puis en se basant sur le modèle d'action précédemment trouvé, l'algorithme de Powell est utilisé pour trouver le nombre de fibres nécessaires, leurs

positions ainsi que leurs longueurs pour optimiser la couverture spatiale entre la lumière issue des fibres et la cible.

Pour l'évaluation de la méthode, le traitement de 6 patients ne faisant pas partie des 28 initiaux a été planifié par un clinicien en s'aidant du logiciel, le volume de la nécrose prédite a été comparé au résultat obtenu sur l'IRM J7.

Pour les 6 patients, la méthode était capable d'estimer la nécrose finale avec un taux de recouvrement minimal de 90% ce qui correspond à une différence en volume de de 1 à 2 cm<sup>3</sup>.

Par ailleurs, durant ces expérimentations la sensibilité de la méthode par rapport à la définition des structures d'intérêt a été testée. Ainsi, un second clinicien a été sollicité pour réaliser une planification pour les 6 patients. Les résultats étaient statistiquement semblables.

Par cette étude, nous avons montré que l'imagerie et la modélisation peuvent jouer un rôle important pour faire de la PDT une méthode efficace faisant partie de l'arsenal thérapeutique pour le cancer de la prostate.

Actuellement, nous finalisons une méthode de recalage des images IRM de planification avec l'échographie de repérage pour guider le clinicien dans l'insertion des fibres.

# **IMAGE GUIDED PHOTODYNAMIC THERAPY FOR PROSTATE CANCER**

BETROUNI Nacim, PUECH Philippe, COLIN Pierre, MORDON Serge

*INSERM U703*

*152, rue du Docteur Yersin*

*59120 Loos*

Photodynamic therapy (PDT) is a treatment method based on a photosensitizer agent administered to the patient. It is activated by a specific wavelength light leading to chemical reactions that destroy the cancerous tissue.

Although PDT provides interesting results, there are still many unsolved problems such as the prediction of the outcome and the reproducibility of the therapeutic efficacy. In this study, we focused on dosimetry planning for PDT to achieve focal prostate cancer with WST11 TOOKAD-Soluble.

Preclinical studies and clinical phase I and phase II trials during which a dose escalation was conducted have allowed to define the optimal parameters for the accurate drug concentration, treatment time and light fluency.

Light is interstitially driven towards the target using cylindrical light diffusers. The problem was then to estimate the optimal configuration of diffusers to use: the number, their positions and their lengths. The purpose of the work was to establish a model by analyzing data collected during the previous trials to guide the positioning of the fibers to maximize the delivered light into the target while sparing healthy tissue in the prostate and organs at risk such as the bladder and the rectum.

28 patients were treated during phase II international multicenter study. For each patient, the following data were available a day 7 MR exam, the number of fibers used, their lengths and their positions. MR images were used to estimate the volume of the induced necrosis.

By assuming that each fiber acts as a light-diffusing cylinder characterized by an action radius and a length (the length of the diffusing tip of the fiber), the first step was to define the radius allowing to obtain optimal spatial correlation between the volume formed by the fibers and the volume of necrosis observed on the D7 MRI.

Once this radius established, the next step was the use of this model for treatment planning by defining the configuration of fibers that guarantees optimal light coverage of the target. Thus, a software was developed in which the clinician identifies the area to be treated using MR images then the Powell algorithm is used to optimize the light diffusers configuration.

For the evaluation of the method, treatment planning for six patients other than the first 28 were prepared using the software par an experienced radiologist. The volume of the predicted necrosis was compared to results obtained on the D7 MRI.

For 6 patients, the method was able to estimate the final necrosis with an overlap of at least 90%. This value corresponds to volume differences of 1 to 2 cm<sup>3</sup>.

Moreover, during these experiments the sensitivity of the method against structures definition was tested. Thus, a second clinician was asked to prepare a second treatment planning for each patient. The results were statistically similar.

By this study, we showed that imaging and modeling could play an important role to make PDT an effective method for focal therapy for prostate cancer.

Currently, we are finalizing an image registration method to automatically remap the fibers array from the pre-treatment MR images to the trans-rectal ultrasound images and thus to provide a guiding procedure for fibers insertions in the treatment room.



# EVALUATION NON INVASIVE DE LA FONCTION ENDOTHELIALE CORONAIRE PAR IRM CHEZ DES VOLONTAIRES SAINS HOMMES ET FEMMES

JACQUIER Alexis<sup>1,3</sup>, KOBER Frank<sup>1</sup>, FLAVIAN Antonin<sup>1,3</sup>, MORO Pierre-Julien<sup>1,2</sup>, QUILICI Jacques<sup>2</sup>, GABORIT Bénédicte<sup>1</sup>, BONNET Jean-Louis<sup>2</sup>, MOULIN Guy<sup>3</sup>, COZZONE Patrick<sup>1</sup>, BERNARD Monique<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Centre de Résonance Magnétique Biologique et Médicale (CRMBM), UMR 6612 CNRS-Université de la Méditerranée, Faculté de Médecine, 27 Bd Jean Moulin, <sup>2</sup>Service de Cardiologie et <sup>3</sup>Service de Radiologie Cardiovasculaire, Centre Hospitalo-Universitaire La Timone, 264 rue St Pierre, 13385 Marseille cedex 5

**Contexte:** Aujourd'hui, la différence homme-femme pour le risque cardio-vasculaire est établie, et les données actuelles évoquent un rôle de l'endothélium dans cette différence. Le but de ce travail est d'évaluer de manière non-invasive la fonction endothéliale coronarienne, dans une population de jeunes volontaires sains, hommes et femmes, en mesurant la perfusion myocardique (MBF) par la quantification du flux dans le sinus coronaire en ciné-IRM avec encodage de vitesse, au repos et en réponse au Cold Pressor Test (CPT).

**Méthode:** Vingt-quatre volontaires sains (12 hommes, 12 femmes) ont été examinés par IRM à 3 tesla. Le flux sanguin myocardique a été mesuré au repos et au cours du Cold Pressor Test, avec une séquence de ciné-IRM de contraste de phase en respiration libre. La fonction et la morphologie myocardiques ont été évaluées avec une séquence de ciné-IRM SSFP (steady-state free precession).

**Resultats:** Au repos, le flux sanguin myocardique moyen était de  $0,63 \pm 0,23 \text{ mL}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}$  chez les hommes, et de  $0,79 \pm 0,21 \text{ mL}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}$  chez les femmes. Pendant le CPT, le produit de la pression systolique par la fréquence cardiaque augmente significativement chez les hommes de  $49 \pm 36 \%$  ( $p < 0,0001$ ) et chez les femmes de  $52 \pm 22 \%$  ( $p < 0,0001$ ). Le MBF augmente significativement chez les hommes et chez les femmes respectivement de  $0,22 \pm 0,19 \text{ mL}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}$  ( $p = 0,0022$ ) et de  $0,73 \pm 0,43 \text{ mL}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}$  ( $p = 0,0001$ ). L'augmentation du MBF est significativement plus élevée chez les femmes que chez les hommes ( $p = 0,0012$ ).

**Conclusion:** La quantification par IRM du flux dans le sinus coronaire pour la mesure du flux sanguin myocardique révèle une réponse au CPT plus importante chez les femmes que chez les hommes. Ce résultat suggère que la vasodilatation endothélium-dépendante est différente entre les hommes et les femmes dans cette population de sujets jeunes. Ce protocole de repos/stress, non-invasif, est prometteur pour l'étude de la fonction endothéliale aussi bien en physiologie qu'en pathologie pour le diagnostic et le suivi thérapeutique.

# VELOCITY-ENCODED CINE MR IMAGING OF THE CORONARY SINUS AND COLD PRESSOR TEST TO ASSESS CORONARY ENDOTHELIAL FUNCTION : EVALUATION IN YOUNG MALE AND FEMALE VOLUNTEERS

JACQUIER Alexis<sup>1,3</sup>, KOBER Frank<sup>1</sup>, FLAVIAN Antonin<sup>1,3</sup>, MORO Pierre-Julien<sup>1,2</sup>, QUILICI Jacques<sup>2</sup>, GABORIT Bénédicte<sup>1</sup>, BONNET Jean-Louis<sup>2</sup>, MOULIN Guy<sup>3</sup>, COZZONE Patrick<sup>1</sup>, BERNARD Monique<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Centre de Résonance Magnétique Biologique et Médicale (CRMBM), UMR 6612 CNRS-Université de la Méditerranée, Faculté de Médecine, 27 Bd Jean Moulin,* <sup>2</sup>*Service de Cardiologie et* <sup>3</sup>*Service de Radiologie Cardiovasculaire, Centre Hospitalo-Universitaire La Timone, 264 rue St Pierre, 13385 Marseille cedex 5, France*

**Background:** Gender-specific differences in cardiovascular risk are well known, and current evidence supports an existing role of endothelium in these differences. The purpose of this study was to assess non invasively coronary endothelial function in male and female young volunteers by myocardial blood flow (MBF) measurement using coronary sinus (CS) flow quantification by velocity encoded cine MRI at rest and during cold pressor test (CPT).

**Methods:** Twenty-four healthy volunteers (12 men, 12 women) underwent MRI in a 3 tesla MR imager. Coronary sinus flow was measured at rest and during CPT using non breath-hold velocity encoded phase contrast cine-MRI. Myocardial function and morphology were acquired using a cine steady-state free precession sequence.

**Results:** At baseline, mean MBF was  $0.63 \pm 0.23 \text{ mL}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}$  in men and  $0.79 \pm 0.21 \text{ mL}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}$  in women. During CPT, the rate pressure product in men significantly increased by  $49 \pm 36 \%$  ( $p < 0.0001$ ) and in women by  $52 \pm 22 \%$  ( $p < 0.0001$ ). MBF increased significantly in both men and women by  $0.22 \pm 0.19 \text{ mL}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}$  ( $p = 0.0022$ ) and by  $0.73 \pm 0.43 \text{ mL}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}$  ( $p = 0.0001$ ), respectively. The increase in MBF was significantly higher in women than in men ( $p = 0.0012$ ).

**Conclusion:** MRI coronary sinus flow quantification for measuring myocardial blood flow revealed a higher response of MBF to CPT in women than in men. This finding may reflect gender differences in endothelial-dependent vasodilatation in these young subjects. This non invasive rest/stress protocol may become helpful to study endothelial function in normal physiology and in physiopathology for diagnosis and therapeutic follow up.