

# LE FUCOÏDAN RADIOMARQUÉ COMME AGENT CIBLANT LA P-SELECTINE POUR L'IMAGERIE IN VIVO DU THROMBUS RICHE EN PLAQUETTES ET L'ACTIVATION ENDOTHELIALE

**Authors:** ROUZET François<sup>a,b\*</sup>, MD; BACHELET-VIOLETTE Laure<sup>a,c\*</sup>, PhD; ALSAC Jean-Marc<sup>a</sup>, MD; SUZUKI Michimasa<sup>a</sup>, MD, PhD; MEULEMANS Alain<sup>a,b</sup>, MD, PhD; LOUEDEC Liliane<sup>a</sup>, Tech; PETIET Anne<sup>d</sup>, PhD; JANDROT-PERRUS Martine<sup>a</sup>, MD, PhD, CHAUBET Frédéric<sup>a,c</sup>, PhD, MICHEL Jean-Baptiste<sup>a</sup>, MD, PhD, LE GULUDEC Dominique<sup>a,b</sup>, MD, PhD, LETOURNEUR Didier<sup>a,c</sup>, PhD.

<sup>a</sup> *Inserm, U698, Cardiovascular Bioengineering; and University Paris Diderot-Paris 7, Paris, France*

<sup>b</sup> *Department of Nuclear Medicine, Bichat-Claude Bernard Hospital, AP-HP, Paris, France*

<sup>c</sup> *Institut Galilée, University Paris 13, Villetaneuse, F-93430, France.*

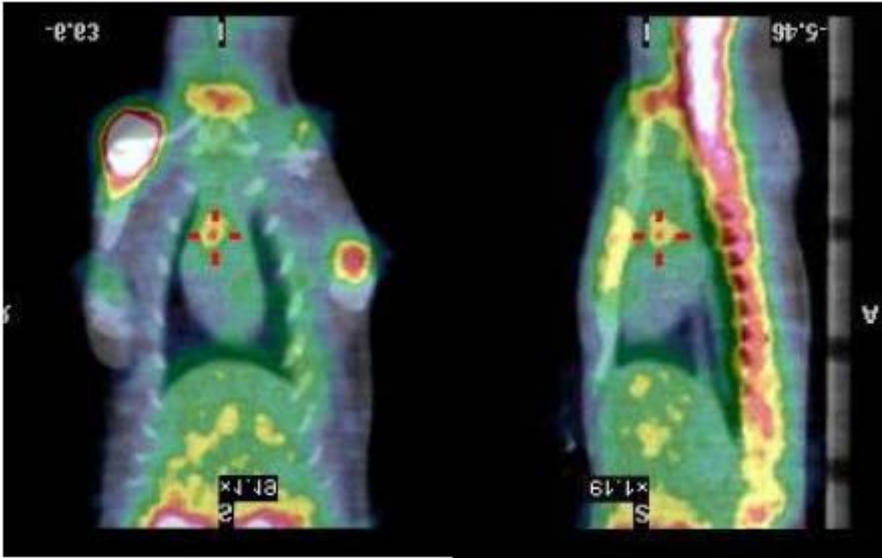
<sup>d</sup> *Institut Claude Bernard - ICB 2, UFR de Médecine, site Bichat, France.*

**Introduction :** L'expression de la P-sélectine est impliquée dans la physiopathologie des thrombi artériels physiologiquement actifs, ainsi que dans l'activation endothéliale survenant au décours d'un épisode ischémique transitoire. Le fucoïdan est un polysaccharide, ligand de la P-sélectine pour laquelle il possède une affinité nanomolaire. Dans cette étude nous proposons une nouvelle approche de l'imagerie de la P-sélectine reposant sur le fucoïdan radiomarqué.

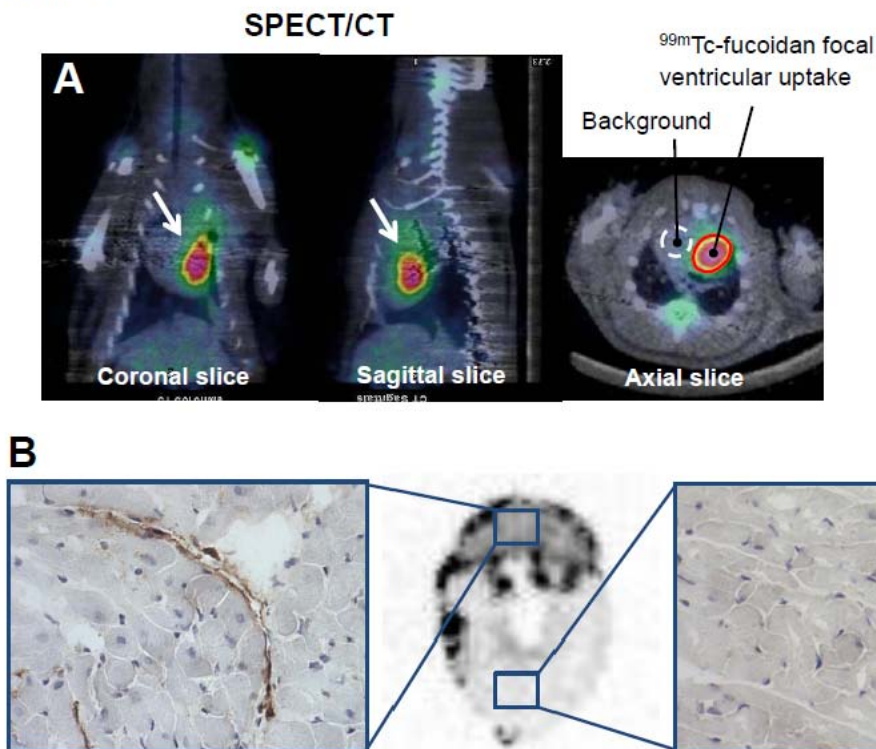
**Méthodes :** la capacité du fucoïdan radiomarqué à détecter l'expression de la P-sélectine a été évaluée dans 2 types de modèles : un modèle de thrombus artériel riche en plaquettes (végétations d'endocardite infectieuse et thrombus pariétal d'anévrisme artériel) et un modèle d'ischémie-reperfusion myocardique. Ces deux cadres expérimentaux ont été choisis en raison de leur pertinence clinique, et parce qu'ils étaient tous les deux associées à une surexpression importante de la P-sélectine plaquettaire et endothéliale, respectivement.

**Résultats :** le <sup>99m</sup>Tc-fucoïdan était capable de détecter la présence d'un thrombus artériel riche en plaquettes chez la totalité des animaux, avec un rapport signal/bruit in vivo de 5,2 dans les végétations endocarditiques (Figure 1) et de 3,6 dans le thrombus mural anévrysmal, ainsi que de détecter une activation endothéliale après 2 heures de reperfusion (Figure 2). Dans ce dernier modèle, l'importance du signal était corrélée à l'étendue du territoire myocardique dans lequel avait eu lieu l'épisode ischémique. La sensibilité et la sélectivité de la captation du <sup>99m</sup>Tc-fucoïdan ainsi que sa rétention étaient excellentes dans les deux cas de figure.

**Conclusion :** cette étude montre que le <sup>99m</sup>Tc-fucoïdan est un agent d'imagerie pertinent pour la détection in vivo d'activités biologiques associées à la surexpression de la P-sélectine, telles que le thrombus artériel et la mémoire ischémique. Compte tenu de la disponibilité large et à un faible coût du fucoïdan, de sa faible toxicité, ce nouveau traceur semble s'affranchir de certaines des limites des précédents agents d'imagerie ciblant la P-sélectine.



**Figure 1: Aortic valve endocarditis in rat. Coronal and sagittal slices on SPECT/CT coregistration. Example of a focal  $^{99m}\text{Tc}$ -fucoidan uptake (red cross) in the aortic valve area. Additional uptake is seen in spine and upper extremities of humeral bones.**



**Figure 2: Ischemia-reperfusion after transient occlusion of the left anterior descending coronary artery in rat. (A) SPECT/CT acquired after two hours of reperfusion, showing a high  $^{99m}\text{Tc}$ -fucoidan uptake in the anterior wall (arrow). (B) Autoradiography of an axial slice of the mid-ventricular portion of the heart: the uptake in the area at risk matched with P-selectin immunostaining (peroxidase/DAB, magnification x40) on vessels wall. Conversely, no significant radiotracer uptake or immunostaining was detected in the remote myocardium.**

# RADIOLABELED FUCOIDAN AS A P-SELECTIN TARGETING AGENT FOR IN VIVO IMAGING OF PLATELET-RICH THROMBUS AND ENDOTHELIAL ACTIVATION

**Authors:** ROUZET François<sup>a,b\*</sup>, MD; BACHELET-VIOLETTE Laure<sup>a,c\*</sup>, PhD; ALSAC Jean-Marc<sup>a</sup>, MD; SUZUKI Michimasa<sup>a</sup>, MD, PhD; MEULEMANS Alain<sup>a,b</sup>, MD, PhD; LOUEDEC Liliane<sup>a</sup>, Tech; PETIET Anne<sup>d</sup>, PhD; JANDROT-PERRUS Martine<sup>a</sup>, MD, PhD, CHAUBET Frédéric<sup>a,c</sup>, PhD, MICHEL Jean-Baptiste<sup>a</sup>, MD, PhD, LE GULUDEC Dominique<sup>a,b</sup>, MD, PhD, LETOURNEUR Didier<sup>a,c</sup>, PhD.

<sup>a</sup> *Inserm, U698, Cardiovascular Bioengineering; and University Paris Diderot-Paris 7, Paris, France*

<sup>b</sup> *Department of Nuclear Medicine, Bichat-Claude Bernard Hospital, AP-HP, Paris, France*

<sup>c</sup> *Institut Galilée, University Paris 13, Villetaneuse, F-93430, France.*

<sup>d</sup> *Institut Claude Bernard - ICB 2, UFR de Médecine, site Bichat, France.*

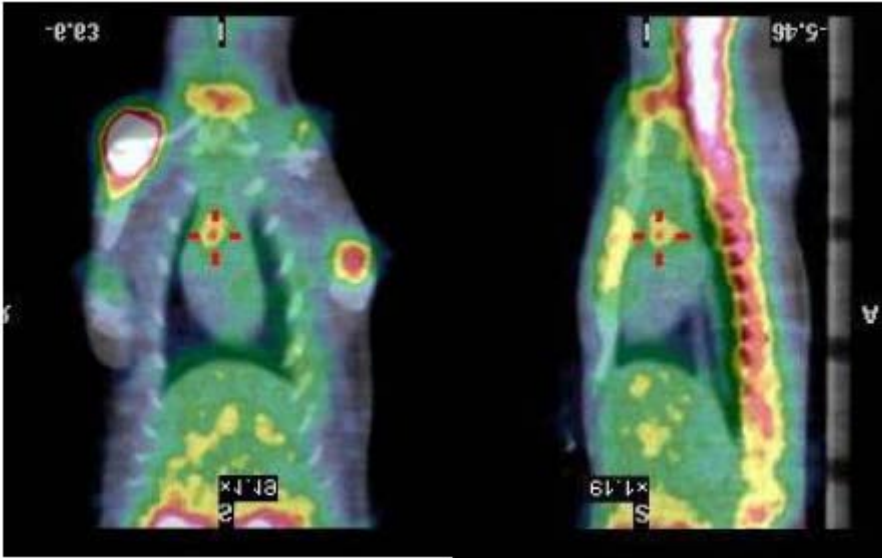
**Background.** P-selectin expression is involved in the pathophysiology of biologically active arterial thrombus, and endothelial activation after a transient ischemic event. Fucoidan is a polysaccharidic ligand of P-selectin, with a nanomolar affinity. In the present study, we propose a new approach of P-selectin molecular imaging based on radiolabeled fucoidan.

**Methods.** Two kinds of experimental models were selected to evaluate the ability of radiolabeled fucoidan to detect P-selectin expression: platelet-rich arterial thrombi (vegetations of infective endocarditis and arterial mural thrombus), and myocardial ischemia-reperfusion. These two settings were chosen because they were clinically relevant, and both were associated with an important overexpression of platelet and endothelial P-selectin, respectively.

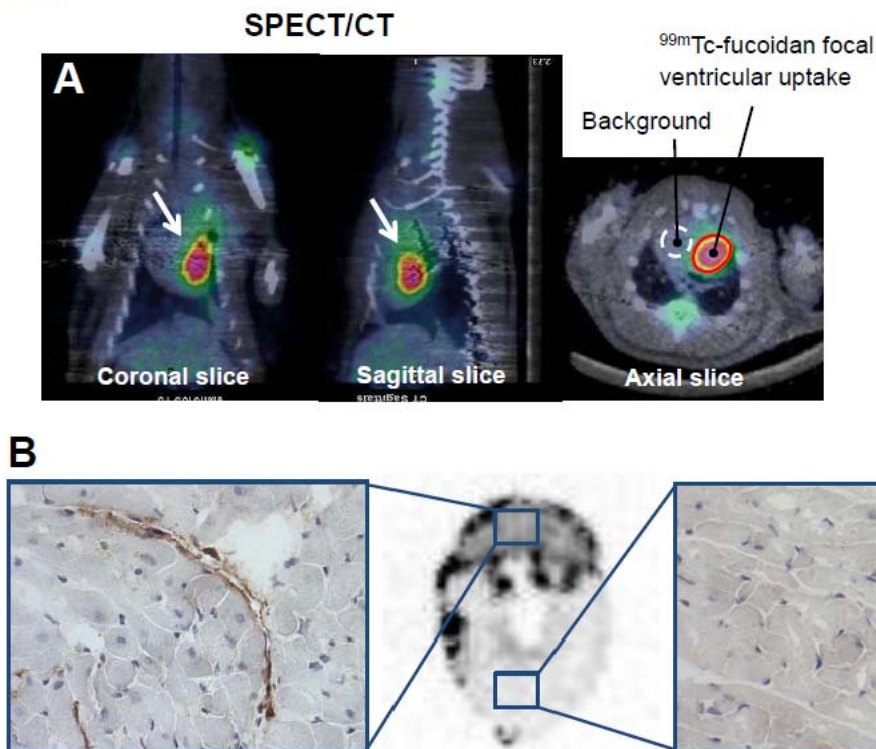
**Results.** <sup>99m</sup>Tc-fucoidan SPECT was able (a) to detect the presence of platelet-rich arterial thrombi in all animals, with a median target to background ratio of 5.2 in vegetations of endocarditis (Figure 1) and 3.6 in mural aneurysmal thrombus (b) to detect a persistent endothelial activation 2 hours after reperfusion (Figure 2). In this latter model the magnitude of the signal was correlated with the extent of myocardium that underwent transient ischemia. The sensitivity and selectivity of the uptake and retention of <sup>99m</sup>Tc-fucoidan in both settings was excellent.

**Conclusions.** This study supports <sup>99m</sup>Tc-fucoidan as a relevant imaging agent for in vivo detection of biological activities associated with P-selectin overexpression, such as arterial thrombus and ischemic memory. Given the reported wide availability at a low cost, and its low toxicity, fucoidan seems to overcome some of the limitations of previous P-selectin-targeted imaging agents.

**Key Words:** P-selectin, Fucoidan, Thrombus, Ischemia, Imaging.



**Figure 3: Aortic valve endocarditis in rat. Coronal and sagittal slices on SPECT/CT coregistration. Example of a focal  $^{99m}\text{Tc}$ -fuoidan uptake (red cross) in the aortic valve area. Additional uptake is seen in spine and upper extremities of humeral bones.**



**Figure 4: Ischemia-reperfusion after transient occlusion of the left anterior descending coronary artery in rat. (A) SPECT/CT acquired after two hours of reperfusion, showing a high  $^{99m}\text{Tc}$ -fuoidan uptake in the anterior wall (arrow). (B) Autoradiography of an axial slice of the mid-ventricular portion of the heart: the uptake in the area at risk matched with P-selectin immunostaining (peroxidase/DAB, magnification x40) on vessels wall. Conversely, no significant radiotracer uptake or immunostaining was detected in the remote myocardium.**

# APPORT DE L'IMAGERIE MULTIMODALE PAR IRM ET TEP DANS LA DETECTION PRECOCE DE REPONSE A UN TRAITEMENT CHIMIOTHERAPEUTIQUE DES GLIOBLASTOMES.

Aurélien CORROYER-DULMONT<sup>1,2,3</sup>, Edwige PETIT<sup>1,2,3</sup>, Elodie PERES<sup>1,2,3</sup>, Simon ROUSSEL<sup>1,2,3</sup>, Jean-Sébastien GUILLAMO<sup>1,2,3,4</sup>, Nathalie VAROQUEAUX<sup>5</sup>, Jérôme TOUTAIN<sup>1,2,3</sup>, Didier DIVOUX<sup>1,2,3</sup>, Louisa BARRE<sup>1,2,3,6</sup>, Myriam BERNAUDIN<sup>1,2,3</sup>, Samuel VALABLE<sup>1,2,3</sup>

<sup>1</sup>CNRS, UMR 6232 CERVOxy and LDM-TEP groups, F-14074 Caen, France

<sup>2</sup>Université de Caen Basse-Normandie, UMR 6232 CERVOxy and LDM-TEP groups, F-14074 Caen, France

<sup>3</sup>CEA, UMR 6232, F-14074 Caen, France

<sup>4</sup>CHU de Caen, Département de Neurologie, France.

<sup>5</sup>Roche, Neuilly sur Seine, France.

<sup>6</sup>CEA, DSV/I2BM/LDM-TEP group, F-14074 Caen, France

**Introduction :** La prise en charge des patients porteurs de tumeurs cérébrales a fortement évolué avec l'apparition de nouveaux traitements. En parallèle, de nombreuses méthodes d'imagerie IRM mais aussi de nouveaux radiopharmaceutiques pour le TEP ont récemment vu le jour. L'IRM permet de mesurer de nombreux paramètres vasculaires (Perfusion, Volume Sanguin, Perméabilité) mais aussi la diffusion et la TEP permet de mesurer la prolifération ou encore le microenvironnement tumoral comme l'hypoxie ; tous ces paramètres permettant d'aller au-delà du simple hypersignal T2 ou encore du simple métabolisme du glucose. Cependant, jusqu'à maintenant, rares sont les études associant tous ces paramètres IRM et TEP pour évaluer l'efficacité d'un traitement.

**Objectifs :** Le but de ce travail a donc été d'analyser à l'échelle préclinique, le biomarqueur d'imagerie IRM et/ou TEP le plus sensible pour prédire l'efficacité d'un traitement chimiothérapeutique dans le cadre de tumeurs cérébrales.

**Méthodologie :** Deux modèles précliniques de glioblastomes ont été utilisés après implantation orthotopique de cellules de lignées humaines de gliomes U87 et U251 chez des rats nude. Le Témazolomide (Temo) a été administré par gavage (40mg/kg) deux fois par semaine à partir de J10 et J17 post-implantation des cellules U87 et U251, respectivement. Les IRM ont été réalisées sur un aimant IRM 7 Tesla (Bruker) pour suivre le volume tumoral à un temps précoce après le début du traitement (T+5) et tardif (T+12). La vascularisation de la tumeur a été étudiée à T+5 pour mesurer 1/ la diffusion, 2/ la perfusion après injection d'un bolus d'agent de contraste (P904, 200µmol/kg, Recherche Guerbet), 3/ le Volume Sanguin Cérébral (VSC) et la taille des vaisseaux (ITV) et 4/ la perméabilité des vaisseaux après

injection de Dotarem (200 $\mu$ mol/kg, Guerbet SA). L'hypoxie, le métabolisme glucidique et la prolifération cellulaire ont été étudiés par microTEP (Siemens) en injectant différents radiotraceurs : [ $^{18}$ F]-FMISO, [ $^{18}$ F]-FDG et [ $^{18}$ F]-FLT à T+4, T+5 et T+6 respectivement. Les données sont exploitées par ImageJ et PMOD.

**Résultats :** A T+5, il n'y a pas d'effet du Témzolomide sur le volume tumoral pour le modèle U87 et un léger effet est observé pour le modèle U251 ( $p < 0.05$ ). En revanche, à T+12, le traitement chimiothérapeutique réduit le volume tumoral de 86 % ( $p < 0.001$ ) et 93 % ( $p < 0.01$ ) pour les modèles U87 et U251 respectivement.

Si nous n'observons pas de différence pour le VSC pour le modèle U251, le Témzolomide réduit significativement le VSC dans la tumeur U87 (Contrôle =  $10.9 \pm 3.1$  %, Temo =  $7.5 \pm 0.8$ %,  $p < 0.05$ ). Aucun effet significatif n'est observé sur la perfusion, la diffusion ou encore l'ITV.

Concernant les traceurs TEP nous avons montré de façon attendue que le [ $^{18}$ F]-FDG présente une captation moins importante pour les animaux traités au Témzolomide et ce pour les 2 modèles. Cependant, de façon plus intéressante, la captation du traceur [ $^{18}$ F]-FLT est fortement réduite dans les groupes Temo par rapport au contrôle (rSUV Contrôle =  $10.8 \pm 3.5$ , Temo =  $5.2 \pm 0.8$ , pour U87 et Contrôle =  $6.7 \pm 1.1$ , Temo =  $3.0 \pm 0.8$  pour U251 ( $p < 0.001$  et  $p < 0.05$ )). Enfin pour le marqueur [ $^{18}$ F]-FMISO le modèle U87 ne présente pas de captation mais le Temo réduit sa captation pour le modèle U251.

**Conclusion :** Au cours de cette étude, nous montrons donc que les deux traceurs [ $^{18}$ F]-FDG et [ $^{18}$ F]-FLT, ainsi que la mesure du VSC permettent de fournir des informations très intéressantes très précocement dès le début des traitements. Une analyse statistique multivariée nous a permis de montrer que ces biomarqueurs TEP sont prédictifs d'une réponse à un traitement anti-tumoral. En conclusion, nous montrons dans cette étude, l'intérêt d'utiliser des approches multimodales couplant l'IRM et la TEP pour l'évaluation précoce de l'efficacité d'un traitement anti-tumoral. Les auteurs remercient l'INCa, le CNRS, Roche, Guerbet, le Conseil Régional de Basse-Normandie, le Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche.

# CONTRIBUTION OF MULTIMODAL IMAGING WITH MRI AND PET IN THE EARLY DETECTION OF RESPONSE TO CHEMOTHERAPEUTIC TREATMENT OF GLIOBLASTOMA.

Aurélien CORROYER-DULMONT<sup>1,2,3</sup>, Edwige PETIT<sup>1,2,3</sup>, Elodie PERES<sup>1,2,3</sup>, Simon ROUSSEL<sup>1,2,3</sup>, Jean-Sébastien GUILLAMO<sup>1,2,3,4</sup>, Nathalie VAROQUEAUX<sup>5</sup>, Jérôme TOUTAIN<sup>1,2,3</sup>, Didier DIVOUX<sup>1,2,3</sup>, Louisa BARRE<sup>1,2,3,6</sup>, Myriam BERNAUDIN<sup>1,2,3</sup>, Samuel VALABLE<sup>1,2,3</sup>

<sup>1</sup>CNRS, UMR 6232 CERVOxy and LDM-TEP groups, F-14074 Caen, France

<sup>2</sup>Université de Caen Basse-Normandie, UMR 6232 CERVOxy and LDM-TEP groups, F-14074 Caen, France

<sup>3</sup>CEA, UMR 6232, F-14074 Caen, France

<sup>4</sup>CHU de Caen, Département de Neurologie, France.

<sup>5</sup>Roche, Neuilly sur Seine, France.

<sup>6</sup>CEA, DSV/I2BM/LDM-TEP group, F-14074 Caen, France

**Introduction:** The management of patients with brain tumors has evolved considerably with the advent of new treatments. In parallel, many MRI methods as well as new PET radiotracers have recently emerged. MRI can be used to assess many vascular parameters (perfusion, cerebral blood volume, permeability) but also the diffusion and PET can measure the proliferation but also the tumor microenvironment such as hypoxia, all these parameters to go beyond the simple anatomy and the simple glucose metabolism. However, until now, few studies have combined all these MRI and PET parameters to assess treatment efficiency

**Objectives:** The aim of this study was to analyze at a preclinical level, the most sensitive and accurate preclinical imaging biomarkers (MRI / PET) able to predict the efficiency of chemotherapy in brain tumors.

**Methods:** Two preclinical glioblastoma models were used after orthotopic implantation of human U87 and U251 glioma cell lines in nude rats. Temozolomide (Temo) was administered per os (40mg/kg) twice a week from J10 and J17 post-implantation U87 and U251 cells, respectively. MRI were performed on a 7 teslas magnet (Bruker) to analyze the tumor volume at an early time after initiation of treatment (T+5) and late (T+12). Vascularization of the tumor was studied at T+5 to measure 1 / diffusion, 2 / perfusion after a bolus injection of contrast agent (P904, 200µmol/kg, Guerbet), 3 / cerebral blood volume (CBV) and vessels size index (VSI) and 4 / vascular permeability after injection of Dotarem (200µmol/kg, Guerbet). Hypoxia, glucose metabolism and cell proliferation were studied on a microPET (Siemens) after injection of [<sup>18</sup>F]-FMISO, [<sup>18</sup>F]-FDG and [<sup>18</sup>F]-FLT in T+4, T+5 and T+6, respectively. The data were performed using ImageJ and PMOD.

**Results:** At T+5, there is no effect of temozolomide on tumor volume for the U87 model and a slight effect is observed for the U251 model ( $p < 0.05$ ). However, at T+12, the chemotherapy reduced the tumor volume by 86% ( $p < 0.001$ ) and 93% ( $p < 0.01$ ) for U87 and U251 models respectively. Even if we did not observe any difference for the CBV for the U251 model, the Temozolomide induced significantly reduction on CBV for the U87 model (Control =  $10.9 \pm 3.1\%$ , Temo =  $7.5 \pm 0.8\%$ ,  $p < 0.05$ ). No significant effect was observed for perfusion, diffusion or ITV. Concerning PET tracers, we have shown that [ $^{18}\text{F}$ ]-FDG uptake is reduced for animals Temozolomide treated for both models. However, more interestingly, uptake of [ $^{18}\text{F}$ ]-FLT is greatly reduced in the Temo group compared to control (rSUV control =  $10.8 \pm 3.5$ , Temo =  $5.2 \pm 0.8$  for U87 and control =  $6.7 \pm 1.1$ , Temo =  $3.0 \pm 0.8$  for U251 ( $p < 0.001$  et  $p < 0.05$ )). Finally no uptake was observed for [ $^{18}\text{F}$ ]-FMISO for the U87 model but the Temo reduced uptake in the U251 model.

**Conclusion:** In this study, we have shown that the uptake of two tracers [ $^{18}\text{F}$ ]-FDG and [ $^{18}\text{F}$ ]-FLT, and the assesment of CBV can provide very usefull information very early after the ignition of the treatment. A multivariate statistical analysis allowed us to show that these biomarkers are predictive of the response to anti-tumor therapy. In conclusion, we show in this study, the added value of using multimodal approaches combining MRI and PET for the early assesment of the efficiency of anti-tumor treatment.

The authors wish to thank the INCa, the CNRS, Roche, Recherche Guerbet, the Conseil Régional de Basse-Normandie, the French Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche.



## **Spectroscopie par ondes de cisaillement dans le foie : première validation technique en clinique et discussion**

Thomas Deffieux<sup>1</sup>, Jean-Luc Gennisson<sup>1</sup>, Mathieu Couade<sup>1-2</sup>, Maya Juenet<sup>2</sup>, Jeremy Bercoff<sup>2</sup>, Laurence Bousquet<sup>3</sup>, Simona Coscone<sup>3</sup>, Vincent Mallet<sup>3</sup>, Stanislas Pol<sup>3</sup>, Mickael Tanter<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Institut Langevin – Ondes et Images, ESPCI ParisTech, CNRS UMR 7587, INSERM U979, Paris, France*

<sup>2</sup>*Supersonic Imagine, Aix en Provence, France*

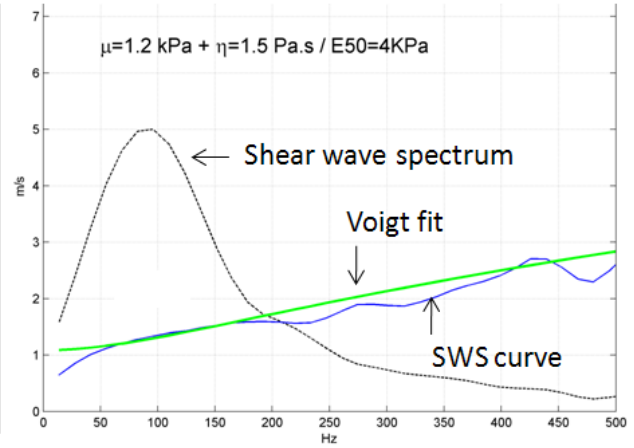
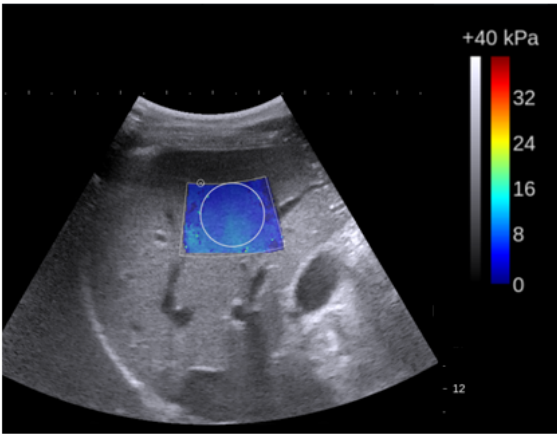
<sup>3</sup>*Service Hépatologie, Hôpital Cochin, Paris, France.*

L'élastographie quantitative est un outil prometteur pour le diagnostic et la quantification des maladies chroniques du foie. En estimant le module de cisaillement du foie, c'est-à-dire sa dureté, par suivi des ondes de cisaillement, il est possible d'estimer le stade de fibrose et surtout, dans la plupart des cas d'éviter une biopsie hépatique. Nous avons récemment montré que les ondes de cisaillement pouvaient également être utilisées pour estimer les propriétés rhéologiques complètes du tissu *in vivo*, y compris sa viscosité. Dans ce travail, nous présentons et discutons la faisabilité clinique de la méthode de spectroscopie par ondes de cisaillement (SWS) sur des patients atteints de l'hépatite C afin de mesurer ces autres paramètres mécaniques, dans l'espoir qu'ils puissent eux aussi être porteurs d'information diagnostique.

La méthode de spectroscopie par ondes de cisaillement (SWS) est ainsi testée sur un groupe de patients ( $n > 30$ ) ayant une hépatite C au stade de fibrose faible (F0-F1), le diagnostic étant validé par une biopsie hépatique. En utilisant un échographe ultrarapide (Aixplorer, SuperSonic Imagine, France) et une sonde ultrasonore courbe à 3 MHz (SC 6-1), une onde plane de cisaillement est générée à l'intérieur du foie par force de radiation acoustique. Elle est ensuite filmée en temps réel au cours de sa propagation par l'échographe ultrarapide. En estimant la vitesse de phase pour chaque fréquence de l'onde de cisaillement, la courbe de dispersion de l'onde est calculée et le module de cisaillement et la viscosité sont estimés en supposant un modèle de Voigt. D'autres approches sont également étudiées. Une méthode pour supprimer les artefacts de mouvement sur les données acquises est présentée.

Les résultats montrent une bonne reproductibilité et la faisabilité de la méthode de spectroscopie par onde de cisaillement en conditions cliniques ( $\mu_0 = 1,6 \pm 0,65$  kPa,  $\eta = 1,4 \pm 0,55$  Pa.s). Les artefacts de mouvement dus à la présence de veines ou aux mouvements respiratoires (jusqu'à 10 microns) sont également bien supprimés par les algorithmes. Comme attendu, l'algorithme faisant l'hypothèse d'un modèle de Voigt améliore significativement la stabilité des mesures viscoélastiques dans les conditions cliniques.

L'imagerie par ondes de cisaillements permet de positionner en temps réel la sonde échographique à la meilleure fenêtre intercostale et de fournir des estimations fiables sur l'élasticité des différentes zones du foie. La spectroscopie des ondes de cisaillement pourrait ensuite être utilisée pour estimer la viscosité du foie, ce qui pourrait être utile pour donner une équivalence plus complète au système de score Metavir (fibrose et activité) actuellement seulement accessible par la biopsie hépatique.



a) A patient liver echography and quantitative stiffness map. b) For each patient, Shear Wave Spectroscopy enables to estimate locally the dispersion curve of the shear wave from 50 to 500 Hz. The shear modulus and viscosity can then be estimated reliably under a Voigt model assumption.

## Shear Wave Spectroscopy in patients liver: initial clinical results and implementation discussion

Thomas Deffieux<sup>1</sup>, Jean-Luc Gennisson<sup>1</sup>, Mathieu Couade<sup>1-2</sup>, Maya Juenet<sup>2</sup>, Jeremy Bercoff<sup>2</sup>, Laurence Bousquet<sup>3</sup>, Simona Coscone<sup>3</sup>, Vincent Mallet<sup>3</sup>, Stanislas Pol<sup>3</sup>, Mickael Tanter<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Institut Langevin – Ondes et Images, ESPCI ParisTech, CNRS UMR 7587, INSERM U979, Paris, France*

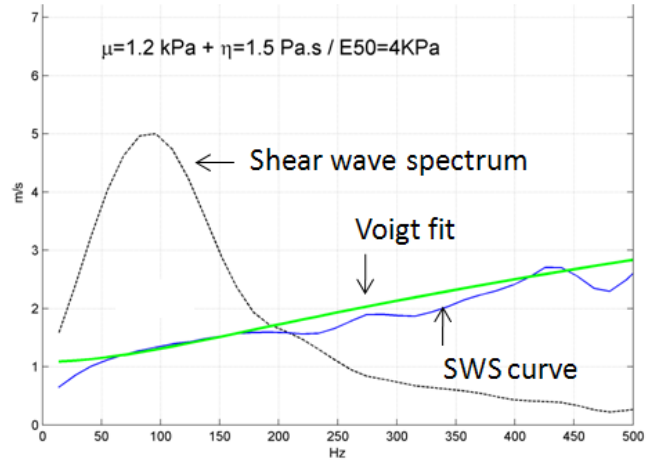
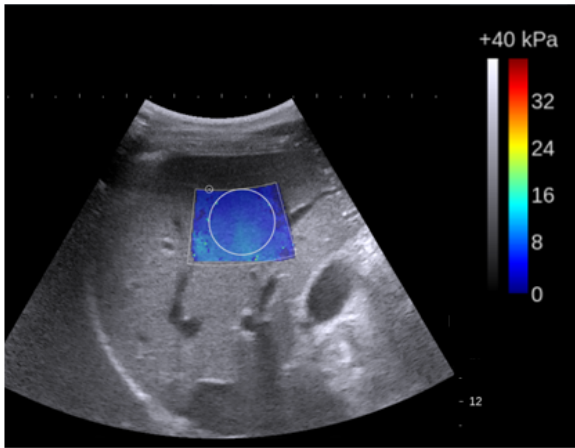
<sup>2</sup>*Supersonic Imagine, Aix en Provence, France*

<sup>3</sup>*Service Hépatologie, Hôpital Cochin, Paris, France.*

Quantitative elastography is a promising tool for chronic liver diseases diagnosis and staging. By estimating the shear modulus of the liver, ie its stiffness, using shear wave elastography, it is possible to estimate the fibrosis stage and in most cases avoid a liver biopsy. We have recently shown that shear waves could also be used to estimate the full rheological properties of tissue *in vivo* including viscosity. In this work, we present and discuss the clinical feasibility of the shear wave spectroscopy method on patients with hepatitis C.

The shear wave spectroscopy method is applied to a cohort of patients (n>30) diagnosed with hepatitis C with low fibrosis stage (F0-F1) assessed by liver biopsy. Using an ultrafast scanner (*Aixplorer, Supersonic Imagine, France*) and a 3 MHz curved array (SC 6-1), a quasi plane shear wave is generated inside the liver using acoustic radiation force and is acquired in real time during its propagation. By estimating the phase velocity for each frequency, the dispersion curve is computed and shear modulus and viscosity are estimated assuming the Voigt model. Other approaches of dispersion curve fitting and inversion based on Voigt *a priori* are also investigated. A method to remove motion artifacts on the acquired data is also presented.

Results show a good reproducibility and the feasibility of the Shear Wave Spectroscopy method in clinical condition ( $\mu_0 = 1.6 \text{ kPa} \pm 0.65$ ,  $\eta = 1.4 \text{ Pa.s} \pm 0.55$ ). Motion artifacts on the acquisition data due to the presence of veins or respiration movements (up to 10  $\mu\text{m}$ ) are successfully removed by the algorithms. As expected, the algorithm taking advantage of the Voigt model *a priori* performs the best and significantly improves the stability of the viscoelastic measurements in clinical conditions.



a) A patient liver echography and quantitative stiffness map. b) For each patient, Shear Wave Spectroscopy enables to estimate locally the dispersion curve of the shear wave from 50 to 500 Hz. The shear modulus and viscosity can then be estimated reliably under a Voigt model assumption.

The quantitative and real time imaging approach provided by the supersonic imaging technique allows to visually inspect and position the probe at the best intercostal locations and to provide reliable stiffness estimations over large liver areas. The shear wave spectroscopy can then be used to estimate the liver viscosity, which could be helpful to provide a more complete equivalence to the Metavir scoring system (fibrosis and activity levels) currently only fully assessed by liver biopsies.

## INTERET D'UNE ANALYSE BI-EXPONENTIELLE DE L'IRM DE DIFFUSION POUR LE DIAGNOSTIC CLINIQUE DES TUMEURS HEPATIQUES

DOBLAS Sabrina, WAGNER Mathilde, DAIRE Jean-Luc, HADDAD Nathalie, LEITAO Helena, SINKUS Ralph, VILGRAIN Valérie et VAN BEERS Bernard  
*INSERM U773 – CRB3, Université Paris Diderot, Sorbonne Paris Cité, Paris, France*

L'IRM de diffusion est de plus en plus souvent utilisée pour distinguer, en clinique, les tumeurs hépatiques bénignes des tumeurs hépatiques malignes. L'approche classique utilise un modèle de décroissance mono-exponentielle du signal pour déterminer un coefficient de diffusion apparente global, ou ADC. Cette approche est néanmoins inefficace en ce qui concerne la caractérisation des tumeurs hépatiques, et une approche bi-exponentielle permettant la mesure de paramètres de diffusion pure et de perfusion dans la microcirculation peut être envisagée. Notre objectif était de comparer une approche mono-exponentielle (à 3 ou à 11 valeurs de b) avec une approche bi-exponentielle, dans le cadre d'une acquisition d'IRM de diffusion à multiple valeurs de b et évaluer leur efficacité respective pour la distinction bénin-malin et la caractérisation des tumeurs hépatiques solides dans une cohorte de 80 patients.

Un système d'IRM clinique 1.5T a été utilisé pour les acquisitions IRM. La cohorte finale étudiée incluait 40 tumeurs bénignes (20 lésions d'hyperplasie nodulaire focale, 11 hémangiomes et 9 adénomes) et 49 tumeurs malignes (30 carcinomes hépatocellulaires, 13 métastases et 6 cholangiocarcinomes). A la suite d'acquisitions morphologiques de routine, des images d'IRM de diffusion ont été acquises avec 11 valeurs de b (0, 10, 20, 30, 40, 50, 75, 100, 150, 300 et 500 s/mm<sup>2</sup>). Des régions d'intérêt (ROI) globales ont été définies pour chaque tumeur, et des modèles de décroissance du signal ont été appliqués pour obtenir les paramètres de diffusion pour chaque ROI. Un modèle mono-exponentiel a servi pour mesurer un ADC conventionnel calculé avec 3 valeurs de b (0, 50 et 500 s/mm<sup>2</sup>; « ADC3b ») ou 11 valeurs de b (« ADC11b »), alors qu'un modèle bi-exponentiel a été utilisé pour déterminer la fraction de perfusion f, le coefficient de diffusion pure D et le coefficient de diffusion relatif à la perfusion D\*.

Les tumeurs malignes présentaient un ADC conventionnel ainsi qu'un coefficient de diffusion pure D (ADC3b =  $2.3 \pm 1.41 \times 10^{-3}$  mm<sup>2</sup>/s, ADC11b =  $1.5 \pm 0.4 \times 10^{-3}$  mm<sup>2</sup>/s, D =  $1.1 \pm 0.3 \times 10^{-3}$  mm<sup>2</sup>/s) plus bas que les tumeurs bénignes (\* ADC3b =  $3.1 \pm 2 \times 10^{-3}$  mm<sup>2</sup>/s, \*\*\* ADC11b =  $2 \pm 0.7 \times 10^{-3}$  mm<sup>2</sup>/s, \*\* D =  $1.4 \pm 0.4 \times 10^{-3}$  mm<sup>2</sup>/s), alors que f et D\* étaient similaires. ADC11b et D représentaient des tests de malignité plus sensibles qu'ADC3b, basé sur la comparaison de leurs courbes ROC. Concernant la caractérisation des tumeurs hépatiques, f et D\* n'apportaient pas assez d'information, alors que ADC11b et D pouvaient différencier les HNF des CHC et des métastases (e.g. ADC11b =  $2.1 \pm 0.8 \times 10^{-3}$  mm<sup>2</sup>/s (HNF),  $1.6 \pm 0.4 \times 10^{-3}$  mm<sup>2</sup>/s (CHC),  $1.5 \pm 0.4 \times 10^{-3}$  mm<sup>2</sup>/s (métastases)). Ce n'était par contre pas suffisant d'utiliser 3 valeurs de b pour distinguer HNF, adénomes, métastases et CHC.

En conclusion, l'approche bi-exponentielle a un apport limité quant à la distinction bénin-malin et la caractérisation tumorale. D était un paramètre efficace pour tester la malignité d'une tumeur hépatique ou pour différencier les HNF des CHC. De plus, une approche mono-exponentielle doit inclure un assez grand nombre de valeurs de b pour être efficace.

## ADDED VALUE OF A BI-EXPONENTIAL APPROACH FOR THE DIAGNOSIS OF HUMAN HEPATIC TUMORS BY DIFFUSION-WEIGHTED MR IMAGING

DOBLAS Sabrina, WAGNER Mathilde, DAIRE Jean-Luc, HADDAD Nathalie, LEITAO Helena, SINKUS Ralph, VILGRAIN Valérie et VAN BEERS Bernard  
*INSERM U773 – CRB3, Université Paris Diderot, Sorbonne Paris Cité, Paris, France*

Diffusion-weighted MR imaging (DWI) has shown a great potential to help distinguish benign tumors from malignant tumors. The classical approach involving a simple mono-exponential fit to calculate a global apparent diffusion coefficient (ADC) fails however to identify tumor types. A bi-exponential approach may fill this gap by providing information on two separate biological processes: the microcirculation perfusion and the molecular diffusion. In this study, a mono-exponential (with 3 or 11 b values) and a bi-exponential approach were compared for the malignancy test and the characterization of human hepatic tumors on a cohort of 82 patients.

MRI sessions were conducted on a 1.5T whole-body clinical MRI system. The study included 40 benign tumors (20 focal nodular hyperplasia (FNH), 11 hemangiomas and 9 adenomas) and 49 malignant tumors (30 hepatocellular carcinomas (HCC), 13 metastases and 6 cholangiocarcinomas). In addition to routine morphological acquisitions, consenting patients were subjected to a free-breathing, spin-echo-EPI DWI acquisition providing DW images for 11 b values (0, 10, 20, 30, 40, 50, 75, 100, 150, 300 and 500 s/mm<sup>2</sup>). Global regions of interest encompassing the whole lesion were determined, and their signal intensities were fitted to a mono-exponential equation to extract a conventional ADC (“ADC3b”, obtained with b=0, 50 and 500 s/mm<sup>2</sup>, and “ADC11b”, obtained with all 11 b values previously mentioned). A bi-exponential model was applied to determine the perfusion fraction f, the perfusion-related diffusion coefficient D\* and the pure diffusion coefficient D.

ADC3b, ADC11b and D were lower in malignant lesions ( $2.3 \pm 1.41 \times 10^{-3}$  mm<sup>2</sup>/s,  $1.5 \pm 0.4 \times 10^{-3}$  mm<sup>2</sup>/s and  $1.1 \pm 0.3 \times 10^{-3}$  mm<sup>2</sup>/s, respectively) than in benign tumors ( $3.1 \pm 2 \times 10^{-3}$  mm<sup>2</sup>/s,  $2 \pm 0.7 \times 10^{-3}$  mm<sup>2</sup>/s and  $1.4 \pm 0.4 \times 10^{-3}$  mm<sup>2</sup>/s, respectively), whereas f and D\* were similar in both subgroups. This malignancy distinction was more sensitive when ADC11b or D were assessed, based on ROC curve comparisons. When comparing tumor types, f and D\* were found to not differentiate tumors. However, ADC11b and D were able to differentiate FNH from HCC and metastases (for example, ADC11b =  $2.1 \pm 0.8 \times 10^{-3}$  mm<sup>2</sup>/s (FNH),  $1.6 \pm 0.4 \times 10^{-3}$  mm<sup>2</sup>/s (HCC),  $1.5 \pm 0.4 \times 10^{-3}$  mm<sup>2</sup>/s (metastases)). Three b values were not sufficient to distinguish the tumor types mainly problematic in a clinical context, i.e. FNH, adenomas, metastases and HCC.

In conclusion, despite a limited added value with respect to the distinction between benign and malignant lesions, the bi-exponential approach, through the determination of the coefficient of pure diffusion D, helped to differentiate FNH from HCC. If using a mono-exponential approach, a sufficient number of b values must be used, as only 3 b values can be insufficient in differentiating tumor types.

# PRECOCITE ET IMPORTANCE DES VARIATIONS SPECTRALES LORS D'UN SUIVI LONGITUDINAL A LONG TERME IRM ET SRM 1H SIMPLE VOLUME DE 25 PATIENTS ATTEINTS DE GLIOMATOSE OU D'OLIGODENDROGLIOME TRAITES

CONSTANS Jean-Marc<sup>1,2</sup>, COLLET Solène<sup>1,2</sup>, HOVHANNISYAN Narinée<sup>1</sup>, GUILLAMO Jean-Sébastien<sup>2,3</sup>, HOSSU Gabriela<sup>4</sup>, DOU Weibei<sup>5</sup>, DERLON Jean-Michel<sup>3</sup>, LECHAPT-ZALCMAN Emanuele<sup>6</sup>, VALABLE Samuel<sup>2</sup>, COURTHEOUX Patrick<sup>1</sup>, CHAPON Françoise<sup>6</sup> et KAUFFMANN François<sup>7</sup>

<sup>1</sup> Unité IRM, CHU de Caen, <sup>2</sup> Université de Caen (Basse-Normandie), CNRS, CEA UMR 6232 CERVOxy Group, Cycéron, Caen, <sup>3</sup> Service Neurochirurgie et Neurologie, CHU de Caen, <sup>4</sup> CICIT INSERM, Université de Nancy, <sup>5</sup> Université de Tsinghua, Beijing, Chine, <sup>6</sup> Service de Neuropathologie, CHU de Caen, <sup>7</sup> LMNO, UMR 6139 CNRS, Université de Caen.

## Introduction et Objectifs:

Mieux comprendre le métabolisme des tumeurs cérébrales gliales dites de bas grades et ses variations avec un traitement chimiothérapique. Déterminer les variations en IRM et SRM cérébrale d'aire, d'amplitude, de ratios de métabolites ou de profil spectral lors du suivi longitudinal de 6 ans de 25 patients atteints de tumeur oligodendrogliale (12) ou de gliomatose (13) [1,2], considérée de mauvais pronostic, traités par Témodal pour détecter d'éventuelles différences d'infiltration et/ou de prolifération.

## Matériels et Méthodes :

Sur 25 patients, 13 ont subi de la radiothérapie et 5 de la thérapie antiangiogénique. IRM: Sagittal T1, axial rhô, T2, FLAIR, diffusion, 3D T1 puis 3 plans après gadolinium. SRM: 1H, simple volume (6 à 12 cm<sup>3</sup>), PRESS à multiple TE sur un appareil 1.5 T (GEMS). Traitements des données: logiciel SA/GE et traitement développé à l'IRM calculant amplitudes, aires, ratios, et concentrations relatives. Analyse statistique: analyse des données spectroscopiques longitudinales (tous les 2-3 mois sur 72 mois).

**Résultats** : Des études quantitatives en IRM par segmentation multi-spectrale avec recalage, fusion et classifications tissulaires sont en cours tout comme l'analyse des différences spectrales entre les 2 groupes. Sans chimiothérapie les profils spectroscopiques s'aggravent avec augmentation variable des ratios N-Acétyle-Aspartate/Choline (NAA/Cho), Myoinositol/Créatine (Myo/Cr), diminution du NAA/Cr et parfois augmentation de lactate. L'ensemble de la zone tumorale, en IRM évolue peu sous traitement entre deux examens tandis que les profils spectroscopiques et ratios varient plus et ont parfois tendance à revenir vers des valeurs plus normales (comme pour certaines gliomatoses). Dans d'autres cas, ils sont stables ou s'aggravent. La créatine et l'eau varient peu ce qui peut justifier leur utilisation tout comme certains ratios pour détecter rapidement des variations spectroscopiques comme l'augmentation du ratio Cho/Cr ou de la concentration de Cho chez 6 patients qui se sont aggravés. La SRM peut donc être plus sensible que l'IRM et peut parfois être prédictive d'une aggravation.

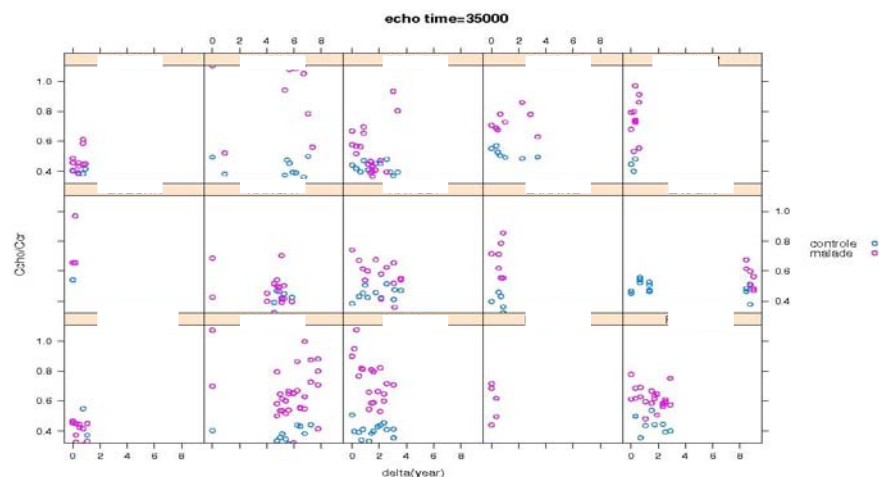
## Discussion - Conclusion :

La SRM permet le suivi non-invasif de tumeurs cérébrales traitées. Elle possède une grande variabilité mais la répétition des mesures spectroscopiques lors d'un suivi longitudinal, peut permettre de la diminuer et d'améliorer l'évaluation pronostique. Avec des mesures TEP méthionine et FLT, de la segmentation et des mesures de perfusion cette approche multimodale peut permettre de mieux évaluer les réponses aux thérapeutiques chimiothérapiques, radiothérapiques et dans le futur antiangiogéniques.

## References :

- [1] Galanaud D, Nicoli F, Confort-Gouny S, Le Fur Y, Ranjeva JP, Viola A, Girard N, and Cozzone PJ. Indications for cerebral MR proton spectroscopy in 2007. *Rev Neurol*, 163(3):287–303, 2007.
- [2] Hattingen E, Raab P, Franz K, Zanella FE, Lanfermann H, and Pilatus U. Myo-inositol: a marker of reactive astrogliosis in glial tumors? *NMR Biomed.*, 11, 2007.
- [3] Dou W, Ruan S, Chen Y, Bloyet D, Constans JM (2007) A framework of Fuzzy Information Fusion for the segmentation of brain tumor tissues on MR images. *Image Vision Comput.* 25:164-171.
- [4] Dou W, Ren Y, Wu Q, Ruan S, Chen Y, Bloyet D, Constans JM (2007) Fuzzy Kappa Used for the Agreement measure of Fuzzy Classifications. *Neurocomputing* 70:726-734.

Fig 1:  
48 months  
Cho/Cr  
Follow-up





# IMPORTANCE OF EARLY SPECTRAL VARIATIONS DURING 6 YEAR LONGITUDINAL MRI AND 1H MRS IN 25 PATIENTS WITH OLIGODENDROGLIAL TUMORS OR GLIOMATOSIS TREATED WITH TEMODAL

CONSTANS Jean-Marc<sup>1,2</sup>, COLLET Solène<sup>1,2</sup>, HOVHANNISYAN Narinée<sup>1</sup>, GUILLAMO Jean-Sébastien<sup>2,3</sup>, HOSSU Gabriela<sup>4</sup>, DOU Weibei<sup>5</sup>, DERLON Jean-Michel<sup>3</sup>, LECHAPT-ZALCMAN Emanuele<sup>6</sup>, VALABLE Samuel<sup>2</sup>, COURTHEOUX Patrick<sup>1</sup>, CHAPON Françoise<sup>6</sup> et KAUFFMANN François<sup>7</sup>

<sup>1</sup> Unité IRM, CHU de Caen, <sup>2</sup> Université de Caen (Basse-Normandie), CNRS, CEA UMR 6232 CERVOxy Group, Cycéron, Caen, <sup>3</sup> Service Neurochirurgie et Neurologie, CHU de Caen, <sup>4</sup> CICIT INSERM, Université de Nancy, <sup>5</sup> Université de Tsinghua, Beijing, Chine, <sup>6</sup> Service de Neuropathologie, CHU de Caen, <sup>7</sup> LMNO, UMR 6139 CNRS, Université de Caen.

## Purpose:

to better understand glial tumor metabolism and post chemotherapy, radiotherapy and antiangiogenic variation. To determine cerebral variation in MRS area, amplitude, and ratios of metabolites and spectral profiles during a 6 year longitudinal follow-up in 25 patients with oligodendroglial tumors (12) or gliomatosis (13) without hyperperfusion initially and treated with Temodal and to detect differences in infiltration, proliferation or lipids. Gliomatosis Cerebri (GC) is a challenging tumor, considered to have a poor prognosis and poor response to treatments.

## Methods :

MRI: Sagittal T1, axial proton density, T2, FLAIR, diffusion, 3D T1 3 planes after gadolinium. MRS: 1H, single voxel (6 to 12 cm<sup>3</sup>), PRESS with multiple TEs on a 1.5 T (GEMS) . Over 25 patients, 13 underwent radiotherapy and 5 antiangiogenic therapy. Data processing: SA/GE software and home-written automatic processing (SCI-MRS-LAB in Scilab cINRIA-ENPC open source code) yielding amplitudes, areas, ratios, and relative concentrations. Statistical analysis of longitudinal spectroscopic data (every 3 months over 72 months).

## Results :

Quantitative studies in MRI with multi-spectral segmentation and tissular classification are ongoing. Without chemotherapy spectroscopic profiles worsen with increases in Choline/N-Acetyl-Aspartate (Cho/NAA), Cho/Cr and Myoinositol/Creatine (ml/Cr) ratios, decreases in NAA/Cr and sometimes with increases in lactate.

After chemotherapy treated tumoral volumes, in MRI, change little between two exams while spectroscopic profiles and ratios do change. MRS could, in fact, be more sensitive than MRI and could, in some cases, be predictive of worsening. The water and creatine are quite stable, which could justify using them for some other ratios to quickly detect spectroscopic variations. Cho concentration increased in 6 patients with aggravation later in 4 gliomatosis and 2 oligodendrogliomas. There is also decrease Cho concentration in 4 patients before clinical improvement and MRI volumetric response.

Spectroscopic and metabolic changes often come well before clinical deterioration and sometimes before improvement. Therefore, MRS could be more sensitive and could detect changes earlier than MRI and sometimes is predictive. Later in the

evolution for 5 patients with hyperperfusion this one disappears but proliferation stayed very important.

### **Discussion and Conclusion :**

Temozolomide was well tolerated. MRI remained stable for all patients, except for two late partial responses. MRS showed variable ratio of ml/Cr, Cho/Cr and NAA/Cr at baseline. We observed a decrease in Cho/Cr ratio and an increase in NAA/Cr ratio for patients whose clinical condition improved and inverse results for those whose conditions deteriorated.

These spectroscopic and metabolic changes occurred well before clinical deterioration and just before improvement. MRS allows non-invasive follow-up of treated cerebral tumors. There is a large variability, but repetition and modelisation of spectroscopic measurements during longitudinal follow-up could allow us to diminish it and to improve prognostic evaluation especially in some cases under antiangiogenic therapy.

Studying the relationship between MRS measures, methionine and FLT PET, segmentation and perfusion parameters could lead to better understanding of therapeutic response, especially with regard to chemotherapy, radiotherapy and antiangiogenic molecules.

**References:** [1] Galanaud D, Nicoli F, Confort-Gouny S, Le Fur Y, Ranjeva JP, Viola A, Girard N, and Cozzone PJ. Indications for cerebral MR proton spectroscopy in 2007. *Rev Neurol*, 163(3):287–303, 2007.

[2] Hattingen E, Raab P, Franz K, Zanella FE, Lanfermann H, and Pilatus U. Myo-inositol: a marker of reactive astrogliosis in glial tumors? *NMR Biomed.*, 11, 2007.

[3] Dou W, Ruan S, Chen Y, Bloyet D, Constans JM (2007) A framework of Fuzzy Information Fusion for the segmentation of brain tumor tissues on MR images. *Image Vision Comput.* 25:164-171.

[4] Dou W, Ren Y, Wu Q, Ruan S, Chen Y, Bloyet D, Constans JM (2007) Fuzzy Kappa Used for the Agreement measure of Fuzzy Classifications. *Neurocomputing* 70:726-734.

Fig 1:  
48 months  
Cho/Cr  
Follow-up

