

Journées scientifiques conjointes aux GDR

Imageries in vivo

Microscopie fonctionnelle du vivant

Modélisation et Instrumentation pour l'Imagerie Biomédicale

STIC-Santé : Signaux et Images



Nouvelles méthodologies en imagerie du vivant

11 au 13 décembre 2012 – Lyon

Espace Tête d'Or

<http://imagerie-vivant.sciencesconf.org>

Recueil des résumés

Rhône Alpes Région



Inserm



Edito

Les techniques d'imagerie du vivant indispensables au diagnostic et à la thérapie en médecine mais également essentielles aux sciences fondamentales et appliquées de la biologie sont marquées par leur nécessaire pluridisciplinarité. L'imagerie du vivant se trouve au croisement de la physique, de la (bio)chimie et de la pharmacie, et requiert des traitements mathématiques et informatiques des signaux et des images. Les techniques d'imagerie se déclinent également selon l'échelle d'observation (moléculaire, cellulaire, tissulaire) ou les modalités (optiques, rayons X, RMN, PET, US). Cette spécialisation ne favorise ni les transferts de connaissances ni les interactions entre communautés scientifiques qui pourraient être à l'origine d'avancées significatives.

Ces journées seront l'occasion de présenter des développements méthodologiques récents pour l'exploration du vivant à travers les échelles et les modalités d'imagerie dans le but de faire émerger des interactions constructives pour les quatre communautés des GDR Imagiv, STIC-Santé : signal image, Microscopie fonctionnelle du vivant et enfin Modélisation et instrumentation pour l'imagerie médicale.

Conférenciers Invités

Gabriele Barabino (Saint Etienne)
Emmanuel Beaurepaire (Palaiseau)
Nacim Betrouni (Lille)
Johan Montagnat (Sophia Antipolis)

Chrit Moonen (Utrecht, The Netherlands)
Jean-Christophe Olivo-Marin (Paris)
Perrine Paul-Gilloteaux (Paris)
Olivier Tillement (Lyon)

Comité Local d'Organisation

Emmanuel Barbier
Olivier Beuf (Président)
Christophe Chamot
Patrick Clarysse
Jean-Luc Coll
Michel Dojat
Sophie Gaillard (interface scientifique-logistique)

Carole Lartizien
Françoise Peyrin
Hélène Ratiney
Isabelle Texier-Nogues
Yves Usson
Jean-Claude Vial

Comités scientifiques

Imagiv

Jean-François Aubry
Christian Barillot
Nacim Betrouni
Jean-Claude Beloeil
Monique Bernard
Lori Bridal
Jean-Luc Coll
Patrick Cozzone
Charles-André Cuenod
Luc Darrasse
Jean-Michel Franconi
Yves-Michel Frapart
Nicolas Grenier
Denis Guilloteau
Philippe Lanièce
Denis Guilloteau
Philippe Lanièce
Denis Guilloteau
Philippe Lanièce
Franck Lethimonnier
Christ Moonen
Frédéric Pain
Frédéric Patat
Mickael Tanter
Régine Trébossen
Bernard van Beers
Dimitris Visvikis

STIC-Santé: Signal/Image

Irène Buvat
Guy Carrault
Frédérique Frouin
Denis Kouamé
Olivier Meste
Françoise Peyrin

Mi2b

David Brasse
Irène Buvat
Denis Dauvergne
Ferid Haddad
Laurent Ménard
Ali Ouadi
Jean-Christophe Olivo-Marin
Robert Pansu
Nadine Peyriéras
Jean Salaméro
Yves Usson
Martin Werts

Microscopie fonctionnelle du vivant

Emmanuel Beaurepaire
Laurent Blanchoin
Frédéric Boltze
Giacomo Cavalli
Daniel Choquet
Maité Coppey
Maxime Dahan
Alain Dieterlen
Bernard Ducommun
Cyril Favard
Emmanuel Fort
Olivier Gadal
Laurent Héliot
Bernard Hofflack
Charles Kervrann
Jorg Langowski
André LeBivic
Sandrine Lévêque-Fort
Cédric Matthews
Serge Monneret
Serge Mordon
Yves Mély

Remerciements aux relecteurs

Le comité Local d'Organisation tient à exprimer ses remerciements aux relecteurs des nombreux résumés soumis pour les journées scientifiques :

Cédric Allier
Emmanuel Barbier
Christian Barillot
David bendahan
Olivier Beuf
David Brasse,
Lori Bridal
Irène Buvat
Virginie Callot
Christophe Chamot
Patrick Clarysse
Jean-Luc Coll
Nicolas Costes
Luc Darrasse

Denis Dauvergne
Jean-Marc Dinten
Michel Dojat
Jean-Michel Franconi
Frédérique Frouin
Giulio Gambarota
Frank Kober
Denis Kouame
Cyril Lafon
Carole Lartizien
Hervé Liebgott
Sylvain Miraux
Gérard Montarou
Bruno Montcel

Christian Morel
Fabrice Navarro
Françoise Peyrin
Jean-Baptiste Pialat
Astrid Pinzano
Cyril Poupon
Hélène Ratiney
David Rousseau
Hervé Saint-Jalmes
Isabelle Texier-Nogues
Jean-Claude Vial
Irène Wang
Marlène Wiart
Yves Usson.

Remerciements aux partenaires industriels

Le comité Local d'Organisation tient à exprimer ses remerciements aux partenaires industriels qui ont apporté leur soutien à l'organisation de cette manifestation.

SIEMENS



V O X C A N
→ Animal Medical Imaging Services



Mauna Kea Technologies

OLYMPUS

Your Vision, Our Future



COHERENT



PHILIPS

sense and simplicity



Agilent Technologies



Programme

Mardi 11 décembre

13h00-14h00 Accueil des participants - Installation des posters

14h00-14h15 Introduction - *Olivier Beuf*

14h15-14h30 Présentation de l'infrastructure FLI - *Franck Lethimonnier*

14h30-15h15 Conférence plénière

Microscopie non linéaire multimodale des tissus et de la morphogenèse embryonnaire

Emmanuel Beaurepaire, Laboratoire d'optique et biosciences

15h15-16h30 Session 1 : Les nouvelles microscopies appliquées au vivant

Modérateurs : *Christophe Chamot et Jean-Claude Vial*

15h15-15h27 Multiscale characterization of nanostructured hierarchical materials using synchrotron quantitative scanning-SAXS imaging

Aurélien Gourrier, Laboratoire Interdisciplinaire de Physique, European Synchrotron Radiation Facility

15h27-15h39 Understanding and engineering improved phototransformable fluorescent proteins for advanced microscopy

Dominique Bourgeois, institut de Recherches en Technologies et Sciences pour le Vivant, Institut de biologie structurale

15h39-15h51 Imagerie et spectroscopie de fluorescence par excitation non radiative

Rodolphe Jaffiol, Laboratoire de Nanotechnologie et d'Instrumentation Optique

15h51-16h03 Infrared spectral imaging as a novel approach for automated histopathological recognition in colon cancer diagnosis

Cyril Gobinet, MéDIAN Biophotonique et Technologies pour la Santé

16h03-16h15 Three-Dimension Fiber Architecture of the Human Heart In Vivo

Hongjiang Wei, Centre de recherche en applications et traitement de l'image pour la santé

16h15-16h27 Lensfree imaging, a new framework for bio imaging

Cédric Allier, CEA DRT Leti

16h30-17h00 Pause

17h00-18h15 Session des industriels

Modérateurs : Olivier Beuf et Yves Usson

17h00-17h15 Radio-imagerie moléculaire pré-clinique multimodale
Guillaume Loreille, Olivier Merle - BIOSPACE LAB

17h15-17h30 Magnetic Particule Imaging (MPI)
Didier Wecker - BRUKER

17h30-17h45 Endomicroscopie Confocale par minisonde (pCLE)
Hedi Gharbi - MAUNA KEA Technologies

17h45-18h00 IRM 3T : Dernières innovations techniques
Christophe Barles - SIEMENS

18h00-18h15 Light Sheet Z1 : Fast, Light-Efficient Data Acquisition
Fabrice Schmitt - ZEISS

18h15-20h00 Cocktail de bienvenue

Mercredi 12 décembre

08h30-09h15 Conférence plénière

AGuIX® : Development of a new class of theragnostic nanoprobe
Olivier Tillement, Laboratoire de Physico-Chimie des Matériaux Luminescents

09h15-10h30 Session 2 : Agents d'imagerie moléculaires et fonctionnels

Modérateurs : Isabelle Texier-Nogues et Jean-Luc Coll

09h15-09h27 DOTAGA-anhydride: a valuable building block for labeling biomolecules
Christine Goze, Institut de Chimie Moléculaire de l'Université de Bourgogne

09h27-09h39 New Far-Red emitting Lipid-Polymer probes for lipid bilayer imaging
Salim Adjili, Laboratoire IMP

09h39-09h51 Organic fluorescent nanoparticles as brilliant one- and two-photon emitters for (bio)imaging
Mireille Blanchard-Desce, Institut des Sciences Moléculaires

09h51-10h03 Nanovecteurs lipidiques bimodaux pour l'imagerie in vivo
Aurélie Jacquot, Département Microtechnologies pour la Biologie et la Santé

10h03-10h15 Nanoparticules à luminescence persistante pour l'imagerie optique in vivo
Cyrille Richard, Unité de pharmacologie chimique et génétique et d'imagerie

10h15-10h27 Magnetofluorescent Nanoparticles: a Reverse Approach for High-Loaded Active Materials
Adrien Faucon, Laboratoire CEISAM

10h30-11h00 Pause

11h00-11h45 Conférence plénière

Thérapies anticancéreuses guidées par imagerie
Chrit Moonen, University Medical Center Utrecht

11h45-13h00 Session 3 : Les développements récents en méthodologie et instrumentation
Modérateurs : Hélène Ratiney et Emmanuel Barbier

11h45-11h57 Tumor imaging of glucose metabolism and hypoxia using combined dual wavelength fDOT and PET
Garofalakis Anikitos, Digisens SA, Université Paris Sud

11h57-12h09 Optique adaptative appliquée à la spectroscopie à corrélation de fluorescence (FCS)
Irène Wang, Laboratoire Interdisciplinaire de Physique

12h09-12h21 Élastographie et retournement temporel : une tomographie acoustique passive d'ondes de cisaillement dans le corps humain
Stefan Catheline, LabTAU

12h21-12h33 Combinaison d'une méthode de quantification de la graisse intra-hépatique avec l'imagerie du mouvement incohérent intra-voxel à 3.0T pour la distinction entre la stéatose pure et la stéato-hépatite.
Benjamin Leporq, Centre de recherche en applications et traitement de l'image pour la santé

12h33-12h45 Impact of tissue T1 on perfusion measurement obtained with ASL
Clément Debacker, Bruker Biospin, Grenoble Institut des Neurosciences

12h45-12h57 Cyclic Variations of Myocardial Blood Flow Assessed with cine-ASL
Thomas Troalen, Centre de résonance magnétique biologique et médicale

13h00-14h00 Déjeuner

14h30-16h30 Communications affichées – Posters

15h00-15h30 Démonstration de VIP – Virtual Imaging Platform

16h30-17h00 Pause

17h00-17h45 Conférence plénière

Quantitative biological imaging: From cells to numbers
Jean-Christophe Olivo-Marin, Institut Pasteur - AIQ

17h45-19h00 Session 4 : Traitement des images à travers les échelles et les modalités
Modérateurs : Françoise Peyrin et Patrick Clarysse

17h45-17h57 Traitement d'images appliqué à la mesure de temps de vie de fluorescence en microscopie optique sur des structures mobiles dans les cellules biologiques
François Waharte, Institut Curie - PICT-IBiSA

17h57-18h09 3D Bone cells quantification from 3D microCT images
Pei Dong, Centre de recherche en applications et traitement de l'image pour la santé

18h09-18h21 LOCUSuite: a complete software suite for brain scan segmentation
Senan Doyle, MISTIS

18h21-18h33 A multi-atlas based method for automated anatomical rat brain MRI segmentation and extraction of PET kinetics
Sophie Lancelot, Centre de recherche en neurosciences de Lyon, équipe BioRan

18h33-18h45 Détection de changements le long des faisceaux de la substance blanche. Application au suivi longitudinal de pathologies neuro-dégénératives
Antoine Grigis, Laboratoire des Sciences de l'Image, de l'Informatique et de la Télédétection

18h45-18h57 Multiparametric microvascular MRI: a cluster approach to characterize glioma
Nicolas Coquery, Grenoble Institut des Neurosciences

19h30 Soirée de gala aux Terrasses du Parc

Jeudi 13 décembre**08h30-09h20 Conférences plénierées**

08h30-08h55 Cancer de la prostate: Diagnostic et thérapie focale par laser interstitiel guidés par l'image
Nacim Betrouni, THIAIS

08h55-09h20 Utilisation d'une sonde miniaturisée de détection de la fluorescence dans la chirurgie des métastases Hépatiques : étude clinique préliminaire
Gabriele Barabino, Chirurgie digestive et cancérologique

09h20-10h35 Session 5 : Diagnostic, thérapie et suivi médical assistés par l'imagerie
Modérateurs : Carole Lartizien et Jean-Luc Coll

09h20-09h32 Ultrasonography-based 2D motion compensated HIFU sonication integrated with reference-free MR temperature monitoring: a feasibility study ex vivo
Rares Salomir, Inserm, Radiology Department, University Hospitals of Geneva

09h32-09h44 Intraoperative oxygenation imaging during transplant surgery
Sylvain Gioux, Beth Israel Deaconess Medical Center / Harvard Medical School

09h44-09h56 PET-based dose delivery verification in hadrontherapy: simulation study of PET system designs in realistic clinical conditions
Charlotte Robert, Imagerie et Modélisation en Neurobiologie et Cancérologie

09h56-10h08 Lecture des tests intradermiques à la tuberculinique par spectroscopie : résultats cliniques
Anne Koenig, CEA, LETI, MINATEC

10h08-10h20 Morphological assessment of non-human primate models of osteoarthritis using HR-MRI and µCT arthrography
Emmanuel Chereul, VOXCAN

10h20-10h32 Comparaison de méthodes d'analyse paramétrique de la perfusion tumorale pour un suivi longitudinal en IRM
Frédérique Frouin, Laboratoire d'Imagerie Fonctionnelle

10h35-11h05 Pause

11h05-11h55 Conférences plénières

08h30-08h55 Image Data Base on a microscopy facility: Presentation and use for remote collaborations. Application to modelisation of passage of malaria parasites through the mosquito midgut cells
Perrine Paul-Gilloteaux, PICT-IBISA

08h30-08h55 Fédération et analyse de données distribuées en imagerie biomédicale
Johan Montagnat, Laboratoire d'Informatique, Signaux et Systèmes de Sophia-Antipolis

11h55-12h10 Session 6 : Bases de données hétérogènes et calculs distribués
Modérateur : Michel Dojat

11h55-12h07 OntoCATI et CATISchema: Une ontologie et un schéma pour fédérer les ressources informatiques du Centre d'Acquisition et de Traitement des Images (CATI)
Bénédicte BATRANCOURT, Centre de Recherche en Neurosciences de la Pitié-Salpêtrière

12h10-13h00 Session 3 : Les développements récents en méthodologie et instrumentation
Modérateurs : Denis Dauvergne et Yves Usson

12h10-12h22 STED microscopy with single light source
Teodora Scheul, Laboratoire Interdisciplinaire de Physique

12h22-12h34 Imagerie proton : analyse des données de sortie
Cécile Bopp, Département Recherches Subatomiques

12h34-12h46 PIXSIC - Characterisation of a β^+ intracerebral wireless probe for functional imaging coupled with behavioral studies performed on freely moving rats
Laure Balasse, Imagerie et Modélisation en Neurobiologie et Cancérologie

12h46-12h58 Validation du principe de conversion de champ magnétique RF par une technique électro-optique adaptée à l'IRM endoluminale
Reina Ayde, Centre de recherche en applications et traitement de l'image pour la santé

13h00-14h00 Buffet

13h00-13h20 Remise des prix communications orales et affichées

13h30-14h00 Démontage des posters

14h00-15h30 Assemblée Générale GDR IMAGIV - Table ronde

SOMMAIRE

Communications orales

Session 1 : Les nouvelles microscopies appliquées au vivant

10571

Microscopie non linéaire multimodale des tissus et de la morphogenèse embryonnaire

Beaurepaire Emmanuel(1)

1 - Laboratoire d'optique et biosciences (France)

9605

Multiscale characterization of nanostructured hierarchical materials using synchrotron quantitative scanning-SAXS imaging

Gourrier Aurélien(1)(2), Burghammer Manfred(2), Reiche Ina(3), Boivin Georges(4)

1 - Laboratoire Interdisciplinaire de Physique (France), 2 - European Synchrotron Radiation Facility (France), 3 - Laboratoire d'Archéologie Moléculaire et Structurale (France), 4 - Physiopathologie, diagnostic et traitements des maladies osseuses (France)

9544

Understanding and engineering improved phototransformable fluorescent proteins for advanced microscopy

Bourgeois Dominique(1)(2), Byrdin Martin(1)(2), Chenxi Duan(1)(2), Adam Virgile(1)(2)

1 - Institut de Recherches en Technologies et Sciences pour le Vivant (France), 2 - Institut de biologie structurale (France)

9533

Imagerie et spectroscopie de fluorescence par excitation non radiative

Cardoso Dos Santos Marcelina(1), Vézy Cyrille(1), Jaffiol Rodolphe(1)

1 - Laboratoire de Nanotechnologie et d'Instrumentation Optique (France)

9529

Infrared spectral imaging as a novel approach for automated histopathological recognition in colon cancer diagnosis

Gobinet Cyril(1), Piot Olivier(2)

1 - MéDIAN Biophotonique et Technologies pour la Santé (France), 2 – MéDIAN biophotonique et Technologies pour la Santé, FRE CNRS 3481 MEDyC (France)

9513

Three-Dimension Fiber Architecture of the Human Heart In Vivo

Zhu Yuemin(1), Croisille Pierre(1), Delattre Bénédicte(1), Viallon Magalie(1), Wei Hongjiang(1)

1 - CREATIS; CNRS (UMR 5220); INSERM (U1044); INSA Lyon; (France)

9319

Lensfree imaging, a new framework for bio imaging

Dinten Jean-marc(1), Navarro Fabrice(1), Dolega Monika(2), Picollet D'hahan Nathalie(2), Strola Samy(1), Schultz Emmanuelle(1), Hennequin Yves(1), Vinjimore Srikanth(1), Allier Cédric(1)

1 - CEA DRT Leti (France), 2 - CEA DSV iRTSV (France)

Session des industriels

	10598
Radio-imagerie moléculaire pré-clinique multimodale <i>Guillaume Loreille (1)</i> 1 - BIOSPACE LAB (France)	10600
Magnetic Particule Imaging (MPI) <i>Didier Wecker (1)</i> 1 - BRUKER (France)	10597
Endomicroscopique Confocale par minisonde (pCLE) <i>Hedi Gharbi (1)</i> 1 – MAUNA KEA Technologies (France)	10601
IRM 3T : Dernières innovations techniques <i>Christophe Barles (1)</i> 1 - SIEMENS (France)	10649
Light Sheet Z1 : Fast, Light-Efficient Data Acquisition <i>Fabrice Schmitt (1)</i> 1 - ZEISS (France)	

Session 2 : Agents d'imagerie moléculaires et fonctionnels

	10589
AGuIX® : Development of a new class of theragnostic nanoprobe <i>Tillement Olivier(1)</i> 1 - Laboratoire de Physico-Chimie des Matériaux Luminescents (France)	9623
DOTAGA-anhydride: a valuable building block for labeling biomolecules <i>Denat Franck(1), Brunotte François(2), Vigneaud Jean-marc(2), Collin Bertrand(1)(2), Duchamp Olivier(3), Tizon Xavier(3), Raguin Olivier(3), Rousselin Yoann(4), Boschetti Frédéric(5), Goze Christine(4), Larrouy Manuel(4), Moreau Mathieu(4), Bernhard Claire(4)</i> 1 - Institut de Chimie Moléculaire de l'Université de Bourgogne (France), 2 - Centre Georges-François Leclerc (France), 3 - OncoDesign (France), 4 - Institut de Chimie Moléculaire de l'Université de Bourgogne (France), 5 - CheMatech (France)	9608
New Far-Red emitting Lipid-Polymer probes for lipid bilayer imaging <i>Charreyre Marie-thérèse(1), Muriaux Delphine(2), Andraud Chantal, Fargier Guillaume, Hamard Elise, Bretonnière Yann, Massin Julien, Favier Arnaud, Adjili Salim</i> 1 - Laboratoire Joliot-Curie (France), 2 - Centre d'études d'agents Pathogènes et Biotechnologies pour la Santé (France)	

9521

Organic fluorescent nanoparticles as brilliant one- and two-photon emitters for (bio)imaging

Blanchard-desce Mireille(1)

1 - Institut des Sciences Moléculaires (Univ. Bordeaux1) (France)

9359

Nanovecteurs lipidiques bimodaux pour l'imagerie in vivo

Camporese Davide, Ponce Frédérique, Boisgard Raphaë«l, Navarro Fabrice, Mittler Frérérique, Texier-nogues Isabelle, Jacquart Aurélie(1)

1 - Département Microtechnologies pour la Biologie et la Santé (France)

9335

Nanoparticules à luminescence persistante pour l'imagerie optique in vivo

Scherman Daniel, Bessodes Michel, Seguin Johanne, Maldiney Thomas, Richard Cyrille(1)

1 - Unité de pharmacologie chimique et génétique et d'imagerie (France)

9268

Magnetofluorescent Nanoparticles: a Reverse Approach for High-Loaded Active Materials

Ishow Eléna, Fresnais Jerôme, Hemez Julie, Faucon Adrien(1)

1 - Laboratoire CEISAM (France)

Session 3a : Les développements récents en méthodologie et instrumentation

10590

Thérapies anticancéreuses guidées par imagerie

Moonen Chrit(1)

1 - University Medical Center Utrecht (Pays-Bas)

9611

Tumor imaging of glucose metabolism and hypoxia using combined dual wavelength fDOT and PET

Ducongé Frédéric(1)(2)(3), Thésé Benoît(3)(2)(1), Anikitos Garofalakis(4)(1)(2)(3)

1 - Université Paris Sud (France), 2 - INSERM U1023, Laboratoire d'Imagerie Moléculaire Expérimentale (France), 3 - CEA, Institut d'Imagerie Biomédicale, Service Hospitalier Frédéric Joliot (France), 4 - Digisens SA (France)

9405

Optique adaptative appliquée à la spectroscopie à corrélation de fluorescence (FCS)

Delon Antoine, Leroux Charles-edouard, Wang Irène(1)

1 - Laboratoire Interdisciplinaire de Physique (France)

9464

Elastographie et retournement temporel : une tomographie acoustique passive d'ondes de cisaillement dans le corps humain

Jean-yves Chapelon, Au Hoang Dinh, Souchon Rémi, Catheline Stefan(1)

1 - LabTAU (France)

9397

Combinaison d'une méthode de quantification de la graisse intra-hépatique avec l'imagerie du mouvement incohérent intra-voxel à 3.0T pour la distinction entre la stéatose pure et la stéato-hépatite.

Beuf Olivier(1), Lefort Thibaut(2), Guillaud Olivier(3), Dumortier Jerome(3), Pilleul Frank(4)(2)(1), Leporq Benjamin(1)

1 - Centre de recherche en applications et traitement de l'image pour la santé (France), 2 - Hospices Civils de Lyon; CHU Edouard Herriot; Département d'imagerie digestive (France), 3 - Hospices Civils de Lyon; CHU Edouard Herriot; Département d'hépatologie (France), 4 - Centre Leon Berard; Centre de lutte contre le cancer; (France)

9277

Impact of tissue T1 on perfusion measurement obtained with ASL

Barbier Emmanuel(1), Voiron Jérôme(2), Warnking Jan(1), Daoust Alexia(1), Debacker Clément(2)(1)

1 - Grenoble Institut des Neurosciences (France), 2 - Bruker Biospin (Allemagne)

9462

Cyclic Variations of Myocardial Blood Flow Assessed with cine-ASL

Kober Frank(1), Bernard Monique(1), Cozzone Patrick(1), Capron Thibaut(1), Troalen Thomas(1)

1 - Centre de résonance magnétique biologique et médicale (France)

Session 4 : Traitement des images à travers les échelles et les modalités

10588

Quantitative biological imaging: From cells to numbers

Olivo-marin Jean-christophe

1 - Institut Pasteur - AIQ (France)

9914

Traitement d'images appliqué à la mesure de temps de vie de fluorescence en microscopie optique sur des structures mobiles dans les cellules biologiques

Waharte François(1), Roudot Philippe, Salamero Jean, Kervrann Charles

1 - Institut Curie - PICT-IBISA (France)

9483

3D BONE CELLS QUANTIFICATION FROM 3D MICRO-CT IMAGES

Dong Pei(1)(2), Haupert Sylvain(3), Gouttenoire Pierre-jean(1)(2), Olivier Cécile(1)(2), Peyrin Françoise(1)(2)

1 - Centre de recherche en applications et traitement de l'image pour la santé (France), 2 - European Synchrotron Radiation Facility (France), 3 - Laboratoire d'Imagerie Paramétrique (France)

9368

LOCUSuite: a complete software suite for brain scan segmentation

Doyle Senan(1), Forbes Florence(1), Dojat Michel(2)

1 - MISTIS (France), 2 - Grenoble Institut des Neurosciences (France)

9250

A multi-atlas based method for automated anatomical rat brain MRI segmentation and extraction of PET kinetics

Costes Nicolas(1), Zimmer Luc(2), Bouillot Caroline(3), Langlois Jean-baptiste(3), Hammers Alexander(4), Lancelot Sophie(5)

1 - CERMEP - Imagerie du vivant (France), 2 - CERMEP - Imagerie du vivant (France), 3 - CERMEP - Imagerie du vivant (France), 4 - Chaire de neuroimagerie fonctionnelle, Neurodis (France), 5 - Centre de recherche en neurosciences de Lyon, équipe BioRan (France)

9112

Détection de changements le long des faisceaux de la substance blanche. Application au suivi longitudinal de pathologies neuro-dégénératives.

Armspach Jean-paul, Kremer Stéphane, De Seze Jérôme, Blanc Frédéric, Heitz Fabrice, Noblet Vincent, Grigis Antoine(1)(2)

1 - Laboratoire des Sciences de l'Image, de l'Informatique et de la Télédétection (France), 2 - Laboratoire d'Imagerie et de Neurosciences Cognitives - IPB (France)

9469

Multiparametric microvascular MRI: a cluster approach to characterize glioma

Farion Régine(1), Debacker Clément(2), Coquery Nicolas(2), Francois Olivier(3), Rémy Chantal(2), Barbier Emmanuel(2)

1 - Grenoble MRI Facility IRMaGe (France), 2 - Grenoble Institut des Neurosciences (France), 3 - TIMC-IMAG laboratory (France)

Session 5 : Diagnostic, thérapie et suivi médical assistés par l'imagerie

10591

Cancer de la prostate: Diagnostic et thérapie focale par laser interstitiel guidés par l'image

Betrouni Nacim(1)

1 - THIAIS (France)

10596

Utilisation d'une sonde miniaturisée de détection de la fluorescence dans la chirurgie des métastases hépatiques: étude clinique préliminaire

Barabino Gabriele(1)

1 - Chirurgie digestive et cancérologique (France)

9502

Ultrasonography-based 2D motion compensated HIFU sonication integrated with reference-free MR temperature monitoring: a feasibility study ex vivo

Salomir Rares(1)(2)(3), Becker Christoph(2), Goget Thomas(3), Viallon Magalie(4)(2), Petrusca Lorena(3), Auboiron Vincent(3)

1 - Inserm, ADR 05 Rhône Alpes (France), 2 - Radiology Department, University Hospitals of Geneva (Suisse), 3 - Faculty of Medicine, University of Geneva (Suisse), 4 - CREATIS (France)

9556

Intraoperative oxygenation imaging during transplant surgery

Gioux Sylvain

1 - Beth Israel Deaconess Medical Center / Harvard Medical School (Etats-Unis)

9387

PET-based dose delivery verification in hadrontherapy: simulation study of PET system designs in realistic clinical conditions

Robert Charlotte(1), Fourrier Nicolas(1), Gueth Pierre(2), Grevillot Loic(2), Sarrut David(2)(3), Buvat Irène(1)

1 - Imagerie et Modélisation en Neurobiologie et Cancérologie (France), 2 - Centre de recherche en applications et traitement de l'image pour la santé (France), 3 - Centre Léon Bérard (France)

9266

Lecture des tests intradermiques à la tuberculinique par spectroscopie : résultats cliniques

Koenig Anne(1), Grande Sophie(2), Dahel Karima, Planat-chretien Anne, Poher Vincent, Goujon Catherine, Dinten Jean-marc

1 - CEA, LETI, MINATEC (France), 2 - Unité de recherche Clinique Lyon Sud (France)

9518

Morphological assessment of non-human primate models of osteoarthritis using HR-MRI and μ CT arthrography

Chereul Emmanuel(5), Grenier Denis(1), Perrier Anne Laure(1), Taborik Fabrice(2), Mahieu-willame Laurent(1), Tse Ve Koon Kevin(1), Chuzel Thomas(5), Martin Stéphane(5), Magnier Luc(5), Pesesse Xavier(4), Pietri Sandra(3), Contamin Hugues(2), Beuf Olivier(1)

1 - Centre de recherche en applications et traitement de l'image pour la santé (France), 2 - Cynbiose (France), 3 - Laboratoire de rhumatologie (Belgique), 4 - Bone Therapeutics (Belgique), 5 - VOXCAN (France)

9626

Comparaison de méthodes d'analyse paramétrique de la perfusion tumorale pour un suivi longitudinal en IRM.

Lucidarme Olivier(1), Frouin Frédérique(1), Pellot-barakat Claire, Ershadi Kaveh, Lefort Muriel(1), Cohen Mike-ely, Raslan Samar A

1 - Laboratoire d'Imagerie Fonctionnelle (France)

Session 6 : Bases de données hétérogènes et calculs distribués

10593

Presentation and use for remote collaborations. Application to systematic analyses and modelisation of passage of malaria parasites through the mosquito gut cells

Paul-gilloteaux Perrine(1)

1 - PICT-IBISA (France)

10595

Fédération et analyse de données distribuées en imagerie biomédicale

Montagnat Johan(1)

1 - Laboratoire d'Informatique, Signaux et Systèmes de Sophia-Antipolis (France)

9493

OntoCATI et CATISchema: Une ontologie et un schéma pour fédérer les ressources informatiques du Centre d'Acquisition et de Traitement des Images (CATI)

Geoffroy Dominique(1), Cointepas Yann(1), Edward Lydie(2), Poret Sylvain(2), Batrancourt Bénédicte(2)

1 - Service NEUROSPIN (France), 2 - Centre de Recherche en Neurosciences de la Pitié-Salpêtrière (France)

Session 3b : Les développements récents en méthodologie et instrumentation

9377

STED microscopy with single light source

Scheul Teodora(1), Wang Irène(1), Vial Jean-claude(1)

1 - Laboratoire Interdisciplinaire de Physique (France)

9579

Imagerie proton : analyse des données de sortie

Brasse David(1), Rousseau Marc(1), Bopp Cécile(1)

1 - Département Recherches Subatomiques (France)

9358

PIXSIC - Characterisation of $\beta+$ intracerebral wireless probe for functional imaging coupled with behavioral studies performed on freely moving rats

Balasse Laure(1), Maerk Julia(2), Benoit Didier(1), Benoit Mathieu(3), Clémens Jean-claude(4), Fieux Sylvain(5), Fourgeron Denis(2), Janvier Batiste(1), Jevaud Michel(2), Genoux Aurélie(1), Gisquet-verrier Pascale(6), Lefebvre Françoise(1), Menouni Mohsine(2), Pain Frédéric(1), Tourvieille Christian(5), Morel Christian(4), Zimmer Luc(5), Lanièce Philippe(1)

1 - Imagerie et Modélisation en Neurobiologie et Cancérologie (France), 2 - Centre de Physique des Particules de Marseille (France), 3 - European Organization for Nuclear Research (Suisse), 4 - Centre de Physique des Particules de Marseille (France), 5 - Centre d'Exploration et de Recherche Médicales par Emission de Positons (France), 6 - Centre de Neuroscience de Paris Sud (France)

9471

Validation du principe de conversion de champ magnétique RF par une technique électro-optique adaptée à l'IRM endoluminale

Beuf Olivier(1), Duvillaret Lionel(2), Gaborit Gwenael(2)(3), Sablong Raphael(1), Perrier Anne-laure(1), Ayde Reina(1)

1 - Centre de recherche en applications et traitement de l'image pour la santé (France), 2 - Kapteos (France), 3 - Institut de Microélectronique, Electromagnétisme et Photonique - Laboratoire d'Hyperfréquences et Caractérisation (France)

Communications affichées

Session 1 : Les nouvelles microscopies appliquées au vivant

9331

Nouvelle technique d'imagerie cérébrale microscopique : l'imagerie par rayonnement synchrotron chez la souris

Wiart Marlène(1), Peyrin Françoise, Berthezene Yves, Noghoghossian Norbert, Olivier Cécile, Durand Anne, Langer Max, Rositi Hugo(2), Marinescu Marilena, Chabrol Aurélie(1)

1 - Centre de Recherche en Acquisition et Traitement de l'Image pour la Santé (France), 2 - Centre de Recherche en Acquisition et Traitement de l'Image pour la Santé (France)

9332

Visualisation 2D et 3D des modifications de la perméabilité vasculaire induites par Electropérméabilisation

Pelofy Sandrine(1), Bellard Elisabeth(1), Rols Marie-pierre(1), Teissié Justin(1), Golzio Muriel(1)

1 - IPBS (France)

9336

Plateau d'imagerie optique du petit animal

Bellard Elisabeth, Golzio Muriel(1), Girard Jean-philippe(1), Teissié Justin(1)

1 - IPBS (France)

9391

Visualiser tous les astrocytes chez les rongeurs en microscopie intravitale par l'injection intraveineuse de sulforhodamines

Vial Jean-claude(1), Guillemain Isabelle(2), Depaulis Antoine(2), Maurin Mathieu(3), Albrieux Mireille(2), Van Der Sanden Boudewijn(2), Römer Johannes, Boisseau Sylvie(2), Girod Sabine(4), Appaix Florence(5)

1 - Laboratoire Interdisciplinaire de Physique (France), 2 - Institut des Neurosciences de Grenoble (France), 3 - Laboratoire Interdisciplinaire de Physique Grenoble (France), 4 - Institut des neurosciences de Grenoble (France), 5 - Institut des neurosciences de Grenoble (France)

9455

Picosecond Optical Tomography POT (et imagerie fibrée & IRM). Atteindre 100µm de résolution à 5-10mm de profondeur pour quantifier une stimulation sensorielle

Mottin Stéphane(1)

1 - Laboratoire Hubert Curien (France)

9496

Assessing brain cell structure in vivo by diffusion-weighted NMR spectroscopy at different time scales

Lebon Vincent(1), Hantraye Philippe(1), Brouillet Emmanuel(2), Marchadour Charlotte(1), Najac Chloé(1), Valette Julien(1)

1 - Commissariat à l'Energie Atomique, Direction des Sciences du Vivant, Institut d'Imagerie Biomédicale, Molecular Imaging Research Center (France), 2 - Centre National de la Recherche Scientifique, URA2210 (France)

9499

Caractérisation par imagerie en temps réel de culture cellulaire hépatique au sein d'une biopuce microfluidique

Leclerc Eric, Naudot Marie(1)

1 - laboratoire BMBI (France)

9531

High resolution surface plasmon microscopy: from nanoscales to microscales

Argoul Françoise(1)

1 - Laboratoire de Physique de l'ENS Lyon (France)

9581

X-RAY in line phase micro-CTfor simultaneous bone and soft tissue visualisation

Langer Max(1)(2), Cloetens Peter(2), Hesse Bernhard(2)(3)(1), Pacureanu Alexandra(1)(2)(4), Raum Kay(5), Lafage-proust Marie-hélène(6), Peyrin Françoise(7)(2)

1 - Centre de recherche en applications et traitement de l'image pour la santé (France), 2 - European Synchrotron Radiation Facility (France), 3 - Julius-Wolff-Institute & Brandenburg School for Regenerative Therapies, Charité (Allemagne), 4 - Centrum för bildanalys, Uppsala universitet & Sveriges lantbruksuniversitet (Suède), 5 - Julius-Wolff-Institute & Berlin Brandenburg School for Regenerative Therapies, Charité, (Allemagne), 6 - Laboratoire de Biologie Intégrative du Tissu Osseux (France), 7 - Centre de recherche en applications et traitement de l'image pour la santé (France)

9599

Intravital microscopy at the single vessel level brings new insights of vascular modification mechanisms induced by electroporation

Golzio Muriel(1), Bellard Elisabeth(2), Pelofy Sandrine, Teissie Justin(1), Cemazar Maja, Sersa Gregor, Markelc Bostjan

1 - Institut de pharmacologie et de biologie structurale (France), 2 - IPBS (France)

9691

Algorithme meanshift et distribution de l'histogramme des couleurs pour le suivi d'objets

Hittawy Mazen(1), Makris Pascal(2)

1 - laboratoire d'informatique (France), 2 - laboratoire d'informatique (France)

9899

Imagerie biologique par microscopie de phase quantitative

Aknoun Sherazade(1), Savatier Julien(1), Bon Pierre(1), Monneret Serge(1)

1 - Institut FRESNEL (France)

9900

Suivi du cycle cellulaire par microscopie de phase quantitative

Savatier Julien(1), Aknoun Sherazade(1), Bon Pierre(1), Monneret Serge(1)

1 - Institut FRESNEL (France)

9908

Rôle de la protéine kinase MAPK/Erk dans la nécrose.

Sipieter Francois(1)(2)(3)

1 - Department for Molecular Biomedical Research, Université de Gand. (Belgique), 2 - Institut de recherche interdisciplinaire (France), 3 - Laboratoire de Régulation des Signaux de Division, EA4479, Université Lille 1 (France)

10033

Polarization-resolved Four Wave Mixing and Second Harmonic Generation on Amyloid fibrils and Collagen fibrils

Brasselet Sophie(1), Rigneault Hervé(1), Duboisset Julien(1), Bioud Fatma-zhora

1 - Institut FRESNEL (France)

Session 2 : Agents d'imagerie moléculaires et fonctionnels

9184

Magnetosomes, a new class of highly sensitive superparamagnetic contrast agents for MR molecular imaging

Pignol David(1), Lethimonnier Franck(2), Garcia Daniel(1), Lefèvre Christopher(1), Ginet Nicolas(1), Marty Benjamin(2), Mériaux Sébastien(2)

1 - Laboratoire de Bioénergétique Cellulaire, CEA/DSV/IBEB/SBVME (France), 2 - Laboratoire d'Imagerie et de Spectroscopie RMN, CEA/DSV/I2BM/NeuroSpin (France)

9255

Sondes fluorogènes pour l'imagerie à très haute sensibilité de peptidases et glycosidases

Prost Maxime(1), Thorn-seshold Oliver(1), Canaple Laurence(2), Hasserodt Jens(1)

1 - Laboratoire de chimie de l'ENS de Lyon (France), 2 - Institut de Génomique Fonctionnelle de Lyon (France)

9270

Magnetofluorescent Nanoparticles: a Reverse Approach for High-Loaded Active Materials

Faucon Adrien(1), Hemez Julie, Fresnais Jérôme, Ishow Eléna

1 - Laboratoire CEISAM (France)

9327

In vivo detection of neuroinflammation surrounding amyloid plaque by USPIO-enhanced MRI in murine models of Alzheimer's disease

Louin Gaëlle(1), Raynaud Jean-sebastien(1), Robert Philippe(1), Violas Xavier(1), Santus Robin(1), Vives Véronique(1), Gombert Florence(1), Zamia Philippe(1), Rousseaux Olivier(1), Catoen Sarah(1), Lancelot Eric(1), Raynal Isabelle(1), Port Marc(1), Corot Claire(1)

1 - Guerbet (France)

9338

Molecular ultrasound assessment of anti-angiogenic therapy using BR55, a specific ultrasound VEGFR2 targeted agent

Helbert Alexandre(1)(2), Hyvelin Jean-marc(1), Tardy Isabelle(1), Von Wronski Mathew(1), Vallé Lucille(1), Botteron Catherine(1), Pochon Sybille(1), Padilla Frédéric(2), Tranquart François(1)

1 - Bracco Suisse S.A. (Suisse), 2 - Application des ultrasons à la thérapie (France)

9346

High potential of 99mTc-NTP 15-5 as a SPECT radiotracer for cartilage pathologies in human

Miot-noirault Elisabeth, Vidal Aurelien, Cachin Florent(1), Gouin François, Boisgard Stéphane(2), Auzeloux Philippe, Filaire Marc, Peyrode Caroline, Askienazy Serge, Heymann Dominique, Redini Françoise, Chezal J-michel

1 - CLCC Jean Perrin (France), 2 - Chirurgie orthopédique (France)

9352

Brain activation patterns of serotonin-1A agonists: a 7T pharmacological-MRI study in the rat

Zimmer Luc(1)(2)(3), Costes Nicolas(3), Newmann-tancredi Adrian(4), Langlois Jean-baptiste(3), Becker Guillaume(1)(2), Bolbos Radu(3)

1 - Hospices Civils de Lyon (France), 2 - Centre de recherche en neurosciences de Lyon (France), 3 - CERMÉP - imagerie du vivant (France), 4 - Neurolisis Inc, San Diego (Etats-Unis)

9383

Radiolabelling and Biological Evaluation of ICF15002, a New Fluorinated and Iodinated Melanin-Targeting Compound for Melanoma PET Imaging and Targeted Radionuclide Therapy

Chezal Jean-michel(1), Auzeloux Philippe(1), Miot-noirault Elisabeth(1), Labarre Pierre(1), Besse Sophie(1), Vidal Aurélien(1), Billaud Emilie(1), Rbah-vidal Latifa(1)

1 - U 990 INSERM (France)

9503

MRI detection of iron (II) complexes responsive to chemical or enzymatic stimuli

Touti Fayçal(1), Canaple Laurence(2), Beuf Olivier(3), Maurin Philippe(4), Samarat Jacques(5), Hasserodt Jens(1)

1 - ENS de Lyon (France), 2 - Institut de Génomique Fonctionnelle de Lyon (France), 3 - Centre de recherche en applications et traitement de l'image pour la santé (France), 4 - Laboratoire de chimie de l'ENS de Lyon (France), 5 - Institut de Génomique Fonctionnelle de Lyon (France)

9564

Comparison of Echo-Power Estimation Using Linearized Video Data and Raw Data for Dynamic Contrast-Enhanced Ultrasound

Bridal S. Lori(1), Le Guillou-buffello Delphine(1), Lucidarme Olivier(2), Lamuraglia Michele(1), Coron Alain(1), Payen Thomas(1)

1 - Laboratoire d'Imagerie Paramétrique (France), 2 - Laboratoire d'Imagerie Fonctionnelle (France)

9568

Imagerie des macrophages chez la souris ApoE âgée : impact de l'exercice

Chirico Erica, Chauveau Fabien, Géloën Alain, Patsouris David, Martin Cyril, Vidal Hubert, Rieusset Jennifer, Pialoux Vincent, Canet-soulas Emmanuelle(1)

1 - Laboratoire CarMeN, Université Lyon 1 & INSERM, Université de Lyon (France)

9573

UltraSmall Rigid Platforms for multimodal imaging and theranostic applications

Tillement Olivier(1), Lux François(1), Perriat Pascal(2), Roux Stéphane(3), Coll Jean-luc(4), Le Duc Géraldine(5), Dufort Sandrine(6)(4), Truillet Charles(1), Morlieras Jessica(1), Mignot Anna(1), Sancey Lucie(1)

1 - Laboratoire de Physico-Chimie des Matériaux Luminescents (France), 2 - Matériaux, ingénierie et sciences (France), 3 - Univers, Transport, Interfaces, Nanostructures, Atmosphère et environnement, Molécules (France), 4 INSERM U823 (France), 5 - Biomedical Beamline (France), 6 - Nano-H SAS (France)

9575

Synthesis of watersoluble nanoprobes for two-photon imaging and photodynamic therapy

Charreyre Marie-thérèse(1), Leverrier Yann, Andraud Chantal, Parola Stéphane, Favier Arnaud, Lerouge Frederic, Monnereau Cyrille, Maury Olivier, Marvel Jacqueline, Baldeck Patrice, Lindgren Mikael, Mulatier Jean-christophe, Lanoe Pierre-henri, Marotte Sophie, Gallavardin Thibault, Cepraga Cristina

1 - Laboratoire Joliot-Curie (France)

9898

Detection of free radical production in the mitochondria of single living cells by fluorescence lifetime microscopy

Ribou Anne-cécile(1), Bijoux Amandine(1), Inguimbert Nicola(2)

1 - IMAGES, Université de Perpignan (France), 2 - LCBE, Université de Perpignan (France)

Session 3 : Les développements récents en méthodologie et instrumentation

9902

Nouveaux dendrimères luminescents à base de lanthanides pour imagerie biologique proche infrarouge

Foucault Alexandra(1), Villette Sandrine(1), Uh Hyounsoo(2), Petoud Stéphane(1)

1 - Centre de biophysique moléculaire (France), 2 - department of Chemistry (Etats-Unis)

9075

Preuve de concept d'un TEP orienté axialement pour l'imagerie du petit animal

Brard Emmanuel(1), Brasse David(1)

1 - Département Recherches Subatomiques (France)

9324

Caractérisation d'un système d'imagerie 3D bimodale associant Rayons X et Fluorescence, suivi non invasif du développement tumoral dans les poumons

Lavaud Jonathan(1), Fertin Arnold(2), Keramidas Michelle(1), Josserand Véronique(1), Coll Jean Luc(1)

1 - Institut Albert Bonnot (France), 2 - Techniques de l'Ingénierie Médicale et de la Complexité (France)

9325

Primate brain template image and reference atlas creation for macaca fascicularis voxel based PET functional analysis

Costes Nicolas(1), Tremblay Léon(2), Sgambato-faure Véronique(2), Beaudoin Maude(2), Lavenne Franck(3), Le Bars Didier(3), Ballanger Bénédicte(2)

1 - CERMEP - Imagerie du vivant (France), 2 - Centre de neuroscience cognitive (France), 3 - CERMEP - Imagerie du vivant (France)

9344

Performance evaluation of a time-of-flight PET/CT scanner with an extended field-of-view using the NEMA NU 2-2007 standard

Costes Nicolas(1), Le Bars Didier(1), Redouté Jérôme(1), Picard Agathe(1), Lavenne Franck(1)

1 - CERMEP - Imagerie du vivant (France)

9345

Validation d'un lit multimodal permettant les acquisitions séquentielles micro-IRM et micro-TEP chez le petit animal

Zimmer Luc(1)(2), Costes Nicolas(2), Bolbos Radu(2), Bouillot Caroline(2), Langlois Jean-baptiste(2)

1 - Centre de Recherche en Neurosciences de Lyon (France), 2 - CERMEP - Imagerie du vivant (France)

9353

Un banc expérimental complet en IRM pour caractériser la dynamique de l'écoulement aortique

Durand Emmanuel, De Rochefort Ludovic, Rodriguez Dima, Khalifé Maya(1)

1 - Imagerie par résonance magnétique médicale et multi-modalités (France)

9364

Time-resolved NIR DOT for preterm infants brain imaging: Depth sensitivity evaluation for different probe geometries

Planat-chrétien Anne(1), Puszka Agathe, Hervé Lionel, Berger Michel, Koenig Anne, Dinten Jean-marc

1 - CEA LETI, MINATEC (France)

9365

L'imagerie biphotonique intravitaire pulmonaire révèle de nouvelles connections cellulaires dans la muqueuse soumise à une infection

Fiole Daniel(1)(2), Deman Pierre(2), Douady Julien(1), Tournier Jean-nicolas(2)

1 - Laboratoire Interdisciplinaire de Physique (France), 2 - Institut de Recherche Biomédicale des Armées (France)

9375

Suivi de la maturation cérébrale du rat nouveau-né *in vivo* par imagerie Q-Ball

Dupont Damien(1), Po Chrystelles, Sebrie Catherine, Gillet Brigitte

1 - Imagerie par Résonance Magnétique Médicale et Multi-Modalités (France)

9384

Metabolic profiling of RG2 glioma using *in vivo* ^1H MRS and *ex vivo* HRMAS ^1H MRS

Fauvelle Florence, Rémy Chantal, Barbier Emmanuel, Maunoir-regimbal Séverine, Farion Régine, Coquery Nicolas, Stupar Vasile(1)(2)

1 - Grenoble MRI Facility IRMaGe (France), 2 - Grenoble Institut des Neurosciences (France)

9386

Acoustic shielding to avoid unwanted prefocal energy deposition during transcostal HIFU liver ablation

Viallon Magalie(1)(2), Becker Christoph(1), Montet Xavier(1), Hopple Jerry(3), Terraz Sylvain(1), Breguet Romain(1), Goget Thomas(1), Morel Denis(4), Vargas Maria Isabel(1), Muller Arnaud(2), Auboiron Vincent(1), Petrusca Lorena(1), Salomir Rares(5)(6)(1)

1 - Department of Radiology, University Hospitals of Geneva (Suisse), 2 - CREATIS (France), 3 - Siemens Therapeutic Ultrasound (Etats-Unis), 4 - Department of Anesthesiology, University Hospitals of Geneva (Suisse), 5 - Inserm, ADR 05 Rhone Alpes, (France), 6 - Faculty of Medicine, University of Geneva (Suisse)

9388

Test-retest reliability of [11C]Flumazenil data acquired using the Delforge partial saturation method

Hammers Alexander(1), Ryvlin Philippe(2), Mauguière François(1), Lavenne Franck(3), Bonnefoi Frédéric(3), Costes Nicolas(3), Bouvard Sandrine(3)(2)

1 - Neurodis (France), 2 - Centre de Recherche en Neurosciences de Lyon (France), 3 - CERMEP-Imagerie du vivant (France)

9390

Intérêt de la prise en compte des inhomogénéités de B1 sur le foie à 3.0 T pour l'estimation des temps de relaxation T1 à partir de séquences FLASH multi-angles

Leporq Benjamin(1), Saint-Jalme Hervé(2), Pilleul Frank(1), Beuf Olivier(1)

1 - Centre de recherche en applications et traitement de l'image pour la santé (France), 2 - Laboratoire Traitement du Signal et de l'Image (France)

9392

Evaluation of EM simulations of RF heating using thermal simulations

Boulli Mélina(1), Warnking Jan(1)

1 - Grenoble Institut des Neurosciences (France)

9394

Utilisation d'une carte d'inhomogénéités du champ statique B0 comme connaissance a priori en Spectroscopie de Résonance Magnétique quantitative bidimensionnelle

Ratiney Hélène(1), Friboulet Denis(1), Grenier Denis(1), Roussel Tangi(1), Martel Dimitri(1)

1 - Centre de recherche en applications et traitement de l'image pour la santé (France)

9395

Quantification de la fraction volumique de graisse avec estimation séparée des temps de relaxations de l'eau et de la graisse à 1.5 et 3.0T chez des patients porteurs d'hépatopathies chroniques

Leporq Benjamin(1), Pilleul Frank(1), Beuf Olivier(1)

1 - Centre de recherche en applications et traitement de l'image pour la santé (France)

9414

Comparison of the performance of the photon counting hybrid pixel camera XPAD3 versus the CCD camera DALSA XR-4 for cone-beam micro-CT

Ouamara Hamid(1), Cassol Brunner Franca(1), Bonissent Alain(1), Boursier Yannick(1), Kronland-martinet Carine(1)(2), Clémens Jean-claude(1), Dupont Mathieu(1), Debarbieux Franck(1)(2), Morel Christian(1)

1 - Centre de Physique des Particules de Marseille (France), 2 - Institut de Biologie du Développement de Marseille Luminy (France)

9415

Imagerie spectrale basée sur la caméra à pixels hybrides XPAD3

Dupont Mathieu(1), Boursier Yannick(1), Cassol Brunner Franca(1), Bonissent Alain(1), Ouamara Hamid(1), Morel Christian(1)

1 - Centre de Physique des Particules de Marseille (France)

9420

Cellular response to heat shock studied by multi confocal Fluorescence Correlation Spectroscopy

Delon Antoine(1), Souchier Catherine(2), Usson Yves(3), Vourc'h Claire(2), Derouard Jacques(1), Wang Irène(1), Herbomel Gaétan(2), Kloster-landsberg Meike(1)

1 - Laboratoire Interdisciplinaire de Physique (France), 2 - Institut Albert Bonniot (France), 3 - Techniques de l'Ingénierie Médicale et de la Complexité (France)

9429

Normalisation of the PET data acquired with the hybrid PET/CT prototype ClearPET/XPAD

Hamonet Margaux(1), Fabiani Thomas(1), Kronland-martinet Carine(1)(2), Debarbieux Franck(1)(2), Cassol Brunner Franca(1), Morel Christian(1)

1 - Centre de Physique des Particules de Marseille (France), 2 - Institut de Biologie du Développement de Marseille Luminy (France)

9468

Capteur RF à 4 canaux pour la détection de signaux BOLD par IRMf de réponses olfactives chez le rat à 7T

Beuf Olivier(1), Litaudon Philippe(2), Ravel Nadine(2), Grenier Denis(1), Perrier Anne Laure(1)

1 - Centre de recherche en applications et traitement de l'image pour la santé (France), 2 - Neurosciences Sensorielles Comportement Cognition (France)

9472

Capteur RF endoluminal incorporant un circuit de découplage actif optique

Ayde Reina(1), Perrier Anne-laure(1), Sablong Raphael(1), Gaborit Gwenaël(2)(3), Duvillaret Lionel(3), Beuf Olivier(1)

1 - Centre de recherche en applications et traitement de l'image pour la santé (France), 2 - Institut de Microélectronique, Electromagnétisme et Photonique - Laboratoire d'Hyperfréquences et Caractérisation (France), 3 - Kapteos (France)

9476

Détection de gradient de conductivité électrique par ultrasons

Lafon Cyril(1), Mari Jean Martial(1), Grasland-mongrain Pol(1)

1 - Laboratoire de Thérapie et Applications des Ultrasons (France)

9485

Démonstrateur d'endoscope hyperspectral en vue d'applications de diagnostic de pathologies du tube digestif

Sabloneg Raphaël(1), Ramgolam Anoop(1), Mahieu-william Laurent(1)

1 - Centre de recherche en applications et traitement de l'image pour la santé (France)

9487

Assessment of RF heating reduction devices for endoluminal MR imaging at 3T

Verret Jean-marie(1)(2), Rabrait Cécile(2), Pilleul Frank(3), Beuf Olivier(1)

1 - Centre de recherche en applications et traitement de l'image pour la santé (France), 2 - Clinical Science Development Group (France), 3 - Département d'imagerie digestive Lyon (France)

9490

New tools for Magnetic Resonance Imaging and Magnetic Resonance Spectroscopy of Drosophila

Joudiou Nicolas(1)

1 - Centre de Biophysique Moléculaire, Orléans (France)

9492

A coil for magnetic resonance microimaging of drosophila at 9.4T

Beloëil Jean-claude(1)

1 - Centre de Biophysique Moléculaire (France)

9494

Développement d'un système de Tomographie Optique Diffuse hyperspectrale résolue en temps de vol du photon de l'activité cérébrale humaine

Lange Frédéric, Montcel Bruno, Mottin Stéphane(1)

1 - Laboratoire Hubert Curien (France)

9497

Study of the effect of a tumor Vascular Disrupting Agent (DMXAA) on U86-MG glioma models in mice using ^1H - ^{13}C filtered MRI using ($\text{U-}^{13}\text{C}$)-glucose

Joudiou Nicolas(1)

1 - Centre de Biophysique Moléculaire (France)

9501

Respiratory gating of MRgHIFU treatments in vivo using in-bore optical tracking system

Salomir Rares(1)(2)(3), Becker Chrostoph(2), Terraz Sylvain(2), Roland Joerg(4), Goget Thomas(3), Muller Arnaud(5), Morel Denis(6), Viallon Magalie(5)(2),

1 - Inserm, ADR 05 Rhône Alpes, (France), 2 - Radiology department, Geneva University Hospital (Suisse), 3 - Faculty of Medicine, University of Geneva (Suisse), 4 - Siemens Healthcare (Allemagne), 5 - CREATIS (France), 6 - Anesthesiology department, Geneva University Hospital (Suisse)

9506

Real-time treatment method with improved MR thermometry of mobile organs by MRgHIFU

Salomir Rares(1)(2), Scheffler Klaus(3)(4), Viallon Magalie(5)(2), Santini Francesco(6), Petrusca Lorena(2), Bieri Oliver(6), Auboiron Vincent(2), Celicanin Zarko(6)

1 - Inserm, ADR05 Rhônes Alpes (France), 2 - Radiology Department, University Hospitals of Geneva (Suisse), 3 - Dept. Neuroimaging, and MP-Physics, University of Tübingen (Allemagne), 4 - MRC Department, MPI for Biological Cybernetics (Allemagne), 5 - CREATIS (France), 6 - Radiological Physics, University of Basel Hospital (Suisse)

9510

MRI measurements of 200 µL intradermal gels using dedicated surface coils at 0.2T

Feuillet Thomas(1)(2), Seurin Marie-josé(1), Levener Olivia(3), Beuf Olivier(2)

1 - Centre d'IRM pour Animaux (France), 2 - Centre de recherche en applications et traitement de l'image pour la santé (France), 3 - Institut Claude Bourgelat (France)

9512

Validation of quantitative parameters of angiogenesis using fluorescence videomicroscopy and DCE-MRI

Fitoussi Victor(1)

1 - Centre de Recherche Cardiovasculaire (France)

9515

Optimization of Multi-pulse Methods in Ultrasound Contrast Imaging

Lin Fanglue(1), Cachard Christian(1), Bernard Adeline(1), Basset Olivier(1)

1 - Centre de recherche en applications et traitement de l'image pour la santé (France)

9520

Comparisons of HR-MRI with µCT arthrography (µCTA) for the morphological assessment of non-human primate models of osteoarthritis

Perrier Anne Laure(1), Chereul Emmanuel(5), Grenier Denis(1), Taborik Fabrice(5), Abdallah Mariam(1), Chuzel Thomas(5), Magnier Luc(5), Martin Stéphane(5), Pesesse Xavier(4), Pietri Sandra(3), Contamin Hugues(2), Beuf Olivier(1)

1 - Centre de recherche en applications et traitement de l'image pour la santé (France), 2 - Cynbiose (France), 3 - Laboratoire de Rhumatologie (Belgique), 4 - Bone Therapeutics (Belgique), 5 - VOXCAN (France)

9566

Partial Volume Estimation in Magnetic Resonance Imaging : a signal-based model

1 - Duché Quentin(1)(2), Saint-Jalmes Hervé(1), Gambarota Giulio(1), Salvado Olivier(2), Acosta Oscar(1), Merlet Isabelle(1)

Laboratoire Traitement du Signal et de l'Image (France), 2 - CSIRO Information and Communication Technologies (Australie)

9574

Développement d'un dispositif d'excitation mécanique à haute fréquence pour l'ERM du petit animal

1 - *Tse Ve Koon Kevin(1), Blanchard Rémy(1), Grenier Denis(1), Beuf Olivier(1)*

Centre de recherche en applications et traitement de l'image pour la santé (France)

9583

Imaging and tracking in 3D gold nanoparticles in cell envirement by using digital heterodyne holography

Gross Michel(1)

1 - Laboratoire Charles Coulomb (France)

9584

Scanner spectral à comptage photonique : Application à l'identification des composants de la plaque d'athérosclérose coronaire.

Boussel Loic(1)(2)(3)(4)(5)

Philippe Coulon (France), 2 - Axel Thran (Allemagne), 3 - Ewald Roessl (Allemagne), 4 - Antoine Millon (France), 5 - Philippe Douek (France)

9585

Real-time online monitoring of the ion range by means of prompt secondary radiations

Zoccarato Yannick(1), Winter Marc(2), Testa Etienne(1), Roehlinghoff Frauke(1)(3)(4), Rinaldi Ilaria(5), Reithinger Valérian(1), Richard M.-h.(1), Ray C.(1), Pinto Marco(1), Parodi Katia(5), Mathez Hervé(1), Létang J.-m.(3), Krimmer Jochen(1), Freud Nicolas(3), Dedes George(1), De Rydt Marieke(1)(6), Della Negra Rodolphe(1), Â deng Shiming(1), Dauvergne D.(1), Dahoumane Mokrane(1), Â caponetto Luigi(1), Brons Stephan(5), Baudot Jérôme(2), Balleyguier Loup(1)

1 - Institut de Physique Nucléaire de Lyon (France), 2 - Institut Pluridisciplinaire Hubert Curien (France), 3 - Centre de recherche en applications et traitement de l'image pour la santé (France), 4 - Ion Beam Applications SA (Belgique), 5 - Heidelberg Ion Beam Therapy Center (Allemagne), 6 - Instituut voor Kern- en Stralingsfysica (Belgique)

9589

Elliptically Polarized Light for Depth Resolved Optical Imaging

Da Silva Anabela(1), Deumié Carole(1), Vanzetta Ivo(2)

1 - Institut FRESNEL (France), 2 - Institut des neurosciences de la timone (France)

9591

3D tracking of gold particles in cell by using heterodyne digital holography

Gross Michel(1)

1 - Laboratoire Charles Coulomb (France)

9592

3T3 cells labeled with 40 nm gold particules imaged by heterodyne holography

Gross Michel(1)

1 - Laboratoire Charles Coulomb (France)

9593

Elastographie-IRM du cerveau par ondes de pression

Tardieu Marion(1), Poirier-quinot Marie(1), Sinkus Ralph(2), Darrasse Luc(1), Maître Xavier(1)

1 - Imagerie par Résonance Magnétique Médicale et Multi-Modalités (France), 2 - Centre de Recherches Biomédicales Bichat-Beaujon (France)

9594

Imagerie ultrasonore médicale par échantillonnage compressé

Lorintiu Oana, Bernard Olivier, Friboulet Denis(1), Liebgott Hervé(2)

1 - Centre de recherche en applications et traitement de l'image pour la santé (France), 2 - Département GEII, IUT, Université Lyon 1 (France)

9595

T2*-Relaxivity Contrast Imaging: First Results

Volk Andreas(1), Schad Lothar, Vautier Julien, Walczak Christine(1), Heilmann Melanie, Sourbron Steven(2)

1 - Institut Curie (France), 2 - Division of Medical Physics, University of Leeds (Royaume-Uni)

9597

Imagerie multiphotonique de la réponse endogène de la matrice extra-cellulaire de tissus pulmonaires humains à travers 2 mètres de fibre optique microstructurée ou à l'aide d'un faisceau de fibres

1 - Louradour Frédéric(1), Bourg-heckly Geneviève(2), Lacombe François(3), Thiberville Luc(4)(5), Vever-bizet Christine(2), Kruglik Sergei(2), Mansuryan Tigran(1), Peyrot Donald(2), Lefort Claire(1), Ducourthial Guillaume(1)

XLIM (France), 2 - Laboratoire Jean PERRIN (France), 3 - Mauna Kea Technologies (France), 4 - Clinique de pneumologie, CHU Rouen (France), 5 - Laboratoire LITIS-QuantIF (France)

9600

Evaluation de méthodes pour la quantification *in vivo* des acides gras hépatiques chez la souris par SRM

Coum Amandine(1)

1 - Laboratoire Traitement du Signal et de l'Image (France)

9602

A Microfluidic Micro-MRI Set-up to Assess the Contrast uptake using Contrast Agents on a Living Cell Monolayer

Gargam Nicolas(1), Raynaud Jean-sebastien(2), Robert Philippe(2), Ginefri Jean-christophe(1), Darrasse Luc(1), Poirier-quinot Marie(1)

1 - IR4M UMR 8081 (France), 2 - guerbet (France)

9603

Dynamic follow-up of the uptake of a targeted nanoemulsion on a cell layer by micro-MRI

Gargam Nicolas(1), Raynaud Jean-sebastien(2), Robert Philippe(2), Ginefri Jean-christophe(1), Darrasse Luc(1), Poirier-quinot Marie(1)

1 - IR4M UMR 8081 (France), 2 - guerbet (France)

9604

Application de l'imagerie thermique pour l'étude de l'étanchéité des restaurations dentaires

Azari Zitouni(1), Bouzid Said(2)

1 - Laboratoire de Biomécanique, Ecole National d'Ingénieur (France), 2 - Laboratoire d'optique appliquée, université Setif Algerie (Algérie)

9625

Amélioration de la durée de vie de fluorophores organiques pour leur utilisation dans des extraits cellulaires

Westbrook Nathalie(1)

1 - Laboratoire Charles Fabry de l'Institut d'Optique (France)

9896

Nucleolin : a nucleolar protein localizing at the mature centriole

Monier Karine(1)

1 - Laboratoire Joliot Curie (France)

9922

Système de transfection ultrasonore sous microscopie confocale

Béra Jean-christophe(1)

1 - Laboratoire d'Applications des Ultrasons à la Thérapie (France)

10032

Imaging lipid order in cell membranes using polarization-resolved fluorescence microscopy

Wang Xiao(1), Kress Alla(1), Savatier Julien(1), Rigneault Hervé(1), Ferrand Patrick(1), Brasselet Sophie(1)

1 - Institut FRESNEL (France)

Session 4 : Traitement des images à travers les échelles et les modalités

9299

Longitudinal Probabilistic Atlas of the Fetal Brain

Pontabry Julien(1), Rousseau François(1), Marc Schweitzer(1), Studholme Colin(2), Koob Mériam(3)(4), Dietemann Jean-louis(3)(4)

1 - Laboratoire des Sciences de l'Image, de l'Informatique et de la Télédétection, équipe MIV (France), 2 - Biomedical Image Computing Group (Etats-Unis), 3 - Laboratoire d'Imagerie et de Neurosciences Cognitives (France), 4 - Service de radiopédiatrie (France)

9326

Scale analysis of multicomponent MRI histograms

Frindel Carole(1), Rousseau David(1), Hannoun Salem(1), Durand-dubief Françoise(1), Cotton François(1), Sappey-marinier Dominique(1)

1 - CREATIS (France)

9337

En connectivité fonctionnelle du cerveau au repos, les hubs du réseau présentent une forte activité métabolique

Achard Sophie(1), Renard Félix(1), Kremer Stéphane(2), Namer Jacques(3), Delon Chantal(4)

1 - Grenoble Images Parole Signal Automatique (France), 2 - Hopital de Hautepierre, Strasbourg (France), 3 - Hopital de Hautepierre, Strasbourg (France), 4 - Grenoble Institut des Neurosciences (France)

9350

Point Set Analysis For Multiscale Histopathological Image Analysis

Loménie Nicolas(1)

1 - Equipe Systèmes Intelligents de Perception (France)

9367

Estimation of in vivo human myocardial fibre strain by integrating tagged and diffusion tensor MRI

Casta Christopher(1), Wang Vicky Yang(2), Croisille Pierre(1), Zhu Yue-min(1), Cowan Bret(2), Young Alistair(2), Nash Martyn(2), Clarysse Patrick(1)

1 - Centre de recherche en applications et traitement de l'image pour la santé (France), 2 - Auckland Bioengineering Institute (Nouvelle-Zélande)

9369

Observation par microscopie optique confocale et quantification par analyse d'images numériques du franchissement de la muqueuse génitale féminine par le virus HIV

Hadjali Yacine(1), Rachel Terrasse(2), Olivier Thomas(3), Palle Sabine(3), Gavet Yann(1), Bourlet Thomas(4), Pozzetto Bruno(4), Pinoli Jean-charles(1)

1 - Ecole Nationale Supérieure des Mines de Saint-Etienne (France), 2 - Groupe Immunité des Muqueuses et Agents Pathogènes, (France), 3 - Centre de Microscopie Confocale Multiphotonique (France), 4 - Groupe Immunité des Muqueuses et Agents Pathogènes (France)

9385

Algorithmes LM-MLEM pour la reconstruction d'images pour la caméra Compton

Prost R.(1), Maxim V.(1), Prasad Rohit(1), Hilaire Estelle(1), Lojacono Xavier(1)

1 - Centre de recherche en applications et traitement de l'image pour la santé (France)

9421

Conception et évaluation d'une géométrie de collimation multi-focale en TEMP pré-clinique

Benoit Didier(1), Buvat Irène(1), Bonte Julien(1), Maitrejean Serge(2)

1 - Imagerie et Modélisation en Neurobiologie et Cancérologie (France), 2 - BIOSPACE LAB (France)

9439

Analyse multi échelle et multi observation pour l'imagerie multi modale en oncologie

Visvikis Dimitris, Hatt Mathieu, Hanzouli Houda(1)

1 - Laboratoire de Traitement de l'Information Medicale (France)

9456

Homogenization in Biophotonics

Mottin Stéphane(1), Panasenko Grigory(2)

1 - Laboratoire Hubert Curien (France), 2 - Institut Camille Jordan (France)

9460

Application of a generalized reconstruction by inversion of coupled systems (GRICS) approach for respiratory motion correction in PET/MRI imaging

Fayad Hadi(1), Odille Freddy(2), Felblinger Jacques(2), Visvikis Dimitris(1)

1 - INSERM UMR1101, LaTIM (France), 2 - Inserm U947, Université de Nancy (France)

9467

Estimer les paramètres de microvascularisation en imagerie de contraste ultrasonore à l'aide une modélisation plus réaliste des données

Bridal S. Lori(1), Dizeux Alexandre, Payen Thomas, Coron Alain, Barrois Guillaume

1 - Laboratoire d'Imagerie Paramétrique (France)

9475

Quantification tridimensionnelle d'images multiphoton de peau humaine in vivo

Decencière Etienne(1), Morard Vincent(1), Dokladal Petr(1), Koudoro Serge(1), Tancrède-bohin Emmanuelle(2), Pena Ana-maria(3), Baldeweck Thérèse(3)

1 - Centre de Morphologie Mathématique (France), 2 - Centre de Recherche Bioclinique, L'Oréal Recherche France (France), 3 - L'Oréal recherche (France)

9560

Anatomical Constraints for 3D Multi-Organ Semi-Automatic Segmentation via Clustering and Graph Cut

Kechichian Razmig(1), Valette Sébastien(1), Desvignes Michel(2), Prost Rémy(1)

1 - Centre de recherche en applications et traitement de l'image pour la santé (France), 2 - Grenoble Images Parole Signal Automatique (France)

9561

Déconvolution aveugle en microscopie de fluorescence 3D

Soulez Ferréol(1)

1 - Centre de Recherche Astrophysique de Lyon (France)

9601

Régularisation spatio-temporelle pour la reconstruction itérative en tomographie dynamique sans estimation de mouvement

Momey Fabien(1)(2), Burnier-mennessier Catherine(2), Thiébaut Eric(1), Desbat Laurent(3), Rit Simon(4)

1 - Centre de Recherche Astrophysique de Lyon (France), 2 - Laboratoire Hubert Curien (France), 3 - Gestes Médico-Chirurgicaux Assistés par Ordinateur/ Laboratoire TIMC / IMAG (France), 4 - Centre de recherche en applications et traitement de l'image pour la santé (France)

9609

Reconstruction non linéaire itératif des images de phase en rayons X

Davidoiu Valentina(1), Sixou Bruno(1), Langer Max(2)(1), Peyrin Françoise(1)(2)

1 - Centre de recherche en applications et traitement de l'image pour la santé (France), 2 - European Synchrotron Radiation Facility (France)

9614

eRWT : une approche générique pour comparer différentes méthodes d'estimation de biomarqueurs à partir d'images médicales, en l'absence de vérité terrain

Garreau Mireille(1), Lalande Alain(2), Lefort Muriel(3), De Cesare Alain(3), Buvat Irène(4), Lebenberg Jessica(5)(3), Frouin Frédérique(3)

1 - Laboratoire Traitement du Signal et de l'Image (France), 2 - Laboratoire Electronique, Informatique et Image (France), 3 - Laboratoire d'Imagerie Fonctionnelle (France), 4 - Imagerie et Modélisation en Neurobiologie et Cancérologie (France), 5 - PRIAM (France)

9622

Reconstruction à angle limité en imagerie par rayons X du petit animal

Barquero Harold, Maitrejean Serge(1), Brasse David(2)

1 - BIOSPACE LAB (France), 2 - Département Recherches Subatomiques (France)

9624

Super resolution of the trabecular bone images with different regularization methods

Peyrin Françoise(1)(2), Pialat Jean Baptiste(3), Sixou Bruno(2), Toma Alina(2)

1 - European Synchrotron Radiation Facility (France), 2 - Centre de recherche en applications et traitement de l'image pour la santé (France), 3 - INSERM U1033 (France)

9630

3D MR - Histology Registration: examining the effects of shear, tilt and shrinkage

Prost Rémy(1), Mege-lechevallier Florence(2), Rouvière Olivier(3)(2), Hughes Cecilia

1 - Centre de recherche en applications et traitement de l'image pour la santé (France), 2 - Département d'Imagerie Urinaire et Vasculaire (France), 3 - LabTAU (France)

Session 5 : Diagnostic, thérapie et suivi médical assistés par l'imagerie

9275

New system for non-invasive exploration of synthesized collagen network inside biomaterials functionalized by mesenchymal stem cells dedicated to clinical implantation in cartilage lesion

Henrionnet Christel(1), Dumas Dominique(2), Hupont Sébastien(2), Werkmeister Elisabeth(3), Hentsch Daniel(4), Vonesch Jean-luc(4), Netter Patrick(1), Magdalou Jacques(1), Stoltz Jean-françois(1), Gillet Pierre(1), Pinzano Astrid(1)

1 - Laboratoire de Physiopathologie, Pharmacologie et Ingénierie Articulaires (France), 2 - Plate-forme d'Imagerie Cellulaire PTIBC-IBISA (France), 3 - MICPal Facility - IFR 142 CNRS- UMR 8161- Institut Pasteur de Lille (France), 4 - Plate-Forme Technolo

9291

Tumor cell migration as detected by microscopic 3D-DTI and 2-photon microscopy in a new mouse model of glioblastoma

Gimenez Ulysse(1), Perles-barbacaru Adriana(1), Van Der Sanden Boudewijn(1), Wion Didier(1), Nissou Marie-france(1), Appaix Florence(2), Berger Francois(1), Lahrech Hana(1)

1 - Clinatec (France), 2 - GIN (France)

9328

Aide au diagnostic du lymphome en imagerie hybride TEP/TDM : distinction entre fixations cancéreuses et inflammatoires

Ricard Fabien(1), Niaf Emilie(2), Rogez Matthieu(2), Lartizien Carole(2)

1 - Service de Médecine Nucléaire (France), 2 - Centre de recherche en applications et traitement de l'image pour la santé (France)

9334

Treatment with bone marrow-derived alternatively activated macrophages after transient ischemia: a USPIO-enhanced longitudinal MRI study in rats

Riou Adrien, Chauveau Fabien, Cho Tae-hee, Marinescu Marilena, Nataf Serge, Moisan Anaick, Rémy Chantal, Barbier Emmanuel, Nighoghossian Norbert, Wiart Marlène(1), Berthezene Yves

1 - Centre de Recherche en Acquisition et Traitement de l'Image pour la Santé (France)

9355

Utilisation d'une camera TOF pour la synchronisation et la modélisation du mouvement respiratoire

Wentz Thomas(1), Fayad Hadi, Bert Julien, Boussion Nicolas, Visvikis Dimitris

1 - Laboratoire de Traitement de l'Information Medicale (France)

9382

Intratumor heterogeneity characterization in 18F-FDG PET images predicts overall survival and recurrence in head and neck cancer

Tixier Florent(1), Cheze-le-rest Catherine, Hatt Mathieu, Yen Tzu-chen, Corcos Laurent, Visvikis Dimitris

1 - Laboratoire de Traitement de l'Information Medicale (France)

9393

Can white matter [11C]flumazenil and [18FDG] PET predict postoperative outcome after temporal lobe surgery in patients with hippocampal sclerosis?

Yankam Njiwa Josianne(1), Bouvard Sandrine(2)(3), Catenoix Hélène(4), Mauguière François(5), Ryvlin Philippe(3), Hammers Alexander(6)

1 - Chaire d'excellence en neuroimagerie fonctionnelle (France), 2 - CERMÉP-Imagerie du vivant (France), 3 - Centre de Recherche en Neurosciences de Lyon (France), 4 - Hospices Civils de Lyon (France), 5 - Neurodis (France), 6 - Chaire de neuroimagerie fondation Neurodis

9481

Experimental observation of pre-focal heating patterns around the ribs in MRgHIFU trans-costal liver ablation

Salomir Rares(1)(2)(3), Becker Christoph(3), Goget Thomas(2), Muller Arnaud(4), Auboironoux Vincent(2), Viallon Magalie(5)(3), Petrusca Lorena(2)

1 - Inserm, ADR 05 Rhône Alpes, (France), 2 - Faculty of Medicine, University of Geneva (Suisse), 3 - Department of Radiology, University Hospitals of Geneva (Suisse), 4 - Creatis (France), 5 - CREATIS (France)

9489

Estimation de Flux Sanguin par analyse de Contraste de Phase en ARM

Hauss Stéphane, Navarro Laurent, Eker Omer, Courbebaisse Guy(1)

1 - Centre de recherche en applications et traitement de l'image pour la santé (France)

9491

Multimodal spinal cord MRI for temporal characterization of posttraumatic vascular, metabolic and structural events in a mouse model of spinal cord injury

Callot Virginie(1), Laurin Jérôme(2), Prevost Valentin(1), Tachroud Mohamed(1), Maues De Paula André(3), Cozzzone Patrick(1), Duhamel Guillaume(1)

1 - Centre de Résonance Magnétique Biologique et Médicale (France), 2 - Institut des Sciences du Mouvement (France), 3 - Service d'Anatomie Pathologique, Hôpital de la Timone (France)

9514

CREANUIS : un nouvel outil de simulation ultrasonore dédié à l'imagerie non-linéaire

Cachard Christian(1), Basset Olivier(1), Varray François(1)

1 - Creatis (France)

9519

Evaluation clinique d'un système d'aide au diagnostic pour la caractérisation du cancer de la prostate en IRM multi-paramétrique

Rouvière Olivier(1)(2), Mege-lechevallier Florence(1), Rabilloud Murielle(3), Roche Laurent(3), Bratan Flavie(1), Lartizien Carole(4), Niaf Emilie(2)(4)

1 - Département d'Imagerie Urinaire et Vasculaire (France), 2 - LabTAU (France), 3 - Service de Biostatistiques (France), 4 - Centre de recherche en applications et traitement de l'image pour la santé (France)

9537

Predictive value of tumor uptake heterogeneity spatial patterns in sequential 18F-FDG PET for rectal cancer radio-chemotherapy response monitoring

Visvikis Dimitris, Lambin Philippe, Lammering Guido, Van Stiphout Ruud, Cheze-le Rest Catherine, Tixier Florent, Hatt Mathieu(1)

1 - LaTIM (France)

9571

PET imaging of remote metabolic disturbances following focal stroke in the non-human primate

Bihel Ebeline(1), Valable Samuel(1), Toutain Jerome(1), Roussel Simon(1), Divoux Didier(1), Bernaudin Myriam(1), Touzani Omar(1)

1 - UMR 6301 ISTCT, CERVOxy Group (France)

9576

Evaluation of a new qBOLD approach to map local blood oxygen saturation in arteriovenous malformation patients

Bouvier Julien(1)(2), Tahon Florence(3), Tropres Irène(1), Chechin David(2), Lebas Jean-françois(3), Krainik Alexandre(3), Barbier Emmanuel(1)

1 - Grenoble Institut des Neurosciences (France), 2 - Philips Healthcare (France), 3 - CHU Grenoble (France)

9588

Traitemennt du cancer par Electro-chimio-Thérapie assistée par imagerie de fluorescence

Josserand Véronique(1), Keramidas Michelle(1), Righini Christian, Vollaire Julien, Bellard

Elisabeth, Teissie Justin, Golzio Murielle, Coll Jean-luc

1 - Institut Albert Bonniot (France)

9612

Nonlinear microscopy for the evaluation of liver fibrosis in chronic hepatitis C infection

Sevrain David(1)

1 - Laboratoire de Spectrométrie et Optique Laser (France)

9615

Evaluation of bio-integration of rat knee cartilage repair using in vivo MRI at 7T

Beuf Olivier(1), Pinzano Astrid(2), Gillet Pierre(2), Grenier Denis(1), Perrier Anne-laure(1), Roeder Emilie(2), Goebel Jean Christophe(1)

1 - Centre de recherche en applications et traitement de l'image pour la santé (France), 2 - PPIA (France)

9618

Estimation 2D du mouvement de la paroi carotidienne sur des séquences d'images US RF tagguées

Vray Didier(1), Sérusclat André(2), Liebgott Hervé(1), Zahnd Guillaume(1), Salles Sébastien(1)

1 - Centre de recherche en applications et traitement de l'image pour la santé (France), 2 - Hopital CardioThoracique et Vasculaire Louis Pradel (France)

9627

Reproductibilité des mesures d'élastographie de cisaillement dans le foie pathologique

Lucidarme Olivier(1)(2), Frouin Frédérique(2), Lefort Muriel(2), Labit Mickael(2), Pellot-barakat Claire(2)

1 - Service de Radiologie Polyvalente Diagnostique et Oncologique (France), 2 - Laboratoire d'Imagerie Fonctionnelle (France)

9683

IRM multi-échos 3D couplée à une technique de segmentation automatique :Quantification des fractions volumiques graisseuse et musculaire ainsi que les temps de relaxation T1 et T2*

Leporq Benjamin(1), Le Troter Arnaud(2), Yann Le Fur(2), Salort-campana Emmanuelle(3), Cozzzone Patrick(2), Beuf Olivier(1), Bendahan David(2)

1 - Centre de recherche en applications et traitement de l'image pour la santé (France), 2 - Centre de résonance magnétique biologique et médicale (France), 3 - Centre de référence des maladies neuromusculaire et de la SLA (France)

9690

Improved Quantification of Abnormal Aortic Flow in 3D compared to standard 2D Approach

Saloner David(1), Dyverfeldt Petter(2)(1), Wrenn Jarrett(1), Hope Michael(1), Sigovan Monica(3)(1)

1 - Department of Radiology and Biomedical Imaging, UCSF (Etats-Unis), 2 - Linkoping University, Likoping (Suède), 3 - Centre de recherche en applications et traitement de l'image pour la santé (France)

Session 6 : Bases de données hétérogènes et calculs distribués

9546

Design of an ontology for the annotation of object models used for medical image simulation

Gibaud Bernard(1)

1 - Laboratoire Traitement du Signal et de l'Image (France)

9596

Shanoir : SHAring NeurOImaging Resources: 2 years of experience in managing data of a neuroimaging MRI research platform

Guillaumont Justine(1), Renard Guillaume(2), Bannier Elise(2), Corouge Isabelle(2), Barillot Christian(2)

1 - Visages U746, INSERM, INRIA, (IRISA CNRS6074) (France), 2 - VISAGES : Vision Action et Gestion d'Informations en Santé (France)

Communications orales

Session 1 :

Les nouvelles microscopies appliquées au vivant

Microscopie non linéaire multimodale des tissus et de la morphogenèse embryonnaireE. Beaurepaire¹¹Laboratoire d'optique et biosciences, Ecole Polytechnique - CNRS – INSERM, www.lob.polytechnique.fr

Understanding the dynamics at play during embryonic and tissue development requires tissue-scale measurements with subcellular resolution. Nonlinear microscopy is attractive for live studies because it provides deep 3D imaging and provides different complementary contrast mechanisms. Coherent signals such as second- and third-harmonic generation (SHG, THG) provide structural information from unstained tissues, and can be used in conjunction with fluorescence (2PEF) imaging. SHG signals are obtained from dense organized structures such as collagen fibrils, myofilaments, or polarized microtubules assemblies. THG signals are obtained from heterogeneities such as lipid/water interfaces and provide 3D images of the tissue morphology. We will discuss these principles and applications such as imaging the microstructure of intact unstained corneas, and reconstructing the early development of zebrafish embryos. Finally, we will discuss ongoing efforts to improve the capabilities of nonlinear microscopy for imaging developing tissues at advanced stages, such as wavefront control for aberration correction and simultaneous excitation of multiple fluorescent proteins.

References

- [1] "Advances in multiphoton microscopy for imaging embryos"; Supatto, Truong, Debarre & Beaurepaire; Curr. Opin. Gen. Dev. 21 538 (2011).
- [2] "Multimodal nonlinear imaging of the human cornea"; Aptel, Olivier, Deniset-Besseau, Legeais, Plamann, Schanne-Klein & Beaurepaire; Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. 51, 2459 (2010).
- [3] "Cell lineage reconstruction of early zebrafish embryos using label-free nonlinear microscopy"; Olivier, Luengo-Oroz, Duloquin, Faure, Savy, Veilleux, Solinas, Débarre, Bourgine, Santos, Peyriéras & Beaurepaire; Science 339, 967 (2010).
- [4] "3D resolved mapping of optical aberrations in thick samples"; Zeng, Mahou, Schanne-Klein, Beaurepaire & Débarre; Biomed. Opt. Express 3, 1898 (2012).
- [5] "Multicolor two-photon tissue imaging by wavelength mixing"; Mahou, Zimmerley, Loulier, Matho, Labroille, Morin, Supatto, Livet, Débarre & Beaurepaire; Nat. Methods 9 815 (2012).

Multiscale characterization of nanostructured hierarchical materials using synchrotron quantitative scanning-SAXS imaging

A Gourrier^{1,2}, M. Burghammer², O. Bunk³, I. Reiche⁴, G. Boivin⁵

¹Laboratoire Interdisciplinaire de Physique (LIPHY) UMR 5588 CNRS Université Joseph Fourier, Grenoble, France

²European Synchrotron Radiation Facility (ESRF), Grenoble, France

³Swiss Light Source (SLS), Paul Scherrer Institute, Villigen, Switzerland

⁴Laboratoire d'Archéologie Moléculaire et Structurale (LAMS), UMR 8220 CNRS Université Pierre et Marie Curie, Paris, France

⁵INSERM U1033, Université de Lyon, France

Introduction

The characterization of many biological materials often represents a difficult challenge due to their composite nature at the nanoscale and their high degree of structural hierarchy. Bone is a typical example which represents an additional difficulty because of the variety of morphologies encountered from the nanometer to the centimeter scale. This complexity arises from the physiological processes associated with the synthesis, mechanical adaptation to external loads and self-healing. As a result, there is a growing consensus in the biomedical field over the necessity of a multiscale approach to evaluate the effects of bone pathologies. The molecular and supra-molecular levels, in particular, are currently receiving a lot of attention. At these scales, bone consists of complex arrangements of collagen microfibrils mineralized with calcium phosphate nanoparticles. Precisely how this nanoscale organization affects the mechanical properties of the higher hierarchical levels is still poorly understood.

Material and Method

Bone sections of 5-100 µm in thickness were analyzed by quantitative scanning-SAXS imaging (qsSAXSI). This technique relies on scanning a sample with a monochromatic X-ray beam much smaller than the sample dimensions (typically 100 nm- 10 µm), and recording the scattered intensity in forward geometry¹. The images acquired at small scattering angles (SAXS) provide atomic to nanoscale resolution. They are reduced to scalar values by various algorithms based on the theory of SAXS² and mapped as a function of scan coordinates to produce the final images. Using state-of-the-art X-ray optics and detectors with synchrotron sources, nanoscale fluctuations in density within a size range of ~1-100 nm can be mapped with very high spatial resolution over sample regions comparable to histology (cm²). This new method is therefore highly competitive and bridges the gap between TEM or AFM and high resolution microscopies.

Results

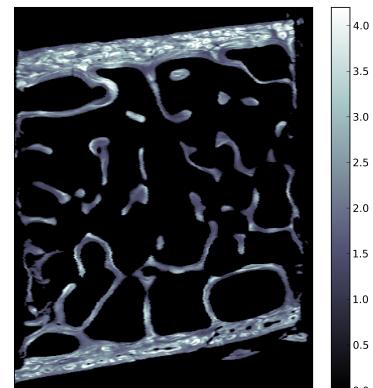
Various results will be presented from fundamental, biomedical and archaeological studies to demonstrate the potential of this method. In particular, the size, organization and orientation of the mineral nanoparticles in bone will be described in various healthy and pathological/altered conditions.

Conclusion

qsSAXSI is a powerful tool for nanoscale analysis of biological materials and could become a reference technique for ex-vivo imaging of bone tissues.

References

1. A. Gourrier *et al.* J. Appl. Crystallogr. 40 :78-82, 2007
2. A. Gourrier *et al.* J. Appl. Crystallogr. 43 :1385-1392, 2010



qsSAXS Image of the particle size (nm) of a thin section (6 (H) x 10 (V) mm² x 50 µm) iliac crest biopsy () of a sheep model.

Understanding and engineering improved phototransformable fluorescent proteins for advanced microscopy

V. Adam¹, C. Duan¹, M. Byrdin¹, and D. Bourgeois¹

¹*Pixel Team, Institut de Biologie Structurale Jean-Pierre Ebel, CEA/CNRS/UJF, Grenoble, France and Institut de Recherches en Technologies et Sciences pour le Vivant, CNRS/CEA/INRA/UJF, Grenoble, France*

Phototransformable fluorescent proteins (PTFPs) have received considerable attention in recent years because they enable many new exciting modalities in fluorescence microscopy and biotechnology. Upon illumination with proper actinic light, PTFPs are amenable to long-lived transitions between various fluorescent or nonfluorescent states, resulting in processes known as photoactivation, photoconversion or photoswitching. These processes add to photoblinking and photobleaching, which universally characterize fluorescent molecules. The highly complex photophysical behavior of PTFPs can be investigated at the molecular scale by a combination of X-ray crystallography, *in crystallo* optical spectroscopy and simulation tools such as quantum-chemistry/molecular-mechanics hybrid approaches. In this way, it is possible to decipher the often subtle conformational dynamics driving phototransformations, eventually facilitating the rational engineering of better performing markers for advanced nanoscopy or biotechnological applications. We will detail how bi-photochromic fluorescent proteins such as IrisFP (1) or NijiFP (2) behave mechanistically, opening the door to new exciting modalities for their applications at the single molecule level.

References

- 1 Adam V., Lelimousin M., Boehme S., Desfonds G., Nienhaus K. et al. (2008) Structural characterization of IrisFP, an optical highlighter undergoing multiple photo-induced transformations. Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. 105, 18343-18348.
- 2 Adam V., Moeyaert B., David C. C., Mizuno H., Lelimousin M. et al. (2011) Rational design of photoconvertible and biphotochromic fluorescent proteins for advanced microscopy applications. Chem. Biol. 18, 1241-1251.

R. Jaffiol, C. Vézy, M. Cardoso Dos Santos

Laboratoire de Nanotechnologie et d'Instrumentation Optique, CNRS UMR 6279 - STMR, Institut Charles Delaunay, Université de Technologie de Troyes, 12 rue Marie Curie, BP 2060, 10 010 Troyes cedex, France

Introduction

Nous proposons une nouvelle méthode d'illumination locale basée sur une activation du substrat, permettant de sonder des échantillons biologiques à l'échelle nanométrique. Cette illumination locale est obtenue via un transfert d'énergie non radiatif. Nous démontrons la potentialité de cette nouvelle technique à travers deux exemples d'application : l'imagerie des points d'adhésion d'une cellule sur une surface et la spectroscopie de corrélation de fluorescence dans un volume de taille nanométrique.

Matériel et Méthode

La technique que nous proposons repose uniquement sur une nouvelle architecture du substrat, compatible avec une observation de fluorescence conventionnelle, par exemple à l'aide d'un microscope grand champ ou confocal. Cette technique vise à réduire, jusqu'à des dimensions nanométriques ($\leq 10\text{nm}$), l'extension axiale du volume d'observation en microscopie de fluorescence et en spectroscopie de fluorescence. Pour cela, on propose de suivre une voie originale : elle repose sur une "activation" du substrat via une fonctionnalisation de surface à l'aide de nano-objets luminescents, par exemple des boîtes quantiques (QDs). La surface des lamelles couvre-objet est recouverte d'un film de PMMA, fortement dopé en QDs, d'environ 10nm d'épaisseur. Afin de s'affranchir de la limite imposée par la diffraction, l'excitation de l'échantillon ne se fait pas directement avec une source laser focalisée, mais via un transfert d'énergie non radiatif de type FRET (Förster Resonant Energy Transfer), des nano-objets présents sur la surface, autrement dit des QDs vers des fluorophores dispersés dans l'échantillon biologique. En raison de la portée nanométrique du transfert d'énergie, ce choix original d'illumination ouvre la possibilité de détecter des espèces chimiques avec une très grande résolution axiale. Ainsi, cette illumination à l'échelle nanométrique peut être atteinte tout simplement en modifiant la surface de l'échantillon. Le substrat ainsi modifié apporte au microscope de nouvelles capacités, comme celle permettant d'observer sélectivement les points d'adhésion d'une cellule vivante sur un substrat (Fig. 1).

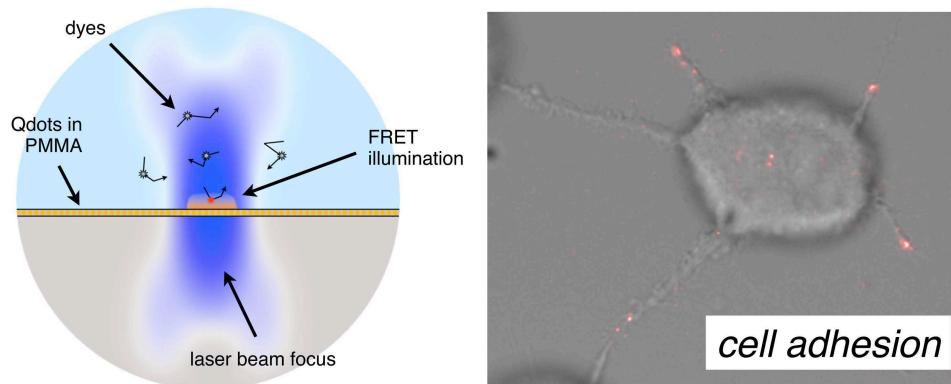


Fig. 1 : Illustration de notre technique l'illumination locale via un transfert d'énergie non radiatif (noté FRET sur la figure). A gauche l'image d'une cellule sur une surface où apparaissent en rouge les points de contacts avec le substrat.

Référence

P. Winckler, R. Jaffiol, J. Plain, P. Royer, "Nonradiative excitation fluorescence: probing volume down to the attolitre", *J. of Phys. Chem. Letters*, vol 1, n°16, p2451-2454, 2010.

Infrared spectral imaging as a novel approach for automated histopathological recognition in colon cancer diagnosis

J Nallala¹, MD Diebold^{1,2}, C Gobinet¹, V Untereiner¹, O Bouché^{1,3}, M Manfait¹, GD Sockalingum¹, O Piot¹

¹Equipe MéDIAN-Biophotonique et Technologies pour la Santé, MEDyC CNRS FRE 3481, Université de Reims Champagne-Ardenne, UFR de Pharmacie, 51 rue Cognacq-Jay, 51096 Reims cedex, France

²Laboratoire d'Anatomie et Cytologie Pathologiques, CHU Robert Debré, Avenue du Général Koenig, 51092 Reims Cedex, France

³Service d'Hépato Gastroentérologie et de Cancérologie Digestive, CHU Robert Debré, Avenue du Général Koenig, 51092 Reims Cedex, France

Introduction

Innovative diagnostic methods are the need of the hour that could complement the ‘gold standard’ histopathology for cancer diagnosis especially in highly incident cancers such as the colorectal. In this perspective, biophotonic approach of infrared (IR) spectral micro-imaging is one of the candidate methods, as it provides spectral fingerprint of cell and tissue biochemistry in a non-destructive and label-free manner. Hence, we propose a novel concept of IR spectral histopathology of paraffinized colon tissue arrays, with the aims to: (a) identify spectral signatures specific of colon histological structures and, (b) exploit these signatures to develop a prediction model comprising potential diagnostic markers for rapid and automated colorectal cancer diagnosis.

Material and Method

Sixty-eight colonic samples (39 moderately differentiated adenocarcinoma and 29 non-tumoral) from 32 patients in the form of paraffinized tissue array (single spot: 3mm diameter x 10µm thick) stabilized in an agarose matrix were analyzed by IR imaging (Spotlight 300, Perkin Elmer, France), without any chemical deparaffinization. Instead a mathematical deparaffinization, based on extended multiplicative signal correction was implemented, to neutralize the spectral interferences from paraffin and agarose.

Results

Multivariate clustering of these digitally deparaffinized high-resolution spectral images in comparison to conventionally stained tissues, enabled to identify, based on their intrinsic molecular composition, important normal colonic characteristics like the well-differentiated normal epithelium, the peri-cryptal fibroblastic sheath (PCFS) corresponding to the basement membrane of colonic glands; and malignant characteristics like the loss of differentiation of normal epithelium, irregular PCFS, tumor-associated stroma.

A robust prediction model (comprising 86802 spectra) based on linear discriminant analysis (using 9 samples from 6 patients), was constructed using the clustering results, and validated on the remaining 59 blind samples, involving a huge bank of 3620287 spectra. The prediction showed 100 % sensitivity, while 10 out of 29 histopathologically non-tumoral samples were identified as having tumor pixels. Further tests are under way to analyze these false positive samples as they were either present in the peri-tumoral regions, or appear having an inflammatory signature. Important features difficult to discern by conventional histopathology like tumor budding, tumor-stroma interphase, and minute inflammation, were easily identified by this methodology. Simultaneously, statistical tests on the IR spectra revealed important changes that could be associated with biomolecular alterations during malignancy.

Conclusion

Thus, via a single analysis, rapid molecular level diagnosis of the tissue is obtained in a label-free and non-destructive manner. This study demonstrates the potential of IR spectral micro-imaging combined with multivariate statistical image analysis as a complementary tool to conventional histopathology, for an automated and objective cancer diagnosis.

Hongjiang Wei¹, Magalie Viallon^{1,2}, Bénédicte Delattre¹, Pierre Croisille^{1,3}, Yuemin Zhu¹

¹CREATIS; CNRS (UMR 5220); INSERM (U1044); INSA Lyon; University of Lyon, France

²Department of Radiology, University Hospitals of Geneva, Geneva, Switzerland

³Jean-Monnet University, Saint-Etienne, France

Introduction

The orientation of left ventricular (LV) fibres changes smoothly from a left-handed helix in the subepicardium to a right-handed helix in the subendocardium. This structure contributes significantly to efficient ventricular function and is subject to remodelling and disarray in the presence of disease. Diffusion tensor magnetic resonance imaging (DTI) provides a non-invasive approach for the three-dimensional (3D) depiction of the myocardial fiber architecture. The biggest problem for *in vivo* cardiac DTI is the signal loss caused by both respiration and cardiac motion. Recently, to cope with human physiological motion problem, a robust method called PCATMIP was proposed [1] that uses principal component analysis (PCA) as a filter to improve the signal-to-noise ratio (SNR) and temporal maximum intensity projection (TMIP) approach to compensate the signal loss. While performing cardiac DTI during subject's breath-hold is time consuming and may be not realistic to apply in clinical routine, achieving acquisitions during subject free-breathing represents an ultimate objective. In this study, our objective was to obtain *in vivo* 3D fiber architecture of the human heart with free-breathing.

Material and Method

We used a single-shot spin-echo EPI sequence with optimized twice-refocused diffusion encoding gradient, and improved fat suppression using a gradient reversal technique, a low bandwidth excitation RF pulse and a global phase correction. To cope with intensity fluctuations arising due to motion, our strategy was to acquire multiple diffusion weighted (DW) images for a given slice position at different time points during the diastole in each consecutive cardiac cycle; after each time frame was acquired, the trigger delay was increased by 10 milliseconds to the next time point. At each trigger delay, we obtained 12 direction DW images and a reference image with null gradient (Fig. 1 for acquisition scheme). We acquired 10 DT-MRI slices across the whole heart (no inter-slice gap). All that led to the acquisition of 1200 images and a total scan time of about 20 minutes at an average heart rate of 60 bpm. The main MRI parameters are: TE/TR = 51/100 ms, spatial resolution = 2.6 x 2.6 x 6 mm³, acceleration rate = 2 (parallel imaging, GRAPPA), partial Fourier = 6/8, base resolution matrix = 90 x 160, bandwidth = 1302 Hz, and b = 200 s/mm². Free-breathing DWI scans were then registered using a non-rigid registration algorithm that preserves high accuracy and consistency of the data [2]. Finally, PCATMIP algorithm was applied to the registered images.

Results

Lost signal was recovered and the intensity of the DW images was substantially enhanced (Fig. 2a). The tensor field and 3D fiber architecture are measured over the LV (Fig. 2b). The myocardial fiber orientation of the LV wall showed a circularly symmetric pattern, which reflects well the rotation characteristic of cardiac fibers.

Conclusion

This study demonstrates the feasibility of *in vivo* cardiac DTI in healthy volunteers. The PCATMIP can be used to minimize the motion-induced signal loss in *in vivo* cardiac DTI. The proposed acquisition and processing scheme allows the *in vivo* cardiac 3D fiber architecture to be obtained while the subject was freely breathing, which opens interesting perspectives for *in vivo* cardiac DTI with free-breathing and clinical applications.

References

1. S. Rapacchi et al., *Invest Radiol*, 15:1–8, 2011.
2. C. Guetter et al., *IEEE ISBI*, pp. 1–4, Mar. 2011.

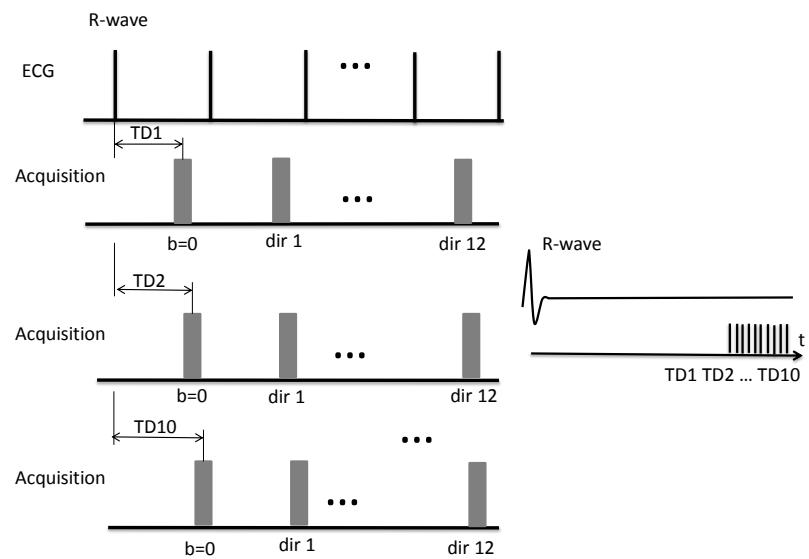


Fig. 1: *In vivocardiac DTI acquisition scheme.*

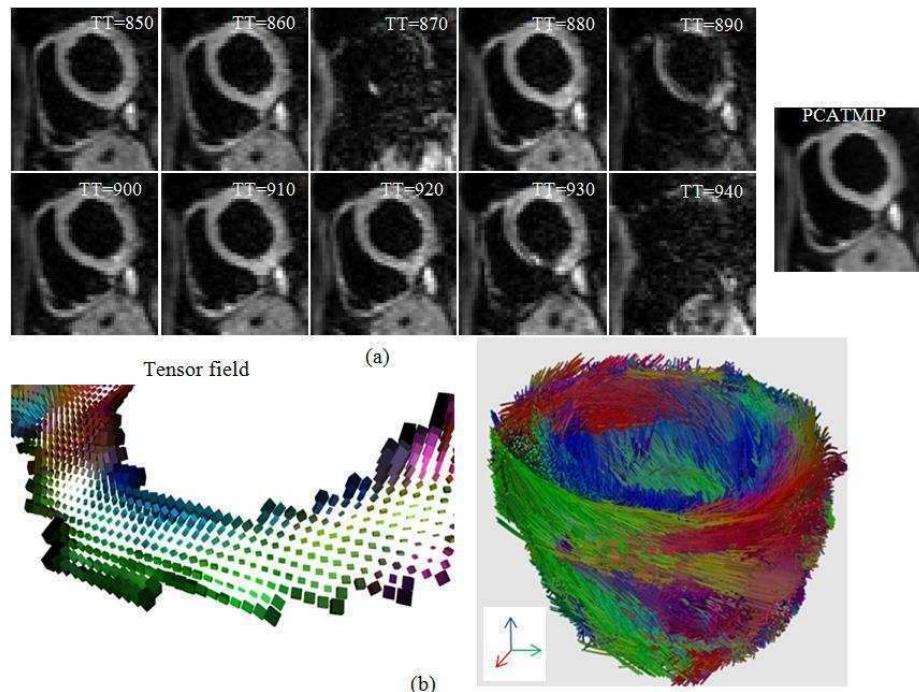


Fig. 2: (a)Free-breathing cardiac DW images from 10 repetitions acquired at different time points and processed using PCATMIP. (b) Tensor field and 3D fiber architecture of the LV.

Lensfree imaging, a new framework for bio imaging

C.P. Allier¹, S. Vinjimore¹, Y. Hennequin¹, E. Schultz¹, S. Strola¹,
N. Picollet d'Hahan², M. Dolega², F. Navarro³, J-M Dinten¹

¹CEA DRT Leti DTBS/STD/LISA, ²CEA DSV IRTSV/BGE/BIOMIC, ³CEA DRT Leti DTBS/SBSC/LBAM

Introduction

Research is continuously developing new imaging methods to better understand the structure and function of biological systems at the microscopic scale. Despite our ability to peer through increasingly powerful optical instruments, fundamental biology questions remain to be answered at larger scales.

Hence we present an alternative *lensfree imaging* method bringing new perspectives for the characterization of biological systems. This new concept takes the opposite direction of recent developments in microscopy which focus mainly on high resolution achievements. It aims at:

- Multiscale observation capability across two orders of magnitude, e.g. tissues and cells, bacteria and viruses;
- Large field of view >20 mm²;
- Live capture or time-lapse capability over long time periods;
- Simplicity of use, small form factor and low cost <200€.

At CEA-Leti, we are developing *lensfree imaging* methods complying with these criteria since 2009. In this presentation I will demonstrate the capabilities of *lensfree imaging* and describe the innovative technologies that underpin its feasibility.

Material and Method

The technique is based on real-time/online holography as invented by Gabor [1]. Albeit the method exists since 1970, the recent development of digital sensors, popularized by their use in cameras, helped realize the full potential of this method in the recent years [2]. When illuminated with coherent light, biological objects diffract the incident wave and produce interferences that can be recorded by a sensor. For bacteria and viruses, we use a thin wetting film that produces axicon-like liquid micro-lenses on top of every single object and enhance their contrast for detection. For imaging larger objects (>5 µm) like eukaryotic cells, back-propagating the recorded light intensity modulations can reveal the diffracting elements at the micron size.

Results

Under wetting film conditions, we show that standard CMOS sensors are able to detect from single bacterium e.g. *E.coli* [3], *Bacillus subtilis* down to single viral particle e.g. Baculovirus Granulovirus (CpGV, 200 nm) with a very large signal to noise ratio (>30) over a very large field of view (24mm²). We present foreseen applications of this detection. For larger cells, the resolution of lensfree imaging is about 1-2 µm and competes with low magnification microscopy. We show however that the technique offers unique advantages for cell imaging:

- the field of view can cover several tens of mm² (10,000 cells)
- the possibility of performing label-free measurements (cell nucleus, thickness, adhesion and motility).

Because of its small size the system can be placed inside an incubator to follow cell culture. In particular we have monitored prostatic 3D cell culture allowing us to study e.g. the polarization of prostatic tissue. This is the first ever application of lensfree imaging to 3D cell culture.

Conclusion

We demonstrate the capabilities of a new imaging system that allows detecting/imaging biological entities ranging from middle size viruses (200 nm) to cells and more complex systems like tissues. The ability to reach micron size resolution across a large field of view gives an unprecedented insight over statistically significant populations and has repercussions for our understanding of biological systems at intermediate scales.

References

1. D. Gabor, "Microscopy by Reconstructed Wave-Fronts", Proceedings of the Royal Society of London. Series A, Mathematical and Physical Sciences Vol. 197, No. 1051 (Jul. 7, 1949), pp. 454-487
2. S. Seo, T.-W. Su, A. Erlinger, and A. Ozcan, "Multi-color LUCAS: Lensfree On-chip Cytometry Using Tunable Monochromatic Illumination and Digital Noise Reduction," Cellular and Molecular Bioengineering", pp. 146–156, 2008.
3. C. P. Allier, G. Hiernard, V. Poher, and J. M. Dinten, "Bacteria detection with thin wetting film lensless imaging.", Biomedical optics express, vol. 1, no. 3, pp. 762–770, Jan. 2010.

Session des industriels



Radio-imagerie moléculaire pré-clinique multimodale

GL, SM,

Biospace lab, 13 rue Georges Auric, 75019 Paris

Dans cette présentation nous nous attacherons à décrire les différentes modalités d'imagerie moléculaire basées sur l'utilisation de radiosondes. Nous mettrons en évidence les passerelles et complémentarité existant entre les techniques « *in vivo* » telles l'imagerie TEP, l'imagerie SPECT, l'imagerie Optique et les techniques « *in vitro* » comme l'autoradiographie.

Traditionnellement, l'imagerie scintigraphique, qu'il s'agisse d'imagerie TEP ou SPECT est complémentée par l'autoradiographie pour d'évidentes raisons de validation à haute résolution et à haute sensibilité des résultats obtenus « *in vivo* ». En TEP, la formation d'une image autoradiographique se fait par la détection directe des positrons, tandis qu'en SPECT, elle se fait par le biais de la détection des électrons de conversion interne, alternatifs à l'émission gamma. Hormis, les finalités premières de résolution et de sensibilité, les imageries duales TEP-autoradiographie et SPECT-autoradiographie peuvent apporter d'autres types d'informations à travers des fonctionnalités additionnelles comme la détection et la séparation de plusieurs traceurs. Il est ainsi possible de réaliser des expériences croisées entre traceurs SPECT et traceurs TEP, plus délicates à effectuer « *in vivo* ». Cette bi-modalité est aujourd'hui pratiquée dans tous les domaines d'application où des traceurs de médecine nucléaire sont utilisés (cardiologie, oncologie, neurologie..)

Depuis quelques années, une autre technique de détection des radio-traceurs est apparue et tend à prendre une place d'importance de par sa simplicité d'utilisation : l'imagerie Cerenkov. Basée sur la détection des photons lumineux émis lorsqu'une particule chargée dépasse la vitesse de la lumière dans les milieux biologique, cette imagerie Cerenkov permet, pour les traceurs suffisamment énergétiques, de bénéficier d'un ensemble d'avantages inhérents à l'imagerie Optique : rapidité, débit, simplicité d'utilisation, imagerie 3D, temps réel à cadence vidéo. Il est important de noter que tous les traceurs TEP sont imagables par effet Cerenkov, ce qui fait de cette technique un excellent complément de l'imagerie TEP en ce sens qu'elle permet un screening à haut débit (jusqu'à dix animaux simultanément). Par ailleurs, les récents travaux en algorithmique de reconstruction montrent qu'il est possible de réaliser par le biais de cette imagerie Cerenkov des imageries quantitative 3D des traceurs TEP avec une résolution de l'ordre de 2 mm. Il est bien sur possible, tout comme avec l'imagerie TEP conventionnelle de réaliser une imagerie bi-modale Cerenkov-autoradiographie, pour les mêmes raisons que celles évoquées plus haut.

Par ailleurs, l'imagerie Cerenkov est la seule à pouvoir imager « *in vivo* » (en tout cas en ce qui concerne l'imagerie pré-clinique) un certain nombre de traceurs d'importance pour lesquels n'existaient pas de technique satisfaisante auparavant. C'est le cas de traceurs utilisés en radiothérapie tel l'I131 et l'Y90. Il a, par exemple, été démontré qu'une imagerie cerenkov 3D avec une résolution de l'ordre de 2 mm était possible pour I131, ce qui est très au-delà de ce qui peut-être réaliser en SPECT (en général 5 mm). Il est aussi possible de produire des images « *in vivo* » avec du P32, ce qui est irréalisable par d'autres techniques. Ce traceur est particulièrement intéressant, eu égard à son utilisation passée en autoradiographie dans le domaine de la biologie moléculaire, et il devient tout à fait envisageable de réutiliser un ensemble de sondes développées pour des applications « *in vitro* » d'hybridation *in situ*, dans le cadre d'une imagerie « *in vivo* ». Pour cet isotope, la bi-modalité Cerenkov-autoradiographie a aussi tout son sens pour les mêmes raisons de sensibilité et de résolution.



Magnetic Particule Imaging (MPI)

D. Wecker

Bruker Biospin MRI Rudolf-Plank-Str. 23 76275 Ettlingen, Germany

L'Imagerie de Particules Magnétiques est une nouvelle technique d'imagerie médicale (développée par Philips Research) qui utilise les propriétés des nanoparticules d'oxyde de fer pour produire avec une très bonne résolution temporelle, des images tridimensionnelles de la concentration en nanoparticules d'un agent de contraste injecté dans le flux sanguin. Elle permet de produire des images fonctionnelles notamment du cœur. La méthode est basée sur la réponse non-linéaire de l'aimantation des particules d'oxyde de fer utilisées comme produit de contraste. Soumises à un champ magnétique sinusoïdal, les particules vont générer dans une bobine réceptrice un signal caractéristique de la concentration et de la position des particules. Les images sont reconstruites à partir de ces informations.

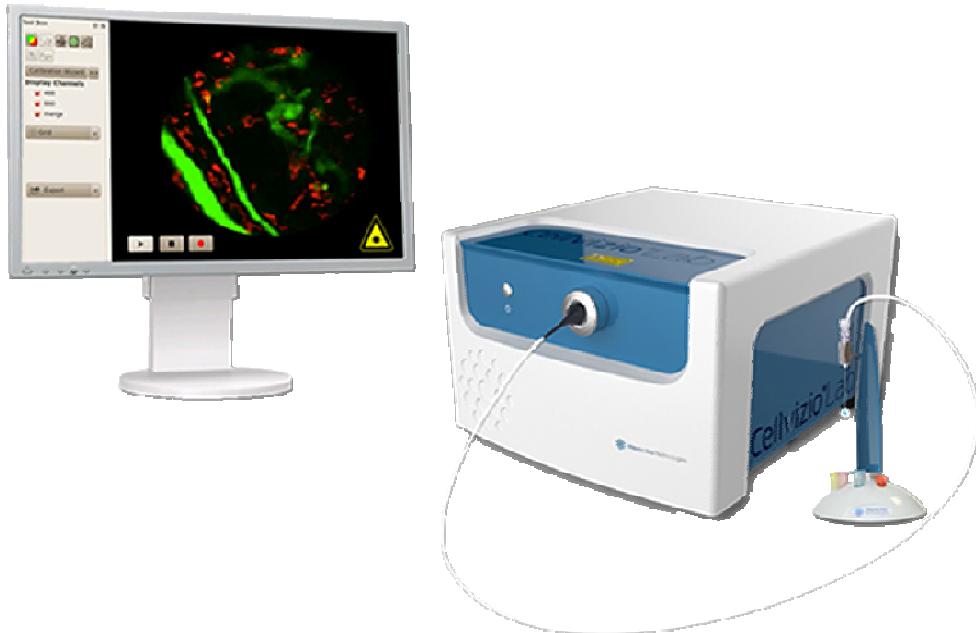
Le principe de la méthode et le système développé par Bruker Biospin MRI en coopération avec Philips Research pour apporter cette nouvelle modalité d'imagerie dans le domaine de l'imagerie préclinique ainsi que les premiers résultats obtenus sur animaux sont présentés et comparés aux différentes modalités d'imagerie précliniques.



Endomicroscopique Confocal par minisonde (pCLE)

L'accès minimalement invasif aux tissus est critique en imagerie moléculaire, afin de permettre d'apprécier des phénomènes physiologiques dans les conditions les plus représentatives possibles. Le Cellvizio® est une solution d'imagerie Endomicroscopique Confocale par minisonde (pCLE), capable d'imager tout tissu en temps réel, *in vivo* et *in situ*, au niveau cellulaire et par simple contact avec l'organe après administration de marqueur fluorescent. Il existe de nombreuses variétés d'objectifs miniaturisés pour l'imagerie Cellvizio (sondes), dotés de propriétés optiques et de diamètres divers permettant de s'adapter à de nombreuses applications.

L'imageur endomicroscopique offre ainsi une approche complémentaire aux modalités d'imagerie existantes qui sont soit invasives (imagerie *in vitro*, microscopie confocale de fluorescence) soit peu résolutives (imagerie *in vivo* par IRM, ultrasons, PET, etc). Disponible en versions Mono Band ou Dual Band, Cellvizio est utilisé dans près de 100 laboratoires d'excellence dans le Monde, en Neuroscience pour imager les flux calciques neuronaux dans le cerveau profond sur animal anesthésié ou éveillé, en Cancer et angiogénèse pour caractériser les vaisseaux tumoraux lors d'études longitudinales ou encore en imagerie moléculaire afin de mieux comprendre les interactions des différentes espèces cellulaires, inflammatoires, vasculaires, ou autres *in vivo* et *in situ*.





IRM 3T : Dernières innovations techniques.

C. BARLES

Les systèmes 3T sont de plus en plus présents sur les sites cliniques.

Pour autant, la grande majorité de l'activité recherche est également effectuée sur des systèmes 3T, car les machines 7T sont peu implantées, demeurent très chères et sont d'un usage qui reste délicat.

Fort de ce constat, Siemens Healthcare propose un système 3T à la pointe des innovations technologiques du moment.

A partir d'un aimant extrêmement homogène, (champ de vue maximal de 50x50x50 cm) le fil conducteur a été de fabriquer un système à 60 cm de diamètre autorisant des performances de gradients issues du monde du 7T, à savoir, par axe, une intensité maximale de 80 mT/m couplée à une pente de montée de 200 T/m/s.

Des retombées qualitatives sont attendues pour les acquisitions du type EPI par exemple. La partie Radio Fréquence de ce système est également surpuissante.

Au delà du fait que le système est numérisé et optique à l'émission et à la réception, la chaîne de réception possède 64 canaux indépendants extensibles à 128.

Egalement issu de la technologie mise en œuvre à 7T, la chaîne d'émission est à 2 canaux indépendants (Tx Array). Cette capacité ouvre les possibilités d'innovations, telles que des excitations sélectives d'une zone anatomique donnée, des présaturations courbes, etc.

L'imagerie par résonance magnétique est toujours une modalité très dynamique en termes d'innovations. De nouvelles améliorations sont donc à attendre dans un futur proche.



Light Sheet Z1 : Fast, Light-Efficient Data Acquisition

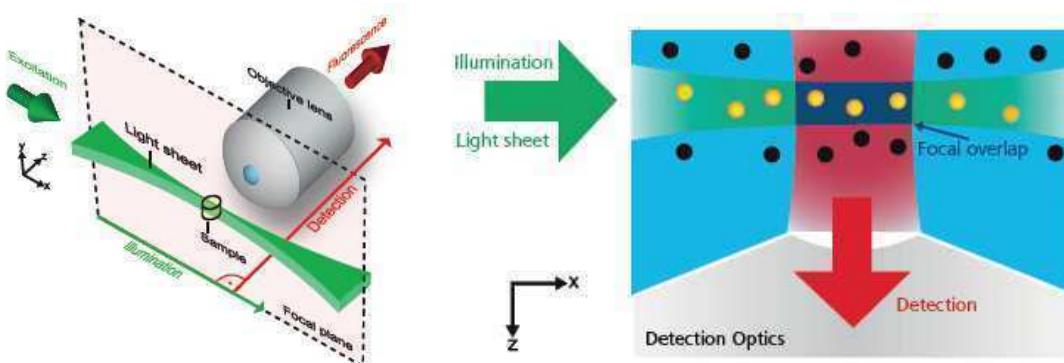
Fabrice Schmitt

Carl ZEISS Microscopie, 100 route de Versailles 78160 MARLY-le-ROI

Light Sheet Fluorescence Microscopy by Carl Zeiss: Watch Life in 3D

Light sheet fluorescence microscopy (LSFM) splits fluorescence excitation and detection into two separate light paths, with the axis of illumination perpendicular to the detection axis. That means you can illuminate a single thin section of the sample at one time, generating an inherent optical section by exciting only fluorescence from the in-focus plane. No pinhole or image processing is required.

Light from the in-focus plane is collected on the pixels of a camera, rather than pixel by pixel as, for example, in confocal or other laser scanning microscopes. Parallelization of the image collection on a camera-based detector lets you collect images faster and with less excitation light than you would with many other microscope techniques.



The principle of light sheet fluorescence microscopy (LSFM). Figures from the PhD thesis of Jörg Ritter (2011), University of Bonn, Germany

In summary, LSFM combines the optical sectioning effect with parallel image acquisition from the complete focal plane. This makes 3D imaging extremely fast and very light efficient.

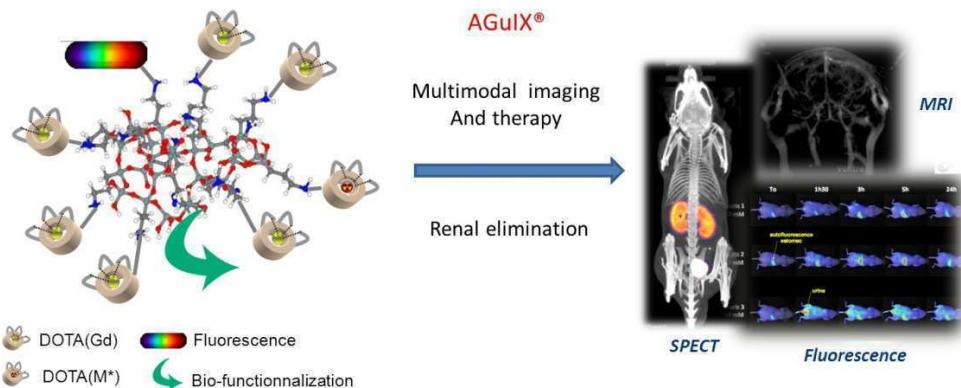
As biologists you strive to watch living organisms develop over time. Phototoxic effects from traditional imaging methods often challenge your attempts. Light sheet fluorescence microscopy (LSFM, also termed as selective plane illumination microscopy SPIM) is the new method for gentle, deep and fast 3D imaging. **Lightsheet Z.1** is tailored for long term live imaging. The light sheet illuminates just a thin volume of your specimen. This reduces phototoxicity to a minimum and enables optical sectioning by avoiding the excitation of out-of-focus light. In addition, parallel imaging of the focal plane with a camera allows extremely fast image acquisition compared to point-scanning microscopes. With Lightsheet Z.1 you monitor delicate organisms over several days and visualize populations of cells grow into tissues and early embryos.

Session 2 :

Agents d'imagerie moléculaires et fonctionnels

O. Tillement¹¹Laboratoire de Physico-Chimie des Matériaux Luminescents - UMR 5620

We have recently developed a new type of gadolinium based nanoprobe for theranostic applications. These nanoparticles present a size under 5 nm and are based on a polysiloxane matrix with chelates grafted on the inorganic skeleton. These chelates (DOTA derivatives) already used for medical applications can entrap gadolinium (for MRI or radiosensitization) and radioactive isotopes (for either SPECT or PET). In vitro tests on different types of cells have demonstrated the low toxicity of the particles. The biodistribution after intravenous injection of the nanoparticles has been obtained on healthy animals via three different complementary imaging techniques (MRI, fluorescence imaging and SPECT) and demonstrated an exclusive renal elimination of the nanoparticles [1]. The biodistribution after intratracheal administration has also been studied and a passage of the particles from the lungs to the blood followed by a renal elimination has been observed. Despite their small size the AGuIX® nanoparticles display an attractive Enhanced Permeation and Retention (EPR) effect for subcutaneous tumour models. The particles have also been tested on a bioluminescent orthotopic model of lung tumour. After intravenous injection and intratracheal administration of the fluorescent nanoparticles, a nice colocalization has been observed between the luminescence of the tumour and the one issued from the nanoparticles. Finally the therapeutic potential of the nanoparticles will be illustrated. Indeed the AGuIX® nanoparticles present an interesting radiosensitizing effect that can be observed in vitro on radioresistant cells after irradiation at different energies [2]. This therapeutical effect has also been demonstrated in vivo after intravenous injection in 9L gliosarcoma bearing rats. The accumulation of the nanoparticles in the brain is first monitored by MRI and when no more particles can be observed in the surrounding healthy tissues, the particles are activated by the X-ray beam leading to a considerable increase of the lifespan of the tumor bearing animals [3]. These preclinical results are really encouraging for further use of these compounds on patients, with the possibility to tailor the treatment to each patient through imaging techniques.



References

- [1] F. Lux, A. Mignot, P. Mowat, C. Louis, S. Dufort, C. Bernhard, F. Denat, F. Boschetti, C. Brunet, R. Antoine, P. Dugourd, S. Laurent, L. Vander Elst, R. Muller, L. Sancey, V. Josserand, J.-L. Coll, V. Stupar, E. Barbier, C. Rémy, A. Broisat, C. Ghezzi, G. Le Duc, S. Roux, P. Perriat, O. Tillement, Angew. Chem. Int. Ed 123, 12507 (2011).
- [2] P. Mowat, A. Mignot, W. Rima, F. Lux, O. Tillement, C. Roulin, M. Dutreix, D. Bechet, S. Huger, L. Humbert, M. Barberi-Heyob, M.-T. Aloy, E. Armandy, C. Rodriguez-Lafrasse, G. Le Duc, S. Roux, P. Perriat, Journal of Nanoscience and Nanotechnology 11, 7833 (2011)
- [3] G. Le Duc, I. Miladi, C. Alric, P. Mowat, E. Bräuer-Krisch, A. Bouchet, E. Khalil, C. Billotey, M. Janier, F. Lux, P. Perriat, S. Roux, O. Tillement, ACS Nano 5, 9566 (2011).

DOTAGA-anhydride: a valuable building block for labeling biomolecules

C. BERNHARD,¹ M. MOREAU,² M. LARROUY,¹ C. GOZE,¹ F. BOSCHETTI,² Y. ROUSSELIN,¹ O. RAGUIN,³ X. TIZON,³ O. DUCHAMP,³ B. COLLIN,⁴ J-M VRIGNEAUD,⁴ F. BRUNOTTE,⁴ F. DENAT¹

¹Institut de Chimie Moléculaire de l'Université de Bourgogne, 9, avenue Alain Savary 21078 DIJON Cedex, France.

²CheMatech, 21000 DIJON, France.

³Oncodesign, 21076 DIJON Cedex, France.

⁴Service de médecine nucléaire, centre Georges François Leclerc, 21000 DIJON, France

Introduction

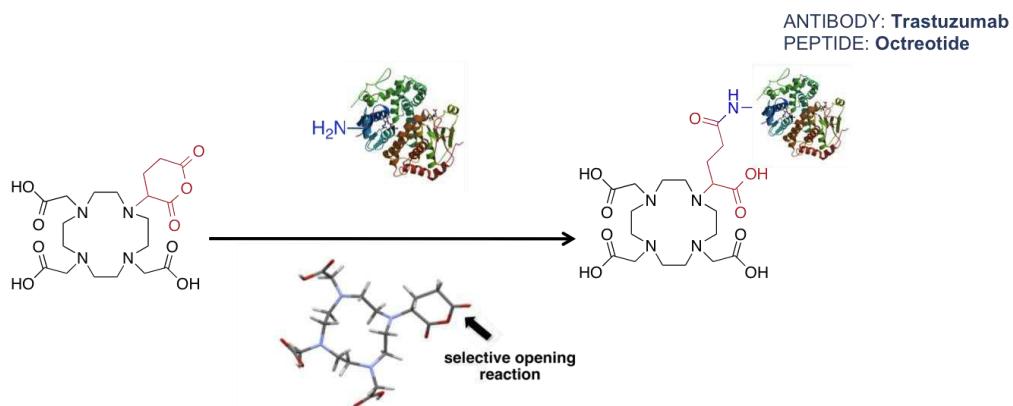
The use of so-called bifunctional chelating agents (BFCA) has proved to be the most reliable and commonly employed method for attaching a metal ion (radiometal or paramagnetic metal) to a biomolecule for molecular imaging application (PET, SPECT, MRI). Such approach has been used for the development of metal based imaging agents which are essential for diagnostic and therapeutic applications.¹ DOTA (1,4,7,10-tetrakis(carboxymethyl)-1,4,7,10 tetraazacyclododecane) and its derivatives represent a major class of chelating agents for biomedical applications, due to their excellent complexation properties towards many trivalent metal ions, and the high kinetic stability of the metal complexes thus formed.²

Material and Method

A new bifunctional chelator so-called DOTAGA-anhydride was readily obtained thanks to the key reaction step of cyclic anhydride formation.³ The high reactivity of the anhydride function and the regioselectivity of the anhydride opening reaction was demonstrated by various NMR experiments and molecular modelisation.

Results

This reactivity makes this compound a highly valuable precursor for the introduction of various functional groups such as isothiocyanate, thiol, ester, or an amino acid moiety. With the aim of demonstrating the potential of our approach for labeling biomolecules, this new building block was attached to a peptidic moiety in *N*-terminal position (Octreotide derivative). ¹¹¹In labeled DOTAGA-antibodies conjugates were also prepared and a high specific tumor targeting was shown in a model of human.



Conclusion

The proof of concept with peptides and antibodies shows the usefulness of the DOTAGA-anhydride chelator for the efficient attachment of radiometal for imaging or radioimmunotherapy applications.

References

1. a) G.T. Hermanson, *Bioconjugate Techniques*. Academic press, **1996**. b) L. Lattuada et al. *Chem. Soc. Rev.* **2011**, 40, 3019. c) J. Fichtna et al. *Bioconjugate Chem.* **2003**, 14, 3.
2. a) T. J. Wadas et al. *Chem. Rev.* **2010**, 110, 2858. b) Z. Kovacs et al. *Mini-Rev. Org. Chem.* **2007**, 4, 281.
3. C. Bernhard et al. *Chem.-Eur. J.* **2012**, 18, 7834-784.
4. M. Moreau et al. *Bioconjugate Chem.* **2012**, 23, 1181-1188.

New Far-Red emitting Lipid-Polymer probes for lipid bilayer imaging

S. Adjili,^{1,2} A. Favier,^{1,2} J. Massin,³ Y. Bretonnière,³ E. Hamard,⁴ G. Fargier,⁴ C. Andraud,³ D. Muriaux,⁴ M.T. Charreyre^{1,2}

1) Ingénierie des Matériaux Polymères (IMP), INSA Lyon, 69621 Villeurbanne

2) Laboratoire Joliot-Curie, ENS de Lyon, 69364 Lyon Cedex 07

3) Laboratoire de Chimie, ENS de Lyon, 69364 Lyon Cedex 07

4) Laboratoire de Virologie Humaine, ENS de Lyon, 69364 Lyon Cedex 07

Introduction

Fluorescence imaging is an efficient tool to visualize and characterize not only artificial but also biological membranes and all associated phenomena, like viral budding or membrane dynamics.¹ Generally, lipids are modified with molecular fluorophores either on their fatty acid chains or on the polar head group. However, some problems may appear with this kind of molecular probe:

- Decrease or extinction of fluorescence (photobleaching)
- Very few probes exist in the far-red range (out of the parasite autofluorescence of cells)
- Replacement of a fatty acid chain by a fluorophore may alter the lipid insertion into the membrane.

To overcome these different problems, we synthesized new fluorescent polymer probes for lipid bilayer imaging based on multifunctional polymers and far-red emitting chromophores.

Material and Method

Multifunctional polymers were synthesized by RAFT polymerization.² Imaging was performed using dark field microscopy coupled with excitation source for fluorescence imaging, or confocal microscopy (spinning disk) LEICA DMI 4000 (Exc 491 nm – Emission Filter 675/67).

Results

The new fluorescent lipidic probes were elaborated from well-defined hydrophilic copolymers synthesized via the RAFT polymerization process which displays many advantages² such as a pre-determined chain length and composition and a good control of the chain-end functionalization enabling the introduction of a lipid. After synthesis, the multifunctional biocompatible copolymers were analyzed by ¹H NMR and SEC and multiple far-red emitting fluorophores (505 / 690 nm) were bound in lateral position along the chain (Fig.1).

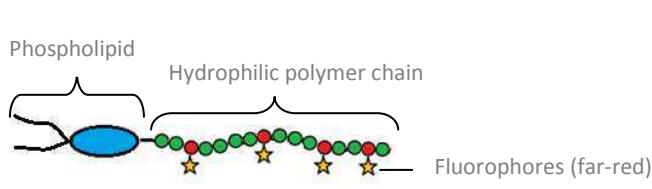


Fig. 1: Schematic representation of the fluorescent polymer probe

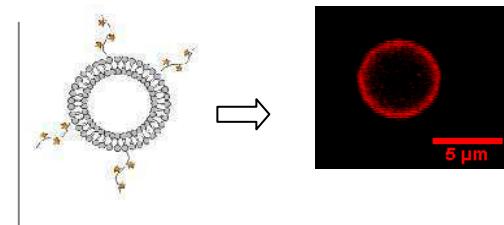


Fig. 2: Incorporation of the probes in lipid bilayer (GUV)

The optical characterization of these fluorescent Lipid-Polymer conjugates showed an improved brightness in comparison to the free fluorophore. The ability of these fluorescent polymer probes to be inserted into phospholipid bilayers was investigated in model systems such as SUVs, LUVs, GUVs (Fig.2) as well as *in cellulo* in various cell lines (HeLa, T-Lymphocytes, Neuroblastoma cells) using fluorescence confocal microscopy.

Conclusion

Water-soluble Lipid-Polymer probes emitting in the far-red have been synthesized with an improved brightness compared to the corresponding fluorophore. These probes have been successfully internalized in model lipidic bilayers and in various types of living cells (fast internalization without using a carrier).

References

1. Moumtzi A. et al. Journal of Lipid Research, 48:565-582, 2007.
2. Favier A. et al. Macromolecular Rapid Communications, 27:653 – 692, 2006.

Organic fluorescent nanoparticles as brilliant one- and two-photon emitters for (bio)imaging

E. Campioli¹, Talia Bsaibess², L. Cognet,³ S. Fery-Forgues⁴, F. Terenziani¹, M. Blanchard-Desce²

¹ GIAF, Parma University, Italy

² ISM, Univ. Bordeaux 1, France

³ LP2N, Univ. Bordeaux 1, France

⁴ IMRCP, Université Paul Sabatier, Toulouse, France

Introduction

Two-photon-excited fluorescence (TPEF) has gained widespread popularity in the biology community due to the advantages it provides in microscopic imaging. Among various probes, semiconductor quantum dots have been shown to provide a particularly powerful approach to luminescent nano-objects for bioimaging including TPEF. However, these inorganic systems suffer from several drawbacks such as toxicity, blinking and raise a number of questions with respect to environmental issues. With this in mind, we have developed fully-organic molecular-based luminescent nanoparticles showing exceptional one- and two-photon brightness.

Material and Method

Novel triphenylamine-based dipolar and octupolar (three-branched) dyes [1] were designed and used to prepare aqueous suspensions of fluorescent organic nanoparticles (FONs) via the precipitation method [2].

Results

The obtained spherical nanoparticles (30-40 nm in diameter) are fluorescent in aqueous solution (Fig.1) and exhibit extremely high one- and two-photon brightness (up to $10^8 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$ and 10^6 GM). The emission color of these nano-aggregates can be tuned from green to yellow, red and NIR by playing on the molecular structure and taking advantage of environment and local field effects.

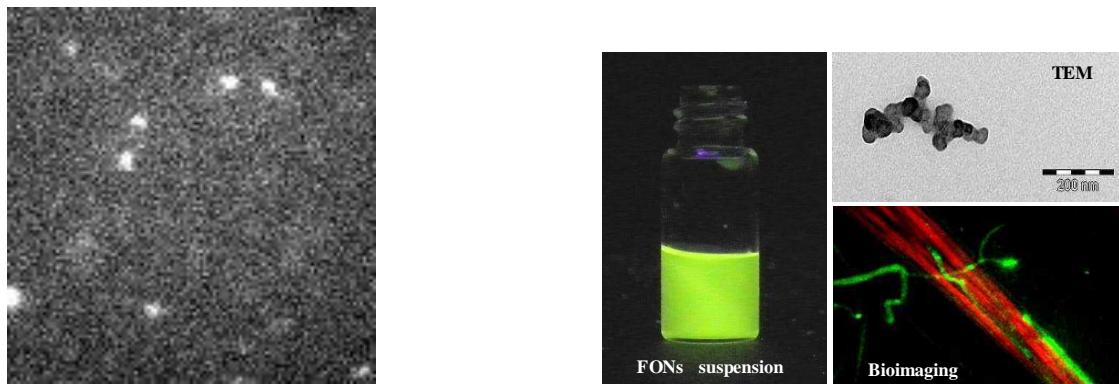


Fig. 1. Wide-field fluorescence image of NIR emitting FONs freely diffusing in solution. An excitation laser at 568nm was used (ab. 500W/cm^2). The photoluminescence was collected by a high NA objective (x60, 1.4NA) and sent to an EMCCD camera after passing through a longpass filter with a cutoff at 633nm. Bright spots correspond to in-focus individual nanoparticles. A short integration time of only 10ms is used such that most diffusing nanoparticles appear as nearly diffraction limited spots. Some out of focus nanoparticles are barely distinguishable in the background. Scale bar 5mm

Fig.2. Green-emitting FONs suspension under UV lamp (left), observation by TEM of the nanoparticles and TPEF image (green signal) of blood vessels of a living *Xenopus laevis* tadpole (stages 48-52) after intra-cardiac injection of green-emitting FONs (right). Excitation at 820 nm. The red color corresponds to the endogenous SHG signal (410 nm) that arises from muscle tissue, while green corresponds to the TPEF signal generated in vivo by the FONs (460-590 nm). Scale bar = 100 μm . [2]

The use of these FONs as probes for biphotonic *in vivo* imaging was investigated on *Xenopus laevis* tadpoles. When using FONs made from an octupolar dye, the formation of microagglomerates ($2-5 \mu\text{m}$ scale) was observed, with subsequent lethal occlusion of the blood vessels. At opposite, the nanoparticles of a dipolar dye allowed acute imaging of blood vessels, thanks to their suitable size and giant brightness, while no toxic effect was observed (Fig.2).

Conclusion

Engineering of FONs made from dipolar dyes can lead to ultrabright, biocompatible nanoparticles allowing acute bioimaging by TPEF. These nano-objects represent promising alternative to quantum dots for imaging purpose.

References

1. C. Sissa *et al*, Phys. Chem. Chem. Phys., **12**: 11715-11727, 2010.
2. V. Parthasarathy *et al*, Small, **7**: 3219-3229, 2011

A. Jacquart¹, I. Texier-Nogues¹, F. Mittler¹, F. Navarro¹, R. Boisgard², F. Ponce³, D. Camporese⁴

¹CEA-LETI, Minatec-Campus, DTBS/SBSC/LCMI, F-38054 Grenoble, France

²CEA/DSV/I²BM/SHFJ/U1023, 4, place du Général Leclerc, 91401 Orsay Cedex, France

³VetAgro Sup, 1 avenue Bourgelat, 69280 Marcy l'Etoile, France

⁴Advanced Accelerator Applications, 20 rue Diesel, 01630 Saint Genis Pouilly, France

Introduction

Ce projet vise à développer un agent de contraste applicable dans deux modalités d'imagerie moléculaire différentes et complémentaires : *nucléaire* (imagerie du corps entier, mais ionisante), avec des traceurs PET (¹⁸F) ; *optique* (de manipulation plus facile), avec un traceur fluorescent actif dans le proche infrarouge pour de l'imagerie relativement profonde (1-2 cm de tissus).

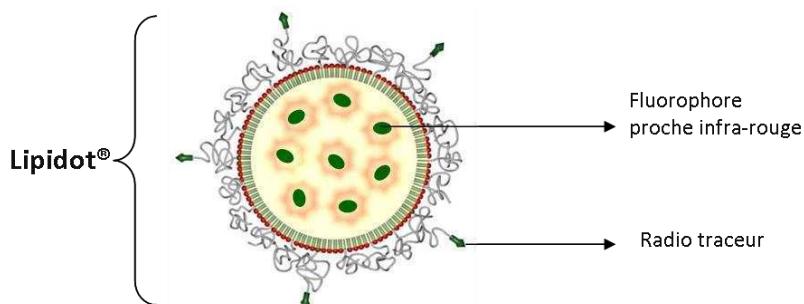
Les deux types d'agents de contraste sont combinés dans des nanovecteurs lipidiques biocompatibles, les Lipidots®. L'objet bimodal assurera que les mêmes nodules cancéreux seront détectés lors des deux phases.

L'objectif est, à l'aide d'une sonde bimodale, de **diagnostiquer** des tumeurs (identification, localisation, quantification), par imagerie *nucléaire* (phase pré-opératoire) puis de **guider** pendant l'opération leur ablation ou de réaliser des biopsies guidées, par imagerie *optique* (phase per-opératoire).

Matériels et Méthodes

La bimodalité des nanoparticules lipidique est obtenue en utilisant le cœur de la nanoparticule et la surface de celle-ci comme deux entités différentes : un fluorophore lipophile absorbant/émettant dans le proche infrarouge est encapsulé dans le cœur lipidique ; la surface de polymères est fonctionnalisée pour y greffer le radiotraceur.

Les nanoparticules bimodales « froides » sont développées dans un premier temps, avant d'être transférées en chimie « chaude ».



Résultats

Les nanovecteurs lipidiques bimodaux « froids » ont été synthétisés avec succès. Ils présentent une bonne stabilité colloïdale et de bonnes performances optiques ($\phi_f > 0.08$ en tampon aqueux).

Leur biocompatibilité est vérifiée par une absence de cytotoxicité sur des lignées de fibroblastes 3T3 (IC50 > 1 mg/mL). L'injection dans la souris saine a montré une biodistribution relativement uniforme dans les organes.

Une étude préliminaire de biodistribution sur le chien a été effectuée et montre des résultats encourageants.

Conclusion

Un nanovecteur lipidique bimodale a été mis au point. Les premiers résultats obtenus (chez le rongeur et le chien) laissent espérer que ces nanoparticules pourront permettre d'explorer des stratégies médicales associant diagnostics pré-opératoire TEP et chirurgie assistée par imagerie de fluorescence.

Références

1. J. Mérien, et al., *Molecules*, 17, 5564-5591 (2012).
2. J. Gravier, et al, *Journal of Biomedical Optics* 16(9) 096013 (2011).
3. T. Delmas et al., *Langmuir* 27(5), 1683-1692 (2011).

Nanoparticules à luminescence persistante pour l'imagerie optique *in vivo*

C. Richard, T. Maldiney, J. Seguin, M. Bessodes, D. Scherman

Unité de Pharmacologie Chimique et Génétique et d'Imagerie; UMR 8151 CNRS; U 1022 Inserm; Université Paris Descartes, Faculté des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques, Paris, F-75270 cedex France; Chimie-ParisTech, Paris, F-75231 cedex France

Introduction

Les derniers développements dans le domaine de l'imagerie optique du petit animal ont permis de voir apparaître plusieurs nouvelles sondes photoniques.¹ Les quantum dots² et les nanoparticules à upconversion³ présentent notamment des alternatives intéressantes aux sondes organiques par leur fort rendement quantique, ou leur capacité à contourner l'autofluorescence des tissus.⁴ Notre équipe a proposé l'utilisation de nanoparticules à luminescence persistante (PLNP) pour l'imagerie optique en temps réel chez le petit animal.⁵ Comparables à des « condensateurs optiques », ces cristaux se chargent sous l'effet d'une excitation lumineuse et émettent de la lumière sur une période pouvant aller de quelques minutes à plusieurs heures. Ces propriétés de luminescence persistante permettent une détection optique à travers les tissus, sans phénomène d'autofluorescence.

Matériel et Méthode

La première génération de PLNP est un silicate hybride enstatite/diopside de formule $\text{Ca}_{0.2}\text{Zn}_{0.9}\text{Mg}_{0.9}\text{Si}_2\text{O}_6$ dopés avec trois cations : Eu^{2+} , Dy^{3+} , et Mn^{2+} . Une synthèse par voie sol-gel permet d'obtenir des nanoparticules dont le diamètre est compris entre 100 et 150 nm, après une étape de traitement à haute température (1050°C). La surface de ces nanoparticules a été modifiée par différentes molécules d'intérêt (ligands, PEG) puis utilisées *in vitro* pour cibler des cellules cancéreuses (PC-3 et gliomes de rat) et *in vivo*.

La recherche de nouvelles propriétés optiques nous a conduit vers une nouvelle famille de matériaux synthétisés par voie hydrothermale. Ce dernier matériau présente l'avantage d'émettre une luminescence persistante particulièrement intense située dans l'infrarouge après une excitation par des photons visibles.

Résultats

Nous rapporterons les premiers exemples d'utilisation de nanoparticules à luminescence persistante pour l'imagerie du petit animal.⁵ Nous montrerons comment la fonctionnalisation de leur surface permet le ciblage de plusieurs lignées cancéreuses⁶ et décrirons l'impact du diamètre sur leur biodistribution.⁷ Nous retracerons les étapes qui ont permis de passer de la première génération de nanoparticules, uniquement visible pendant 1 heure *in vivo* au matériau intermédiaire détectable 5 fois plus longtemps⁸ pour enfin décrire le matériau de dernière génération, ré-excitabile *in situ* permettant un suivi *in vivo* pendant plusieurs semaines.⁹ Enfin nous terminerons par un exemple de détection de tumeurs CT 26 *in vivo* en utilisation ces dernières nanoparticules.¹⁰

Conclusion

La luminescence persistante constitue un outil de choix pour l'imagerie optique par sa capacité à se soustraire aux phénomènes d'autofluorescence des tissus *in vivo*. Une optimisation de la composition et de l'état de surface des nanoparticules à luminescence persistante a permis d'aboutir à une nanotechnologie efficace et versatile permettant le ciblage de cellules cancéreuses *in vitro* et le ciblage de tumeurs solides *in vivo*.

Références

1. Weissleder R *et al.* Nature 2008; 452, 580-589
2. Medintz IL, *et al.* Nature Mater. 2005; 4, 435-446
3. Zhou J, *et al.* Chem. Soc. Rev. 2012; 41, 1323-1349
4. Frangioni JV. Curr. Opin. Chem. Biol. 2003; 7, 626-634
5. le Masne de Chermont Q, *et al.* Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2007; 104, 9266-9271
6. Maldiney T, *et al.* Bioconjugate Chem. 2012; 23, 472-478
7. Maldiney T, *et al.* ACS Nano. 2011; 5, 854-862
8. Maldiney T, *et al.* J. Am. Chem. Soc. 2011; 133, 11810-11815
9. Maldiney T, *et al.* French Patent FR1250846, 2012
10. Maldiney T, *et al.* Nature Materials en révision

Magnetofluorescent Nanoparticles: a Reverse Approach for High-Loaded Active Materials

Adrien Faucon¹, Julie Hémez¹, Jérôme Fresnais², Eléna Ishow¹

¹ Université de Nantes, Laboratoire CEISAM-UMR CNRS 6230

² Université Pierre et Marie Curie, Paris 6, Laboratoire PECSA – UMR CNRS 7195

Introduction

Magnetofluorescent nano-objects have recently stirred considerable interest in biological imaging. Both magnetic and optical addressing methods offer the combined advantages of remote vectorization and high sensitivity through light detection, respectively. The usual architecture consists in doped silica nanoparticles or core-shell structures where an inorganic magnetic core is surrounded by fluorescent units. The main limitations of these systems generally rely on spatial dilution of the active units or strong interactions with the surroundings, which is likely to quench the emissive excited state by energy, electron or proton transfer.

Material and Method

We have thus developed organic non-covalent fluorescent nanoparticles (FON)¹ which can serve as fluorescent platforms for hybrid magnetofluorescent nanoparticles² and exhibit weak sensitivity to biological media. Compared to free dyes in solution, they provide higher emission contrast thanks to a high load of active units estimated at around 10^5 - 10^6 molecules per nanoparticle. The stability provided by these amorphous nanoparticles in media of various ionic strength and pH makes them particularly attractive for biological imaging.

Results

The synthesis of amphiphilic triarylamine compounds with complexing units³ allowed us to generate FON (40-80 nm in size) with large linear or non-linear optical coefficients in the red and near infrared range. A straightforward procedure was developed to obtain stable and tunable organic nanosphere by reprecipitation in aqueous solution. This one-step procedure could be applied to organic molecules with distinct terminal units like carboxylic or phosphonic acids, able to complex iron oxide nanoparticles. Hybrid magnetofluorescent nano-assemblies (50–180 nm) have thus be simply elaborated by reprecipitating the complexing organic derivatives in iron oxide nanoparticle solution⁴ instead of water, and display high response to a magnetic or optical field excitation (Figure 1).

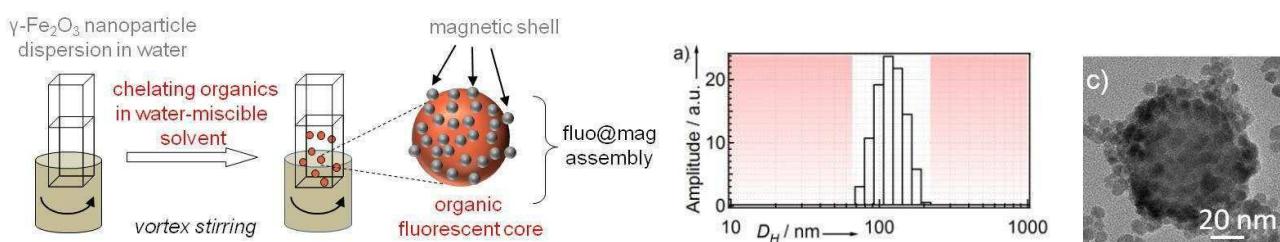


Figure 1 : Schematic description of the fabrication method to yield magnetofluorescent nanoparticles. TEM imaging and distributions of the mean hydrodynamic diameters D_H .

Conclusion

To the best of our knowledge, organic nanoparticles made of small organic molecules coated with iron oxide nanoparticles represent an innovating structure which has never been realized in spite of their vectorization properties. *In-vitro* assays are currently being performed to infer the potential ability as biological probes of this new class of core-shell structure, dubbed fluo@mag.

References

1. M. Breton et al. Phys. Chem. Chem. Phys., 13 ; 13268–13276, 2011
2. A. Faucon et al. Proc. SPIE-Int. Soc Opt. Eng., 8464, 1-9, 2012
3. A. Faucon et al. Fluorescent complexing organic nanoparticles: effect of H-bonding interactions on emission in the solid state, 2012, submitted
4. J. Fresnais et al. Small, 5 ; 2533-2536, 2009

Session 3a :

Les développements récents en méthodologie

et instrumentation

C. Moonen¹

¹ University Medical Center Utrecht, the Netherlands

.... La chirurgie, la radiothérapie, l'ablation thermique, et la chimiothérapie représentent les traitements modernes des thérapies anti-cancéreuses. L'imagerie occupe une place de plus en plus importante dans la planification, le guidage, et le suivi de ces thérapies anticancéreuses. Dans cette présentation, le thème du guidage en temps réel des thérapies mini-invasives sera élaboré. Le rôle de l'imagerie est : a) localisation de la cible, b) correction pour les déplacements de la cible, c) détermination de la dose thérapeutique et le suivi.

Les mouvements des organes cibles représentent un problème pour la radiothérapie. Récemment, l'idée de la radiothérapie guidée en temps réel par IRM a été présentée. Un prototype d'un accélérateur linéaire tournant autour d'une IRM 1.5T a été installé à Utrecht. Cette approche prometteuse implique des aspects originaux d'instrumentation, et de traitement d'images temps réel.

Les ultrasons focalisés (UF) guidés par IRM et/ou échographie présentent un potentiel fort. Cette technique permet d'effectuer une ablation des tumeurs (nécrose des tissus tumoraux) par augmentation locale de température. L'approche est donc une alternative à la radiothérapie avec quelques différences spécifiques: l'ablation par UF est un processus de type "tout-ou rien" et peut donc être répétée en cas de récidive alors qu'en radiothérapie, la dose de radiation cumulée des tissus avoisinants ne permet pas la répétition de la procédure. Le guidage par IRM permet un ciblage précis et la quantification de la dose thermique en mesurant la température en continu dans toute la tumeur et la région avoisinante.

En plus, l'effet local des UF (pression, température, vibrations) permet un dépôt de médicaments et/ou leur activation par plusieurs mécanismes 1) destruction locale, par vibration, des nano-particules transportant des médicaments ; 2) destruction locale des nano-particules, par augmentation locale de température; 3) ouverture contrôlée temporaire des barrières naturelles (membranes cellulaires, parois des vaisseaux) permettant un meilleur passage; 4) diffusion intratissulaire accélérée des médicaments, par la force de radiation ultrasonore, les vibrations et la température.

Les mouvements des organes cibles représentent un problème pour le traitement par UF. Le progrès récent dans ce domaine permet le traitement des organes mobiles (foie, reins).

Tumor imaging of glucose metabolism and hypoxia using combined dual wavelength fDOT and PET

Anikitos GAROFALAKIS^{1,2,3,4*}, Benoît THEZE^{1,2,3}, Frédéric DUCOGNE^{1,2,3}

¹CEA, Institut d'Imagerie Biomédicale, Service Hospitalier Frédéric Joliot, Orsay Cedex, France, ²INSERM U1023, Laboratoire d'Imagerie Moléculaire Expérimentale, Orsay Cedex, France
³Université Paris Sud 11, *Current address ⁴DIGISENS SA, Le Bourget Du Lac Cedex

Introduction : Since past decade, fluorescence imaging is increasingly used in preclinical research and several fluorescent tracers have been developed to image different physiological processes. Although these fluorescent probes have been validated *in vitro*, mostly on cells, they remain poorly validated *in vivo*. Recently, we developed a method to fuse Positron Emission Tomography(PET) with fluorescence Diffuse Optical Tomography(fDOT) [1]. fDOT imaging reconstruct and quantify 3D fluorescence signals inside tissue of a few centimeters. Fusion of PET with fDOT allowed us to calibrate and validate our fDOT instrument for imaging in mice[1]. Here, we integrated a new laser to perform dual wavelength fDOT imaging and we used PET/fDOT imaging to compare fluorescent probes with well-known PET tracers. Hence, we compare [¹⁸F]FMISO and [¹⁸F]FDG that are well validated for PET imaging of hypoxia and glucose metabolism with two fluorescent counterparts 2-DG IRDye800(LI-COR[®]) and Hypoxisense680(PerkinElmer[®]). These studies were conducted not only to study fluorescent probes but also to demonstrate the benefits of combined fDOT and PET imaging.

Matériel et Méthode - Material and Method : Mice(n=3) developing tumor xenograft (~200 mm³) from MDA-MB-231 cells were intravenously(IV) injected with 10 nmoles of 2-DG IRDye800, 2nmoles of Hypoxisense680 and 7,400 kBq of [¹⁸F]FMISO. The novel system TOMOFLUO3D was used for performing multi-wavelength 3D quantitative imaging of the two optical probes. This system incorporates an infra-red laser (em 680nm) for the excitation of fluorophore. In the present study a second laser emitting at the 750 nm has been integrated. This dual wavelength system allows the parallel imaging of two fluorescent probes. A specially designed mouse holder enabled the displacement of the subject in the PET scanner for the [¹⁸F]FMISO imaging. Then the nuclear tracer was left to decay for 24h and a new TOMOFLUO3D scan was performed followed by a PET scan after a IV injection of [¹⁸F]FDG. Tumor images of the different optical and nuclear scans were compared. The in-vivo images were compared to ex-vivo histology to validate the in-vivo results of probe correlation.

Résultats – Results : The results showed that both nuclear and optical signals are found in the tumor. However each probe showed a distinct localization. For nuclear tracers, tumors presented a zone of low signal in the middle of the tumor (see figure). The optical signals of 2-DG IRDye800 and Hypoxisense680 were found to partially overlap with the signals of the [¹⁸F]FMISO and [¹⁸F]FDG. The quantification of the overlapping intensities showed that Hypoxisene680 and 2-DG IRDye800 overlap with [¹⁸F]FMISO with a percentage of 52±8% and 63±17% respectively. The comparison with [¹⁸F]FDG resulted in an overlap of 27±6% for 2-DG IRDye800 and 25±10% for Hypoxisense.

Conclusion : As expected, Hypoxisense680 showed a good co-localization with [¹⁸F]FMISO, indicating that this optical probe can be used as a surrogate marker of Hypoxia. In contrast 2-DG IRDye800 showed poor localization with [¹⁸F]FDG and presented a higher co-localization with [¹⁸F]FMISO indicating its use as a surrogate marker of [¹⁸F]FDG is questionable.

Références – References

- Garofalakis et al. Optics Letters, Optics Letters, **35**, 3024-3026 (2010)
- Garofalakis et al. Molecular Imaging and Biology, Published online, 2012.

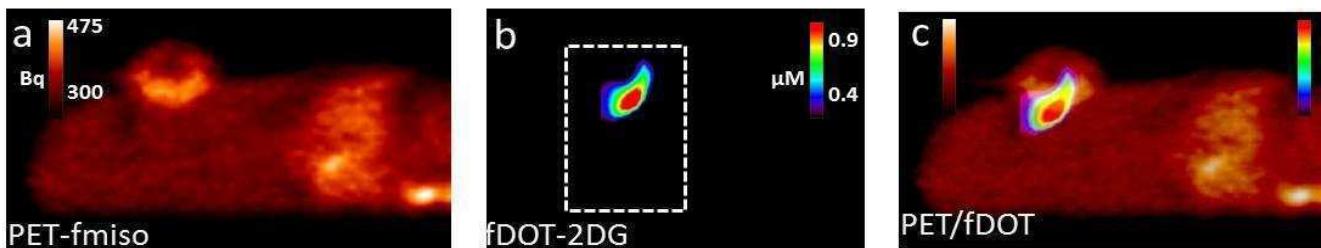


figure : fused PET/fDOT images of fmiso for the Hypoxia and the 2DG IRDye800 for the GLUT-1 imaging

I. Wang, C.-E. Leroux, A. Delon

Univ. Grenoble 1/CNRS, Liphy, UMR 5588, Grenoble, F-38041, France

Introduction

Adaptive optics has recently aroused much interest in the field of live science microscopy. Indeed, as one tries to look deeper into cells or tissues, aberrations caused by the specimen itself may lead to an enlarged Point Spread Function (PSF), and hence a degradation of the optical resolution. Adaptive optics makes it possible to correct these aberrations and preserve the same (small) PSF at different focusing depths.

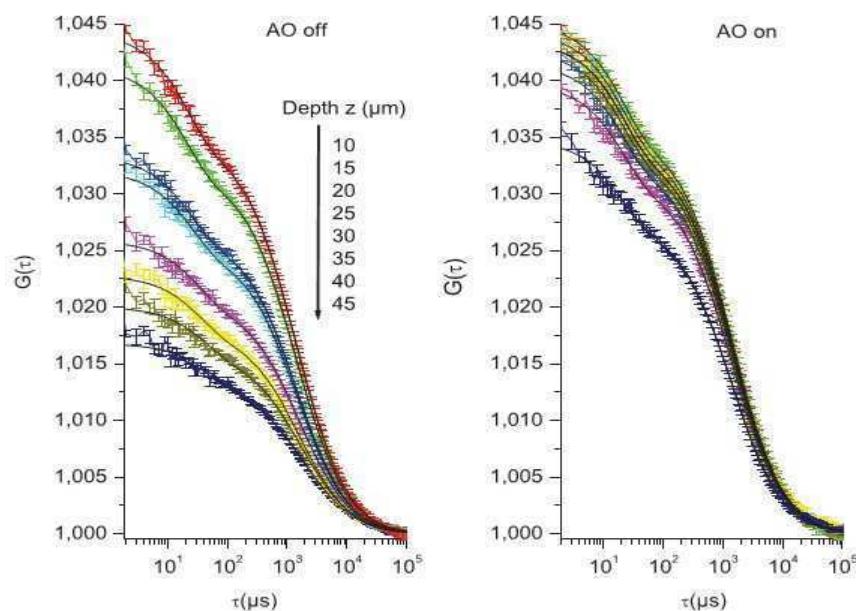
Fluorescence correlation spectroscopy (FCS) provides information on the local concentration and mobility of fluorescent molecules and can be applied to the study of protein dynamics in living cells. However, absolute concentration and diffusion constants estimated from these measurements are extremely dependent upon the size and shape of the confocal PSF and the presence of aberrations affects their values in a dramatic way. In this work, we study the effect of aberrations on the estimated FCS parameters (number of molecules, diffusion constant) and use adaptive optics to stabilize these parameters in presence of aberrations.

Material and Method

Our FCS setup was built around an inverted microscope platform using. Aberrations are corrected using a Deformable Mirror which is in the path of both the excitation beam and the collected fluorescence light. The correction method we used is the so-called sensorless AO system, where the detected fluorescence signal from the confocal volume is used as the optimization criterion for each Zernike mode.

Results

Spherical aberrations are generated in a controlled manner by focusing at various depth into a solution which index of refraction is different from that of water, since the objective lens is optimized for water. We observed the very strong impact of aberrations on the FCS results (the estimated number of molecules is multiplied by 4 for aberrations amplitudes of merely 100 nm RMS). As shown in the figure below, Adaptive optics make it possible to recover the same autocorrelation function at all depths. Thus the correct number of molecules and diffusion constants can be obtained [1].



Conclusion

We have shown that FCS is much more sensitive to aberrations than conventional confocal imaging. This is detrimental when studying biological specimens with various optical properties. Adaptive optics has been successfully used to improve the robustness of FCS measurements by stabilizing the size of the observation volume in presence of aberrations.

References

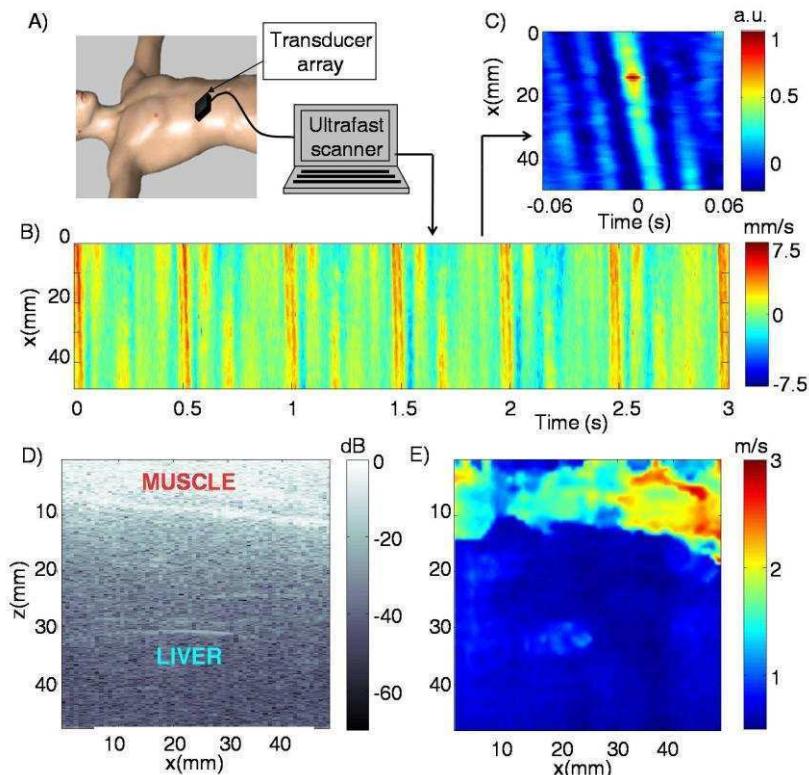
1. Charles-Edouard Leroux, Irène Wang, Jacques Derouard, and Antoine Delon, "Adaptive optics for fluorescence correlation spectroscopy," Opt. Express **19**, 26839-26849 (2011)

Élastographie et retournement temporel : une tomographie acoustique passive d'ondes de cisaillement dans le corps humain

S. Catheline, R. Souchon, A. Hoang Dinh, J-Y Chapelon

¹INSERM U1032, LabTAU, University of Lyon

L'élastographie, encore appelée sismologie du corps humain, est une modalité d'imagerie médicale récemment implémentée sur les échographes commerciaux. La fusion de deux thématiques de recherche fondamentales et appliquées que sont l'élastographie et le retournement temporel a profité aux deux parties : on s'attachera donc à montrer d'une part, ce que l'élastographie, technique d'imagerie médicale a pu apporter dans la compréhension des mécanismes à l'œuvre dans une expérience de retournement temporel dans les solides et d'autre part [1], comment le retournement temporel peut être employé pour dresser des tomographies de l'élasticité du corps humain [2]. En effet, le champ élastique permanent qui existe dans le corps humain à cause d'activités musculaires recèle des informations sur les paramètres mécaniques (élasticité, viscosité) du corps humain. La clé pour extraire ces informations de ce champ physiologique complexe, diffus, réverbéré, est le retournement temporel. Cette technique est connue en sismologie sous le nom de corrélation de bruit sismique.



Références

- [1] S. Catheline, N. Benech, J. Brum, C. Negreira, "Time reversal of elastic waves in soft solids.", Phys. Rev. Lett. **100** (064301), (2008).
- [3] T.Gallot, S. Catheline, P. Roux, J. Brum, N. Benech, C. Negreira, Passive elastography: Shear wave tomography from physiological noise correlation in soft tissues, IEEE Transactions on UFFC, vol. 58, no. 6, June 2011.

Combinaison d'une méthode de quantification de la graisse intra-hépatique avec l'imagerie du mouvement incohérent intra-voxel à 3.0T pour la distinction entre la stéatose pure et la stéato-hépatite.

B.Leporq¹, F.Pilleul^{1,2,3}, J.Dumortier⁴, O.Guillaud⁴, T.Lefort² et O.Beuf¹

¹Université de Lyon; CREATIS; CNRS UMR 5220; Inserm U1044; INSA-Lyon; Université Lyon 1; Villeurbanne, France. ²Hospices Civils de Lyon; Département d'imagerie digestive; CHU Edouard Herriot; Lyon, France. ³Centre Léon Bérard – Centre de lutte contre le Cancer; Lyon, France. ⁴Hospices Civils de Lyon; Département d'hépatologie; CHU Edouard Herriot; Lyon, France

INTRODUCTION: Lors de cette dernière décennie, l'incidence des maladies non-alcoolique du foie (NAFLD) s'est accrue et sa prévalence est à l'heure actuelle élevée dans les pays occidentaux (34 % de la population nord-américaine et 25% de la population européenne) [1]. Dans 50% des cas, les NAFLDs évoluent sous une forme invasive, pouvant mener à la cirrhose, la stéato-hépatite où la surcharge graisseuse est accompagnée d'inflammation, de nécrose et de fibrose [2]. En réponse à un besoin clinique important lié à une méthode de référence invasive pour le diagnostic, de nombreuses méthodes de quantification de la graisse intra-hépatique ont émergées. Néanmoins, ces méthodes ne permettent pas la distinction des deux formes de la maladie, stéatose pure ou stéato-hépatite, alors que cette dernière à une grande importance dans la prise en charge thérapeutique. L'objectif de ce travail est d'évaluer l'association d'une méthode de quantification de la graisse et l'imagerie du mouvement incohérent intra-voxel (IVIM) en IRM à 3.0T pour la séparation de la stéatose pure et de la stéato-hépatite.

METHODE: La quantification de la graisse a été réalisée à partir d'une séquence de type FLASH multi-écho multi-angle avec un algorithme dédié permettant de calculer la fraction volumique de graisse (FVG) avec correction des effets des temps de relaxation par estimation séparée du T_1 et T_2^* de l'eau et de la graisse, avec prise en compte des 5 composantes spectrales principales des lipides par précalibration et la levée de l'ambiguité de composante dominante pour une quantification pouvant s'étaler de 0 à 100 %. L'IVIM a été réalisé en respiration libre à partir d'une séquence SE-EPI single-shot avec imagerie parallèle (facteur 2). Trois gradients de diffusion orthogonaux sont appliqués séquentiellement pour chacun des 12 facteurs b (0,10,20,40,60,80,100,200,300,400,600 et 800 $s.mm^{-1}$). Le nombre d'accumulation était pondéré selon le facteur b (entre 2 et 9). Le temps d'écho est minimal (54 ms) et le TR de 2000 ms. Un total de 21 coupes axiales de 8 mm ont été acquises avec une matrice de 128 × 96 (reconstruit 256²) pour un FOV de 400 × 300 mm². A partir de cette acquisition les paramètres IVIM (le coefficient de diffusion pure (D_{Slow}), le coefficient de diffusion lié à la perfusion (D_{Fast}) et la fraction de perfusion (f)) sont calculés. Ce protocole a été réalisé sur un groupe de sujets sains (n=33) et deux groupes de patients avec stéatose pure (n=16) et avec stéato-hépatite (n=4).

RESULTATS: Les FVG moyennes estimées sont respectivement de $2,9 \pm 0,9\%$; $14,2 \pm 9,5\%$; et $23,8 \pm 4,5\%$ dans le groupe de volontaires sains, de stéatoses pures et de stéato-hépatites. Entre les sujets sains et les patients porteurs de stéatoses pures, D_{Slow} est significativement diminué ($1,03 \pm 0,07$ contre $1,11 \pm 0,08 \times 10^{-3} mm.s^{-2}$; $p<0,01$) alors qu'aucune différence significative n'est observée pour les autres paramètres. Entre les patients porteurs de stéatoses pures et les patients atteints de stéato-hépatites, D_{Slow} est une nouvelle fois significativement réduit ($0,85 \pm 0,10 \times 10^{-3} mm.s^{-2}$; $p<0,01$) ainsi que D_{Fast} ($75,4 \pm 13,1$ contre $105 \pm 27,8 \times 10^{-3} mm.s^{-2}$; $p<0,05$).

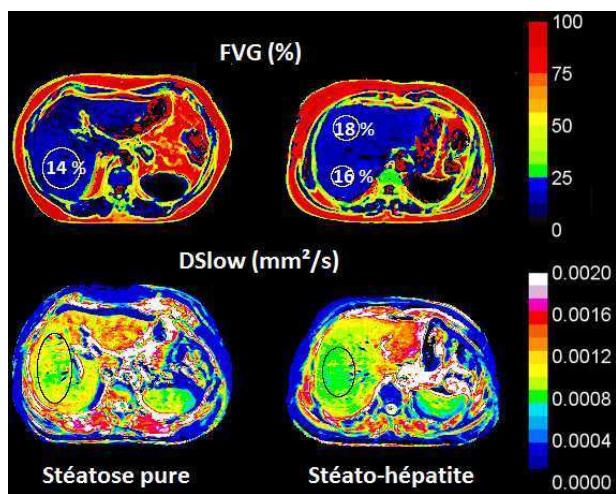


Fig.1: Cartographies de FVG et de D_{Slow} chez un patient porteur d'une stéatose (droite) et un patient porteur d'une stéato-hépatite (gauche).

DISCUSSION: Les vacuoles graisseuses présentes dans les hépatocytes au cours de la stéatose hépatique restreignent la diffusion moléculaire comme le souligne la diminution de D_{Slow} entre les sujets sains et les sujets porteurs de stéatose. La stéatose pure ne modifie cependant pas la micro-perfusion, D_{Fast} ne variant pas entre les deux groupes. Chez les sujets porteurs d'une stéato-hépatite, la fibrose associée restreint un peu plus la diffusion moléculaire et modifie la micro-perfusion comme le montre la diminution de D_{Fast} entre les patients porteurs de stéatose pure et les patients porteurs de stéato-hépatite. Ces premiers résultats montrent que la combinaison de l'IVIM avec une méthode de quantification de la graisse pourrait permettre de distinguer la stéato-hépatite de la stéatose pure.

[1] Szczepaniak L et al. Am J Physiol Endocrinol Metab. 2005;288:462-468.

[2] Bernsmeier C et al. Forum Med Suisse. 2011;11:53-57

C. Debacker^{1,2,3}, A. Daoust^{1,2}, J. Warnking^{1,2}, J. Voiron³, E.L. Barbier^{1,2}¹Grenoble Institut des Neurosciences, Université Joseph Fourier, Grenoble, France²U836, Inserm, Grenoble, France³Bruker Biospin MRI, Ettlingen, Germany

Introduction: In the existing equations for Arterial Spin Labelling (ASL) quantification, some uses a tissue T₁ map and some do not. In this study, we evaluate the effect of a change in tissue T₁ on the cerebral blood flow (CBF) estimated with ASL. To modify brain T₁, we injected a low dose of Mn²⁺. This contrast agent enters cells [1] which yields a tissue T₁ stable during the ASL measurement.

Material and Method: Anesthetized (isoflurane) rats (male wistar, 241±12g) received an 80nl intra-cerebral injection (S1 cortex) of either Mn²⁺ diluted in tris-HCl (group A, n=5) or tris-HCl only (group B, n=5) (injection speed: 8nl/min). Six hours after injection, MRI was performed on a 7T horizontal scanner (Bruker Biospec 70/20 USR AV III) with a volume transmit/surface receive coil configuration. A MDEFT sequence was performed to delineate the Mn enhanced area (Fig.1). The subsequent images were acquired with an EPI sequence (64x64 matrix in 3x3cm FOV). ASL was performed with a continuous ASL scheme (Spin-echo EPI, TE=17.2ms, Labeling duration: τ=4s, postlabeling delay: ω=0.2s, 30 pairs). A T₁-map was acquired with selective inversion and EPI acquisition (18 inversion times). To ensure that Mn does not perturb the tissue perfusion, a dynamic susceptibility contrast (DSC) protocol was performed (Gradient-echo EPI, TE=15ms, TR=250ms, 300 dynamics, Gd-DOTA: 0.2mmol/kg.). To obtain CBF from ASL data, we used Eq.1, which accounts for tissue T₁ [2], and Eq.2 which does not [3]. To analyze the DSC data, we fitted the change in R₂* over time with a gamma-variate function.

$$CBF^w = \frac{\Delta M \lambda}{2\alpha M_0 T_1^{app}} \quad (1) \quad CBF^{wo} = \frac{\Delta M \lambda \exp(\omega/T_1^b)}{2\alpha M_0 T_1^b (1 - \exp(-\tau/T_1^b))} \quad (2)$$

ΔM is the signal difference between control and label acquisitions, λ is the blood/tissue water partition coefficient (0.9ml/g), α is the labeling efficiency (0.76), M₀ is approximated by the control image intensity, T₁^{app} is the apparent longitudinal relaxation time, T₁^b is the longitudinal relaxation time of blood (2.1s). For each animal, two cortical regions of interest were manually drawn: the Mn enhanced area and its contralateral counterpart.

Results: Fig.3a shows a significant reduction in tissue T₁ after Mn injection (Mn: T₁^{app}≈1081±150ms versus control: T₁^{app}≈1610±20ms). Fig.3b shows CBF values obtained with Eq.2. The CBF in the Mn injected area is lower than in all control situations. This is no longer true when tissue T₁ is accounted for (Eq. 1) (Fig. 3c). The later result is in agreement with Fig.3d, which shows that the mean transit time (MTT) is constant across all situations. In addition, the Tris-HCl injection had no impact on tissue perfusion (Fig.3). This study demonstrates that tissue T₁ has a strong impact of the CBF estimates obtained with ASL and should therefore be accounted for, especially in pathological situations. The results also suggest that Eq.1 properly accounts for this impact and yields robust CBF estimates in case of tissue T₁ variation.

Conclusion: A change in tissue T₁ has a strong impact on CBF estimated with ASL. Using Eq.1 properly accounts for this effect.

References:

- Lin YJ, Koretsky AP. Manganese ion enhances T1-weighted MRI during brain activation: an approach to direct imaging of brain function. *Magn Reson Med.* 1997;38(3):378–388.
- Alsop DC, Detre JA. Reduced transit-time sensitivity in noninvasive magnetic resonance imaging of human cerebral blood flow. *J. Cereb. Blood Flow Metab.* 1996;16(6):1236–1249.
- Wang J, Alsop DC, Li L, et al. Comparison of quantitative perfusion imaging using arterial spin labeling at 1.5 and 4.0 Tesla. *Magnetic Resonance in Medicine.* 2002;48(2):242–254.

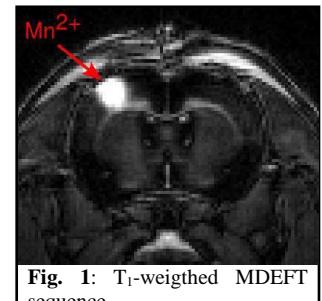


Fig. 1: T₁-weighted MDEFT sequence.

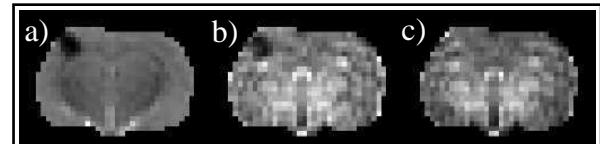


Fig. 2: a) Map of T₁app b) CBF_{wo} map calculated with Eq.2 c) CBF_w map calculated with Eq.1

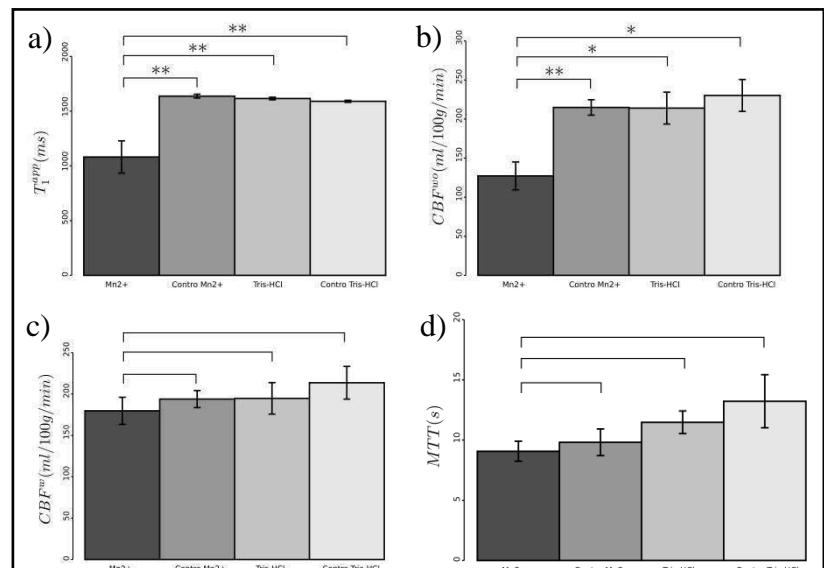


Fig. 2: a) T₁^{app} in 2 regions of interest (group A: Mn²⁺ injected area, contralateral area; group B: Tris-HCl injected area, contralateral area). b) CBF_{wo} calculated with Eq.2. c) CBF_w calculated with Eq.1. d) MTT. *: p<0.05, **: p<0.01. Wilcoxon rank sum test.

Cyclic Variation of Myocardial Blood Flow Assessed with cine-ASL

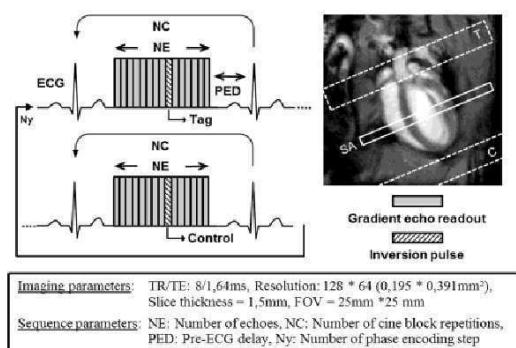
Thomas Troalen¹, Thibaut Capron¹, Patrick Cozzone¹, Monique Bernard¹ and Frank Kober¹

¹Centre de Résonance Magnétique Biologique et Médicale (CRMBM), UMR CNRS N°7339, Faculté de Médecine, Aix-Marseille Université, Marseille, France

Introduction

Myocardial blood volume (MBV) and flow (MBF) vary during the cardiac cycle in response to pulsatile change in coronary circulation and cyclic variation in myocardial tension. A recent study has reported a cyclic change of regional MBV in the mouse heart (1) but MBF variations over the entire cardiac cycle has not been previously reported. An original arterial spin labeling (ASL) scheme (cine-ASL (2,3)) allowed us to dynamically map changes of MBF across the cardiac cycle.

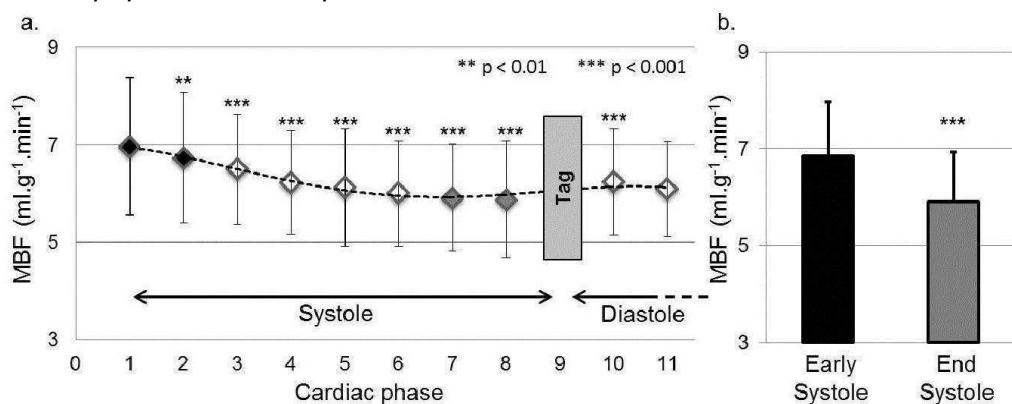
Material and Method



The Cine-ASL technique relies on a fast ECG-gated Cine-FLASH sequence repeated over several cardiac cycles for each line of k-space. At each cardiac cycle, one single gradient-echo is substituted by a selective inversion pulse, labeling the blood at the level of the aortic root (Figure 1). The study was done in twenty healthy mice anesthetized with 1.5% isoflurane at 4.7T. The number of cardiac phases was chosen so as to acquire two thirds of the cardiac cycle.

Results

Consistent spatial and temporal MBF distributions in the left myocardium during the cardiac cycle were observed in the twenty normal mice studied. Figure 2(a) shows the averaged MBF values as a function of cardiac phase measured in the lateral wall, each point being separated by 8ms. The mean MBF over the cardiac cycle increased from $5.9 \pm 1.1 \text{ mL g}^{-1} \text{ min}^{-1}$ to $7.0 \pm 1.4 \text{ mL g}^{-1} \text{ min}^{-1}$. Figure 2(b) presents the MBF values with biggest difference (14%) obtained between early-systole and end-systole.



Conclusion

In this study the cyclic change of regional MBF was examined by mapping MBF with a steady-pulsed arterial labeling approach. Such an approach yields MBF maps with high spatial and temporal resolution since it relies on steady-state signal changes rather than transient changes as in bolus tracking-based methods. We demonstrated the feasibility of mapping cyclic MBF change at rest *in vivo*. The cyclic MBF amplitude can be expected to increase under cardiac stress, which will be subject to further investigation. Measuring cyclic MBF changes may reveal new physiologic information and may also be useful in certain cardiac pathologies.

References

- (1) Wu EX, et al. J Magn Reson Imaging 2004 ;19:50-58
- (2) Troalen T, et al. Proc. Int'l. Soc. Mag. Reson. Med. 20 (2012); abstract number 3896
- (3) Troalen T, et al. Journal of Cardiovascular Magnetic Resonance 2012, 14(Suppl1):O74 doi:10.1186/1532-429X-14-S1-O74

Session 4 :

Traitement des images à travers les échelles

et les modalités

JC Olivo-Marin¹

¹ Institut Pasteur, Unité d'Analyse d'Images Quantitative, CNRS URA 2582

An increasing number of biological projects aim at elucidating the links between biological function and phenotype through imaging and modelling the spatiotemporal characteristics of cellular or organism dynamics. We will present and discuss some recent developments of robust and automated tools and software for flexible and robust quantitative assessment of 2D/3D+t dynamic imaging data from biological projects. Thanks to these tools, it is possible in a large number of experiments to automate the extraction of quantitative data from images and to facilitate the understanding of the biological information contained therein.

Traitements d'images appliqués à la mesure de temps de vie de fluorescence en microscopie optique sur des structures mobiles dans les cellules biologiques

P. Roudot¹, C. Kervrann¹, J. Salamero², F. Waharte²

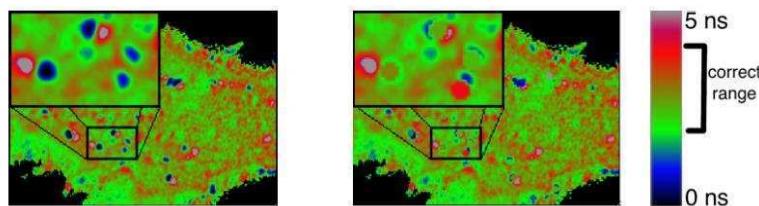
¹Inria Rennes - Bretagne Atlantique 35 042 Rennes Cedex, France

²UMR 144 CNRS - PICT IBiSA - Institut Curie 75 248 Paris V, France

L'imagerie de temps de vie de fluorescence (FLIM) est une technique permettant la mesure du rendement quantique d'une molécule fluorescente, grandeur sensible aux variations de l'environnement et en particulier à la présence d'une molécule accepteur dans une configuration de transfert d'énergie par FRET (Förster Resonance Energy Transfer). Cette approche est de plus en plus utilisée pour des applications biologiques dans des cellules vivantes ou des tissus, voire des organismes entiers, car elle apporte des informations biochimiques directement dans des échantillons intacts. Toutefois, dans le cas des études sur cellules vivantes, plusieurs types de mouvement peuvent se produire pendant le processus d'acquisition : la migration cellulaire, le trafic vésiculaire, les changements de forme des structures subcellulaires, etc... Tous ces mouvements induisent une modification du signal de fluorescence au cours du temps à une position spatiale donnée (c.-à-d. un pixel de l'image). Etant donné que l'imagerie de temps de vie de fluorescence dans le domaine fréquentiel (FD-FLIM) repose sur la quantification de la variation de fluorescence, les mesures peuvent ainsi être modifiées et conduire à des interprétations erronées ou masquer des processus subtils. Nous présentons ici une analyse de ce problème afin d'aborder une question biologique précise : l'interaction en cellules vivantes entre le récepteur à l'interféron IFNAR1 et la kinase Tyk2 dans les cellules RPE-1 au cours de l'endocytose. Nous proposons dans ce cadre une démarche pour déterminer avec la plus grande précision la durée de vie de fluorescence sur des structures mobiles (vésicules transportant la protéine IFNAR1-GFP) grâce au suivi de particules.

Méthode et résultats

Dans les séquences d'acquisition d'images en FD-FLIM, la variation d'un temps de vie se traduit par une variation dans la phase de la modulation sinusoïdale de l'intensité de fluorescence. Le problème se résume donc à l'estimation des paramètres régissant la sinusoïde décrivant la modulation de l'intensité de la structure (par exemple une vésicule) ainsi que les paramètres de son mouvement. Nous proposons une approche statisticienne pour résoudre ce problème en alternant estimations robustes du mouvement et des paramètres d'intensité. Afin de valider nos résultats, nous avons testé nos algorithmes sur des séquences dont les vésicules intracellulaires ont été suivies à la main ainsi que sur des séquences simulées, et comparé notre approche à un algorithme spécialisé dans le suivi de vésicules, représentant l'état de l'art dans le domaine. De plus, la prise en compte de la signature du bruit instrumental améliore non seulement les résultats du suivi mais aussi l'estimation de temps de vie sur des cellules fixées ne présentant pas de mouvement.



Exemple de reconstruction de carte de temps de vie de fluorescence de IFNAR1-GFP dans les cellules RPE-1

Conclusion

Notre méthode permet de reconstruire la carte de temps de vie de l'échantillon habituellement corrompu par le mouvement des vésicules d'une manière efficace et rapide en imagerie FD-FLIM. Cette étude montre l'importance de prendre en compte le modèle de variation d'intensité, tout en suivant les vésicules. D'autres méthodes de suivi de particules ou de mesure de déformations de structures pourront être utilisées pour étendre notre approche à des problématiques biologiques différentes.

3D BONE CELLS QUANTIFICATION FROM 3D MICRO-CT IMAGES

Pei Dong^{1,2}, Sylvain Haupert³, Pierre-Jean Gouttenoire^{1,2}, Cécile Olivier^{1,2}, Françoise Peyrin^{1,2}

¹ CREATIS, Inserm, U1044; CNRS, UMR5220; INSA-Lyon; Université Lyon 1 ; Université de Lyon; F-69621, Lyon, France

²ESRF, Imaging Group, 38043 Grenoble Cedex, ³LIP, CNRS UMR 7623; UMPC Univ Paris 6, 75005 Paris.

Introduction

To understand the bone fragility in diseases such as osteoporosis, recent researches pointed out the important role of the osteocytes in the regulation of bone modeling and remodeling [1]. The osteocytes are embedded in the bone matrix enclosed by a porous complex network called lacunar-canaliculi network (LCN). The geometry of LCN is believed to be an important determinant mediating the mechanosensing and mechanotransduction of osteocytes. The properties of osteocyte lacunae have mainly been studied from 2D microscopic images without specific image analysis software. In this work, we propose an automated method based on synchrotron radiation micro-computed tomography (SR- μ CT) to quantify the distribution of the 3D morphology of osteocytes lacuna properties, and illustrate its application on female femoral cortical bone.

Material and Method

Human cortical bone samples were obtained from femoral mid-diaphysis of two female donors at age of 78 and 80. Twelve samples were imaged from SR- μ CT at ESRF, Grenoble. For each sample, 3000 projection images were recorded over a total angle of 360° at a fixed energy of 25keV. A 3D image volume with the isotropic special resolution of 1.4 μ m was reconstructed by a filtered back-projection algorithm. Volumes of interest (VOI) of 1.4 mmx1.4 mmx0.35 mm were analyzed in each sample. The osteocyte lacunae were first segmented from the reconstructed image and labeled [2]. A 3D moment based method was applied to assess lacunae morphology. Descriptive data such as the volume Lc.V, length (Lc.L1), width (Lc.L2), height (Lc.L3) as well as aspect ratio (Lc.L1/Lc.L2) were computed on each cell and statistical results are reported. Besides, the number of lacunae (N.Lc), the cortical bone density (BV/TV) and the 3D bone lacunae number density (N.Lc/BV) are also calculated in 3D.

Results

Our method was successfully applied to all samples and allowed to quantify a large population of cells (>10000 by VOI). Fig 1 illustrates 3D renderings of the segmented osteocytes lacunae around the Haversian canals. Table 1 reports statistical results from one sample on the geometry parameters of osteocyte lacunae.

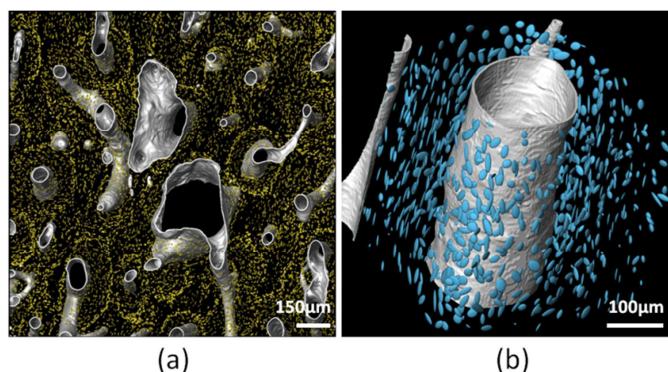


Fig.1 (a) Segmented osteocyte lacunae (yellow) and Haversian canal(white). (b) Tensor display of osteocyte lacunae (blue).

Conclusion

Because of the limitations of proper imaging techniques and quantification methods, there is lack of 3D data on the morphological properties of lacunae. We proposed a method to extract direct 3D characteristics of the osteocyte lacunae geometry from 3D SR- μ CT images at the micrometer scale. The method allows unbiased estimation of the lacunae sizes in their main directions while this cannot be achieved from 2D slices because of the cutting directions. The method is automatic and allows the analysis of a large population of cells. The statistical results are in agreement with existing reports [3]. We believe that such a technique can bring biologically relevant data to get a better understanding of the role of osteocytes in bone diseases.

References

- [1] L. F. Bonewald, *J. Bone Miner. Res.*, vol. 26, no. 2, pp. 229–238, 2011.
- [2] A. Larrue, et al., *PLoS ONE*, vol. 6, no. 7, p. e21297, 2011.
- [3] D. Sharma et al., *Bone*, vol. 51, no. 3, pp. 488–497, 2012.

Results	ind03ech03
N.Lc	12578
BV/TV(%)	92.1%
N.Lc/BV(mm ³)	19836
Lc.V (μm ³)	364.27±147.06
Lc.L1 (μm)	17.59±4.65
Lc.L2 (μm)	9.14±2.05
Lc.L3 (μm)	4.92±1.21
Lc.L1/Lc.L2	2.03±0.73

Table 1 Statistical results of osteocyte lacunae shape parameters

LOCUSuite: a complete software suite for brain scan segmentation

S. Doyle¹, F. Forbes¹ and M. Dojat²

¹INRIA Rhône-Alpes

²INSERM, U836

Introduction

MR brain scan segmentation is a challenging task with various neuroscientific and clinical applications. Considering pathological data, the robust and rapid delineation of the damaged and recoverable region can be critical for patient rehabilitation, as is the case for stroke data. Typically, segmentation is performed manually by a medical expert, however some automatic methods have been proposed to alleviate the tedious, time consuming and subjective nature of manual delineation. We propose a complete software suite, LOCUSuite, intended for use by clinicians, that provides tools for automatic quantitative measures of brain tissue, structure and lesion volumes.

Materials & Methods

The TS-LOCUS [2] tool robustly and rapidly segments normal brain volumes into their respective sub-cortical tissues and structures. The entire volume is partitioned, and a statistical model is invoked for each sub-volume. Locally, intensity inhomogeneity effects are less pronounced, and so the distributed local processes in each subvolume overcome bias field artefacts. Markovian principles are applied to ensure global consistency, as well as to integrate a priori anatomical knowledge and capture the relationship between tissues and structures.

The P-LOCUS [1] tool addresses the unique challenge of segmenting pathological volumes, particularly stroke and multiple sclerosis cases. The algorithm avails of complementary information from multiple MR sequences, a priori probabilistic tissue atlases and the novel incorporation of prior probabilistic vascular territory atlases. A Bayesian weighted model is used to describe the data from multiple sequences. This model allows for the specification of prior beliefs to describe the relative information content of voxels in each sequence. An appropriate choice of prior densities enables the lesion voxels to be included as inliers in the model, and consequently resolves delineation problems associated with underrepresented and uncharacteristic lesion voxels. The probabilistic vascular territory atlas helps to overcome misclassification due to artefacts by modeling the potential progression and delimitation of vascular accidents. The P-LOCUS algorithm can operate in a semi-supervised or fully autonomous setting. Easy-to-use manual delineation tools are included, should the neurologist wish to further refine the segmentation.

Results

The LOCUSuite algorithms are robust to image artefacts and fast (typically 3, 15 and 30 minutes for tissue, structure and lesion data respectively). Both algorithms have been independently evaluated in the literature, exhibiting low sensitivity to artefacts such as noise and intensity inhomogeneity. The TS-LOCUS algorithm has been tested against both simulated Brainweb normal data, and real normal datasets. The P-LOCUS algorithm has been evaluated using both simulated and real pathological datasets. Specifically, MS and stroke results were compared favourably against those of competing algorithms. The P-LOCUS vascular accident segmentation tool is currently under evaluation by a team of neurologists at the Grenoble Institute of Neuroscience.

Conclusion

The software is implemented in C++, using the VTK (<http://www.vtk.org>), ITK (<http://www.itk.org>) and Qt (<http://qt.nokia.com>) libraries. A package is available for MAC, Windows and Linux with a standard laptop with 2Gb RAM minimum. More information is available at <http://www.p-locus.com>.

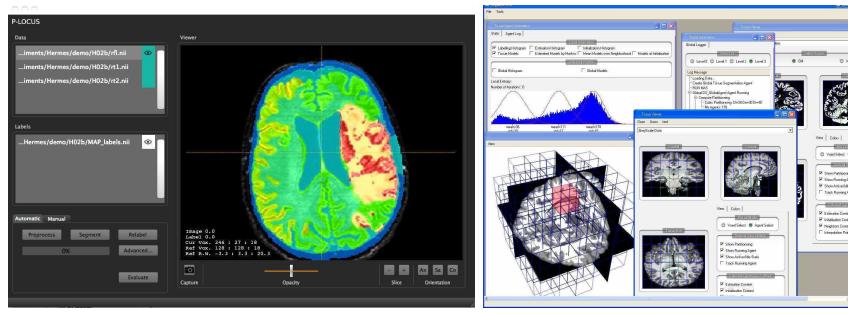


FIGURE 1 – LOCUSuite interface tools.

References

- [1] Florence Forbes, Senan Doyle, Daniel García-Lorenzo, Christian Barillot, and Michel Dojat. Adaptive weighted fusion of multiple mr sequences for brain lesion segmentation. In *ISBI*, pages 69–72. IEEE, 2010.
- [2] Benoit Scherrer, Florence Forbes, Catherine Garbay, and Michel Dojat. Distributed local mrf models for tissue and structure brain segmentation. *IEEE Trans. Med. Imaging*, 28(8) :1278–1295, 2009.

A multi-atlas based method for automated anatomical rat brain MRI segmentation and extraction of PET kinetics

S. Lancelot^{1,2}, A. Hammers³, J.B. Langlois⁴, C. Bouillot⁴, L. Zimmer^{1,2,4}, N. Costes⁴

¹Centre de recherche en neurosciences de Lyon, Equipe BIORAN, Bimarqueurs radiopharmaceutiques et neurochimiques, Lyon

²Hospices Civils de Lyon, Hôpitaux de Lyon

³Fondation Neurodis, chaire de neuroimagerie fonctionnelle, Lyon, France

⁴CERMEP – Imagerie du vivant, Lyon, France

Introduction

Data processing of rat brain PET images for pre-clinical imaging requires precise and reproducible delineation of emitting and non-emitting cortical and sub-cortical structures. This segmentation is necessary for extraction of regional time-activity curves and correction of spillover and partial volume effects. A template in reference space is required for the spatial normalization of individual brains for voxel-based analysis. We evaluated a set of manually created rat brain atlases, an anatomical template, and two methods for segmenting brain structures.

Material and Method

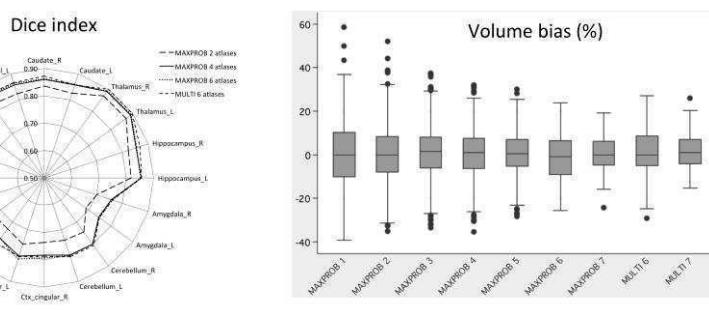
Seven individual rat brain high-resolution 7T 3DT2 MRIs were acquired (volumes of 192x256x45 voxels with voxel sizes 0.1x0.1x0.5mm³). Individual atlases were created by manually drawing 14 anatomical structures (cortical and sub-cortical structures, white matter and ventricles leading to 29 labelled ROIs), using a detailed delineation protocol, and in reference to the Paxinos atlas¹. The MRI template was created by choosing one MRI defining the reference space, and performing a 2-steps iterative procedure: affine registration of individual MRIs and averaging of the seven resampled MRI in the reference space. With the direct and inverse transformation matrices from individual spaces to reference space, each atlas was resampled in native and in reference space. Automated segmentation in native space was obtained in two ways: 1) Maximum probability atlases were created by decision fusion in the reference (template) space² and backtransformed into individual native space (MAXPROB); 2) Individual atlases were registered directly to individual native spaces, followed by decision fusion³ (PROPAG). To estimate maximal accuracy, all combinations of two, three, four, five, six or all seven individual atlases were created. Accuracy was evaluated by computing 1) the Dice index (Dice; overlap of the automated and the manual structure delineation measured as intersection/average), 2) the volume bias (relative difference of region volumes measured automatically and manually). Robustness and reproducibility of PET regional measurement using automated segmentation was evaluated on an independent set of coregistered MRI/PET data.

Results

Dice indices were always over 0.7 and reached maximal values of 0.9 using MAXPROB and PROPAG with the maximum possible of six individual atlases. There was no significant mean volume bias. Standard deviations of interindividual regional volumes decreased significantly when increasing the number of individual atlases. MAXPROB performances increased with increasing number of atlases used, and reached performances of the PROPAG method with six atlases, but the performance gains did not reach significance beyond the use of three individual atlases. There were no significant differences in regional PET measures extracted automatically with either automatic method, or manually.

Conclusion

Availability of multi-atlases simplifies and improves the methodology for rat image spatial normalization, automated extraction of regional values, and modelling of functional PET data. The PROPAG capability may also enable automatic labelling of atrophied rat brains, in analogy to results in humans⁴.



Dice index and volume bias of the ROI: results of the segmentation methods with increasing number of individual atlases.

References

- Paxinos G, Watson C. The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates. Academic Press (1986).
- Hammers et al., Human Brain Mapping (2003).
- Heckemann et al., Neuroimage (2006)
- Heckemann et al., Neuroimage (2010)

Détection de changements le long des faisceaux de la substance blanche. Application au suivi longitudinal de pathologies neuro-dégénératives.

A.Grigis^{1,2}, V. Noblet², F. Heitz², F. Blanc¹, J. de Seze¹, S. Kremer¹, J.P. Armspach¹

¹Université de Strasbourg, CNRS, LINC-IPB, UMR 7237

²Université de Strasbourg, CNRS, LSIIT, UMR 7005

Introduction : L'IRM de diffusion (IRMd) est une modalité d'imagerie médicale en développement très rapide qui suscite un intérêt croissant dans la recherche en neuroimagerie. Elle permet d'apporter *in vivo* des informations nouvelles sur les micro-structures locales des tissus. En chaque point d'une acquisition d'IRMd, la distribution des directions de diffusion des molécules d'eau est modélisée par un tenseur de diffusion. La nature multivariée de ces images nécessite de nouvelles méthodes de détection statistique adaptées aux images du tenseur de diffusion qui sont proposées dans le cadre du suivi longitudinal de pathologies neuro-dégénératives [1].

Matériel et Méthode : Lors d'un suivi longitudinal, des tests statistiques multivariés permettent de comparer des régions d'intérêt supposées homogènes. Afin de respecter cette hypothèse, les régions d'intérêt proposées sont définies en adaptant le voisinage local à la structure des faisceaux de la substance blanche. Cette étape nécessite une tractographie suivie d'une étape de clustering permettant de regrouper les faisceaux homogènes. Des tests statistiques multivariées sur les tenseurs sont alors proposés pour détecter des altérations locales ou globales des faisceaux.

Résultats : Les performances de la nouvelle méthode sont évaluées dans le cadre du suivi longitudinal de la neuromyélite optique de DEVIC (dix patients). La détection de changements met en évidence des changements dans la substance blanche d'apparence normale en IRM conventionnelle. Cette étude a également permis de mettre à jour des liens entre les résultats détectés et l'évolution de l'état clinique des patients (EDSS et tests cognitifs).

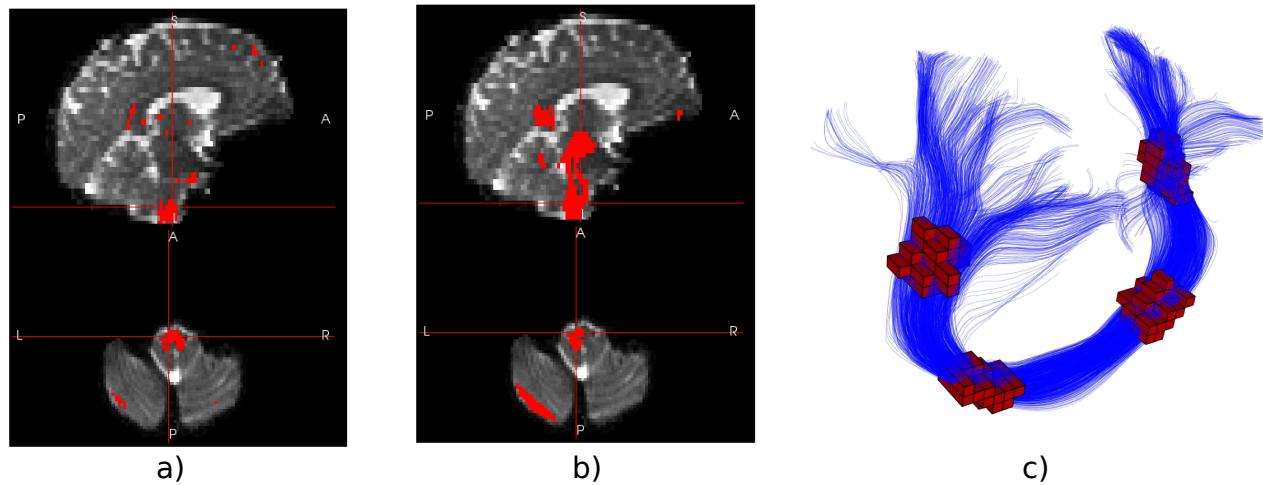


Figure 1 : Cartes de détection obtenues lors du suivi longitudinal d'un patient avec les méthodes a) locale et b) globale, et c) géométrie du voisinage adaptatif obtenue en quatre échantillons d'un faisceau.

Conclusion : La détection de changements le long des faisceaux de substance blanche permet d'adapter les régions d'intérêt à la structure même des faisceaux. Elle donne des résultats très prometteurs en mettant en évidence des changements de la microstructure de la substance blanche non visibles en IRM conventionnelle.

Références

1. A. Grigis et al. *NeuroImage*, 4:2206--2221, 2012.

Multiparametric microvascular MRI: a cluster approach to characterize glioma

N Coquery^{1,2}, C Debacker^{1,2}, R Farion³, O Francois⁴, C Rémy^{1,2,3}, E Barbier^{1,2}

¹Inserm, U836, Grenoble

²Université Joseph Fourier, Grenoble

³Grenoble MRI Facility IRMaGe, Grenoble

⁴TIMC-IMAG laboratory, UMR5525, CNRS, Grenoble

Introduction

Several microvascular factors relevant to tumor diagnosis, follow-up or response to treatment may be obtained with MRI: apparent diffusion constant (ADC), cerebral blood volume (CBV) [1] and flow (CBF), integrity of the vascular wall with the area under curve after Gd-DOTA injection (AUC_{Gd-DOTA}) [2], tissue oxygen saturation (StO₂) [3], and cerebral metabolic rate of oxygen (CMRO₂). The accumulation of parameter maps yields however some difficulty for interpretation. In this study, we propose a cluster-based approach to highlight the tissue structures that exhibit similar physiological characteristic.

Material and Method

Two orthotopic rat models of glioma were studied: C6 model (Wistar rats, n=13) and F98 model (Fischer rats, n=13). Multiparametric microvascular MRI was performed at 4.7 T (Avance III; Bruker) between 22 and 26 days after tumor inoculation. Six MRI parameters were mapped: ADC (TR/TE = 3000/28.6 ms, b~0 and 900 s/mm²), vascular wall integrity assessed with a DCE-MRI approach and the calculation of the AUC following an intravenous injection of a Gd-chelate [2], CBF using continuous arterial spin labeling (ASL; spin-echo EPI, TE=17.2ms, Labeling duration=4s, postlabeling delay=0.2s, 20 pairs), CBV and StO₂ as previously described [3]. A CMRO₂ map was computed using $CMRO_2 = CBF \times (1-StO_2/100)$. A cluster analysis was performed on voxels obtained from the 26 animals (13 animals/model) and three regions of interest (ROI; total voxels number=3405) drawn on the T₂-weighted (T₂w) image with the largest tumor surface: tumor (n= 2525 voxels), contralateral striatum (n= 347 voxels) and cortex (n= 533 voxels). We computed a matrix of pairwise Euclidean distances based on the six MRI parameters and we used an agglomerative method to build a hierarchical clustering dendrogram implemented in the R computer package. Ward's method was chosen to minimize the variance within clusters. We used the reconstructed tree to explore results with values of the number of cluster ranging between 2 and 7.

Results

Compartmentalization of tumor becomes stable for five clusters. The contralateral cortex and striatum are homogeneously composed of the same cluster (red), which can thus be related to "healthy" voxels. Tumor model may be differentiated: C6 tumors are heterogeneously composed of "healthy" cluster in red and "pathological" clusters whereas F98 tumors are mainly composed of "pathological" clusters. A spatial cluster pattern emerges for each tumor model, with increasing ADC, AUC_{Gd-DOTA}, and decreasing CBF, StO₂, CMRO₂ (yellow to purple cluster).

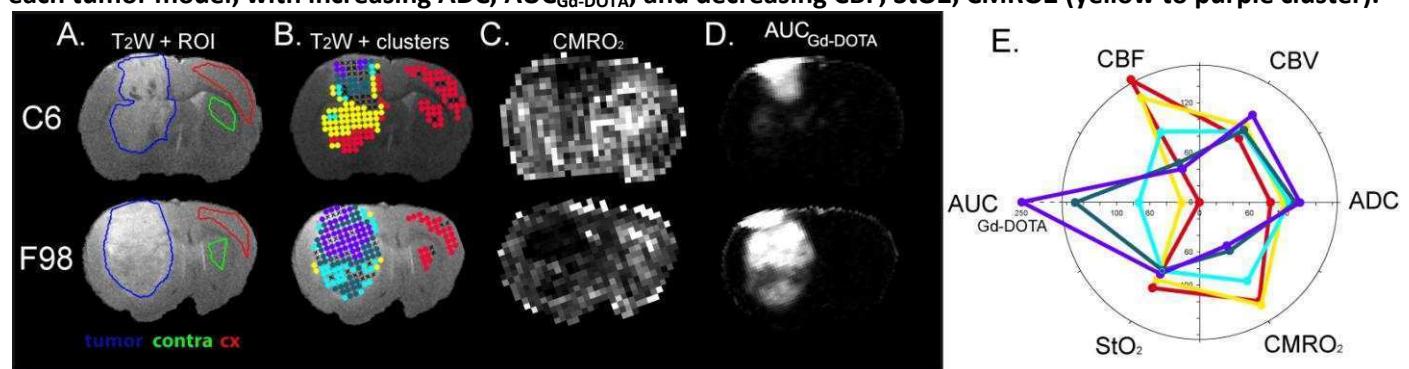


Figure 1: (A) T₂w images from C6 and F98 glioma models in rat. ROI are depicted: tumor (blue), contralateral striatum (green) and cortex (red). (B) Distribution of five clusters in each ROI. Color code is related to (E) where all parameters are described as their relative variation for each cluster. Black crosses represent excluded voxels. Examples of CMRO₂ (C) and AUC_{Gd-DOTA} (D) maps are illustrated.

Conclusion

Cluster analysis can be used to structure the wealth of information gathered with multiparametric microvascular MRI. Several types of physiological behavior emerge from this analysis which may ease tumor follow-up and the evaluation of therapeutic strategies, in particular those directed towards microvascular features.

References

1. Valable et al., *NMR Biomed*, 21, 1043-1056, 2008
2. Lemasson et al., *Radiology*, 257, 342-352, 2010
3. Lemasson et al., *Radiology*, epub, 2012

Session 5 :
Diagnostic, thérapie et suivi médical assistés
par l'imagerie

Cancer de la prostate: Aide au diagnostic et thérapie focale

Nacim Betrouni¹, Philippe Puech^{1,2}, Pierre Colin^{1,3}, Arnauld Villers^{1,3}, Serge Mordon¹

¹INSERM, U703, Université Nord de France

²Service de Radiologie, CHRU de Lille

³Service d'Urologie, CHRU de Lille

Introduction

Le développement de nouvelles alternatives thérapeutiques permettant un traitement focal des lésions cancéreuses au sein de la prostate est aujourd’hui discuté. La thérapie focale ou ablation sub-totale est définie comme une technique permettant de réaliser l’ablation d’une région cancéreuse connue de la prostate en épargnant le parenchyme glandulaire sain. Cette préservation a pour but de diminuer les effets indésirables (dysfonction érectile et incontinence) liés à la proximité des bandelettes neuro-vasculaires et du sphincter strié. Il s’agit donc « d’une ablation sélective de la zone malade afin de minimiser la morbidité sans compromettre l’espérance de vie ».

La mise en place d’une thérapie focale nécessite au préalable une cartographie précise du cancer dans la glande prostatique.

Matériel et Méthode

Le projet mené par l’unité 703 a un double objectif : d’un côté développer des méthodes d’aide au diagnostic du cancer de la prostate en se basant sur l’IRM multiparamétrique et d’un autre optimiser des protocoles de traitement focal par laser interstitiel ([1], [2]).

Sur le premier point, les approches développées visent à l’introduction de méthodes de détection et de classification non supervisée voire semi-supervisée pour la construction d’un programme d’aide au diagnostic. Le choix des algorithmes et des modélisations à mettre en place prend également en compte la combinaison optimale des différents paramètres extraits des images et les informations qu’ils apportent ([3], [4]).

Pour le second objectif, nous avons recours à la thérapie photo-dynamique et/ou la thérapie thermique par laser interstitiel en optimisant les outils dosimétriques permettant la planification d’un traitement pour maximiser la dose dans la cible et épargner les tissus sains. Les développements concernent également les aspects de guidages du geste en utilisant l’imagerie multi-modalité.

Résultats

Sur le premier aspect, les résultats à mi-parcours sont encourageants et montrent que l’association de l’IRM multiparamétrique et des outils de traitement (analyse de texture, analyse pharmaco-cinétique et fusion de données) permettent d’améliorer la détection des cancers (volume >0.5 cc) à des stades précoces.

Sur le plan traitement, l’étude préclinique [5] a permis de définir des paramètres optimaux et reproductibles pour avoir des nécroses de 1 cc de volume. Parallèlement, grâce à la collaboration avec un industriel, nos outils de planification dosimétrique font partie d’un protocole d’évaluation de phase III d’une nouvelle technique de traitement par thérapie photodynamique [6].

Conclusion

La thérapie focale pour le cancer de la prostate apparaît aujourd’hui comme une technique alternative se plaçant entre la thérapie radicale et la surveillance active pour certains patients diagnostiqués à des stades précoces. L’essor de la technique passe par le développement d’outils d’aide au diagnostic, de la définition de critère de sélection des patients et le développement d’outils de planification, de guidage et de suivi basés sur l’imagerie multimodalité.

Références

1. Puech P, Sufana Iancu A, Renard B, Villers A, Lemaitre. Detecting prostate cancer with MRI - why and how. Diagn Interv Imaging. 2012 Apr;93(4):268-78
2. Villers A, Marliere F, Ouzzane A, Puech P, Lemaître L. MRI in addition to or as a substitute for prostate biopsy: the clinician's point of view. Diagn Interv Imaging. 2012 Apr;93(4):262-7.
3. Makni N, Iancu A, Colot O, Puech P, Mordon S, Betrouni N. Zonal segmentation of prostate using multispectral magnetic resonance images. Med Phys. 2011 Nov;38(11):6093-105.
4. Lopes R, Ayache A, Makni N, Puech P, Villers A, Mordon S, Betrouni N. Prostate cancer characterization on MR images using fractal features. Med Phys. 2011 Jan;38(1):83-95
5. Colin P, Nevoux P, Marqa M, Auger F, Leroy X, Villers A, Puech P, Mordon S, Betrouni N. Focal laser interstitial thermotherapy (LITT) at 980 nm for prostate cancer: treatment feasibility in Dunning R3327-AT2 rat prostate tumour. BJU Int. 2012 Feb;109(3):452-8.
6. Betrouni N, Lopes R, Puech P, Colin P, Mordon S. A model to estimate the outcome of prostate cancer photodynamic therapy with TOOKAD Soluble WST11. Phys Med Biol. 2011 Aug 7;56(15):4771-83.

La chirurgie oncologique guidée par la fluorescence

Gabriele Barabino (MD)^{1,2,3}, Jack Porcheron (MD)², Michèle Cottier (MD)³, Jean Marc Phelip (MD)³, Jean-Guillaume Coutard (PhD)⁴, Michel Berger⁴, Sylvain Gioux (PhD)⁴, Véronique Josserand (PhD)¹, Michelle Keramidas¹, Christian A. Righini (MD)¹, Jean-Marc Dinten (PhD)⁴ and Jean-Luc Coll (PhD)¹

¹ INSERM-UJF U823, Institut Albert Bonniot, 38706 Grenoble, France

² Oncological and Digestive Surgery, Saint Etienne University Hospital, 42000 Saint Etienne, France

³ L.I.N.A. EA 4624, 42000 Saint Etienne, France

⁴ CEA, LETI, MINATEC CAMPUS, 17 rue des martyrs 38054 Grenoble cedex 9, France

La limite de la chirurgie oncologique reste encore aujourd’hui l’évaluation intra-opératoire par le chirurgien des marges tumorales, point critique pour la survie du patient à long terme.

Une résection chirurgicale avec des marges insuffisants ou en laissant de la tumeur en place, implique une récidive probable de la maladie. C’est pour cette raison que la chirurgie oncologique aujourd’hui doit viser comme objectif une résection complète de la maladie tumorale (résection définie R0).

La vision oculaire, la palpation chirurgicale et l’échographie intra-opératoire restent les sols « armes » à disposition pour le chirurgien pour détecter et réséquer les lésions tumorales.

Depuis les années 2000, les scientifiques se sont de plus en plus intéressés à l’utilisation de la fluorescence dans la chirurgie oncologique. La différence d’autofluorescence à des longueurs d’ondes déterminées entre le tissu sain et le tissu tumorale permet déjà dans nombreuses applications (surtout lors de l’endoscopie digestive et/ou respiratoire) d’augmenter la sensibilité et la spécificité de la résection. Le développement de produits fluorescents (nanoparticules, vert d’indocyanine,...) associés à une technologie de vision en « real-time » permet d’amplifier la vision de la tumeur et du tissu péri-tumorale.

Ultrasonography-based 2D motion compensated HIFU sonication integrated with reference-free MR temperature monitoring: a feasibility study *ex vivo*

V Auboironx¹, L Petrusca¹, M Viallon^{2,3}, T Goget¹, C D Becker² and R Salomir^{1,2,4}

¹Faculty of Medicine, University of Geneva, Switzerland

²University Hospitals of Geneva, Geneva, Switzerland

³Creatis, Lyon, France

⁴Inserm, ADR 05 Rhône Alpes, Lyon, France

Introduction

The purpose of the current study was to demonstrate in moving phantoms the feasibility of ultrasonography-based 2D motion compensated HIFU sonication integrated with reference-free MR temperature monitoring, using a clinical ultrasonic imager and a phased array HIFU transducer. The interest of such an approach is to take advantage of the real-time motion information provided by US imaging [1,2,3] and the PRFS quantitative thermometry provided by MR imaging.

Material and Methods

A ventilator-driven balloon produced periodic and non-rigid (i.e. breathing-like) motion patterns in phantoms (see fig.1). MR-compatible US imaging enabled near-real time 2D motion tracking based on optical flow detection, while near-harmonic reference-free PRFS MR thermometry (MRT) [4] was used to monitor on line the thermal was build up.

Reference-free PRFS MRT applied to gradient-echo EPI phase maps acquired with 3 T MRI, at the frame rate of 250 to 300 ms/slice with voxel size $1.25 \times 1.25 \times 5 \text{ mm}^3$.

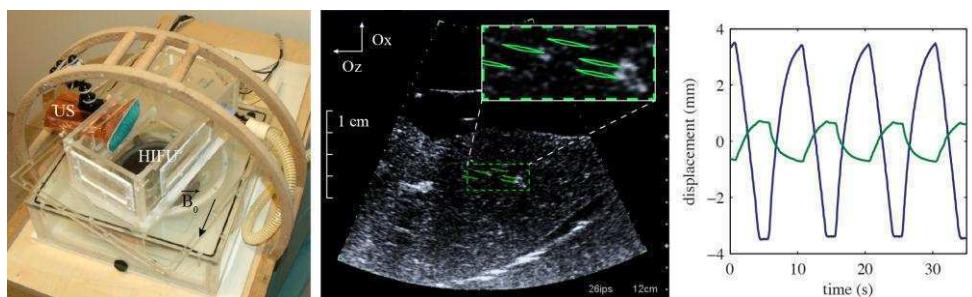


Fig. 1: Experimental setup (left), in-plane trajectories of mass points in the region of interest over one full respiratory cycle overlaid on US image (middle) and plots of the 2D components of the motion vector vs. time (right)

Results

The MR-US simultaneous imaging was completely free of mutual interference while minor RF interferences from the HIFU device were detected in the far field of the US images. The effective duty-cycle of the HIFU sonication was close to 100 % and no off-interval was required to temporally decouple it from the ultrasonography. The motion compensation of the HIFU sonication was achieved with an 8 Hz frame rate and sub-millimeter spatial accuracy, both for single-focus mode and for iterated multi-foci line scan. Near harmonic reference-less PRFS MRT delivered motion-robust thermal maps perpendicular or parallel to the HIFU beam (0.7°C precision, 0.5°C absolute accuracy). As shown in fig.2 for a 12mm-amplitude of motion, the compensation enabled the restoration of the circular shape of the focal spot in the coronal plane. Out-of-plane motion compensation was not addressed in this study.

Conclusion

This feasibility study demonstrated that clinical 3 T MRI, clinical standard 2D US imaging and HIFU can be integrated and operated together at near-real time resolution for active motion tracking and focus locking on target. Furthermore, this methodology is directly useable for non-periodic in plane motion as the near real time motion compensation does not require a predictive approach, and the reference free PRFS thermometry does not require a priori knowledge of the motion patterns.

References

1. Tang *et al.* IEEE Trans Med Imaging, 27:247-54, 2008.
2. Feinberg *et al.* Magn Reson Med, 63:290-6, 2010.
3. Viallon *et al.* Proc. ISMRM. 19th Scientific Meeting and Exhibition, 2010.
4. Salomir *et al.* IEEE Trans Med Imaging, 31(2):287-301, 2012

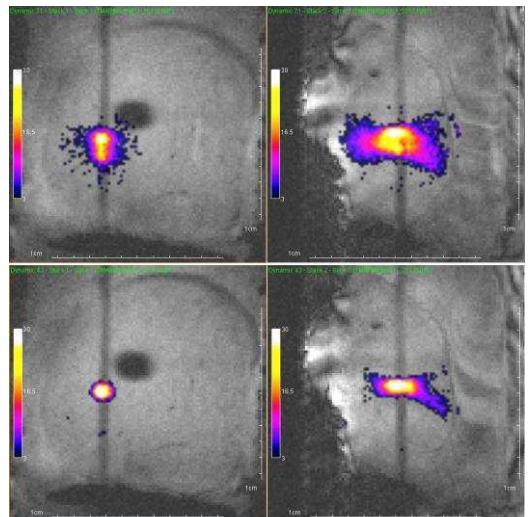


Fig. 2: Comparison between MRgHIFU sonication without motion compensation (upper row) vs. motion compensation (lower row), in two orthogonal planes (coronal and sagittal, left and right respectively). The color code for temperature elevation ranges from 3°C to 30°C. A distance scale is provided on right side of each frame.

Title: Intraoperative oxygenation imaging during transplant surgery

Author: Sylvain Gioux, Beth Israel Deaconess Medical Center / Harvard Medical School, Boston, MA, USA

Abstract: The measurement of tissue oxygenation is a critical parameter widely used in patient care. However, currently available instruments only offer local readings resulting in the need for a priori knowledge of the location of a potential problem. Visualization of oxygenation over large areas could improve patient management in many surgical and critical care applications. In this study we present the design and optimization of a novel multispectral imaging system working in the spatial frequency domain to provide oxygenation imaging in the clinic. In particular, wavelengths have been selected to allow for rapid oxyhemoglobin and deoxyhemoglobin measurements, surface profile was acquired and accounted for in optical properties measurements, a novel laser-diode source was constructed to provide high fluence rates over large fields of view (> 5 cm), and the system integrated in a clinically-compatible platform. Oxygenation measurements using this novel device have been conducted on Yorkshire pigs undergoing vascular occlusion and release experiments. The results were similar to those obtained from a clinically approved local oxygenation probe. Finally, the device was able to provide skin flap oxygenation images of women undergoing breast reconstructions following mastectomy. This study lays the foundation for the translation of real-time oxygenation imaging in the clinic.

PET-based dose delivery verification in hadrontherapy: simulation study of PET system designs in realistic clinical conditions

C Robert¹, N Fourrier¹, P Gueth², L Grévillot², D Sarrut², I Buvat¹

⁽¹⁾ IMNC - UMR 8165 CNRS, Campus d'Orsay, Bat. 440, 91406 Orsay, France, ⁽²⁾ CREATIS - UMR 5220 CNRS, F-69622 Villeurbanne, France, ⁽³⁾ Léon Bérard cancer center, Lyon, France

Introduction

PET imaging is a promising technique for in-vivo treatment verification in hadrontherapy [1]. This method consists in comparing the expected map of the annihilation photons created by beta+ emitters resulting from nuclear fragmentation induced by the irradiation with the measured PET images. Two main PET geometries dedicated to that treatment monitoring have been proposed: the dual-head PET geometry [2] and the OpenPET geometry [3]. The aim of the present work was to characterize the performances of these dedicated PET detectors in realistic clinical conditions. We also analyzed the added-value of an accurate modeling of the imaging and reconstruction processes in comparison with a simple 3D-Gaussian convolution as already clinically applied in [4].

Material and methods

Several configurations of the two systems were simulated using GATE v6.1 [5] (Fig. 1). For the dual-head configuration, three aperture angles ($\phi = 14^\circ, 30^\circ$ and 46°) were studied. For the OpenPET system, three gaps between rings were investigated ($G = 110, 120$ and 160 mm). A conventional full-ring PET system was also simulated. After preliminary evaluations of the efficiency and spatial resolution using a Derenzo phantom including inserts between 2 mm to 10 mm in diameter, a real prostate treatment plan (2 Gy) was simulated, with and without (Fig. 1) introducing patient displacements. No washout was taken into account. 3D maps of the annihilation photon emission locations were deduced from the PET data acquired right after the treatment session (5 minute acquisition), using a dedicated OSEM reconstruction algorithm.

Results

Efficiency at the center of the FOV varied from 14.4% (46° dual-head system) to 19.1% (conventional PET). For comparable apertures, the dual-head system had a more uniform efficiency within the FOV than the OpenPET system. The insert contrast was better recovered with the OpenPET configurations (Fig. 2). All investigated architectures except for the $\phi = 46^\circ$ dual-head system could detect a 1 mm mispositioning of the patient (Fig. 3). We also found that accurate modeling of the PET imaging process and reconstruction is required to avoid erroneous estimates of the patient shift (Table 1).

Conclusion

OpenPET systems and small opening angle dual-head systems make it possible to reach the millimetric accuracy targeted for patient positioning verification in hadrontherapy. The accurate modeling of the PET imaging process and associated image reconstruction is required to avoid erroneous estimates of the patient shift.

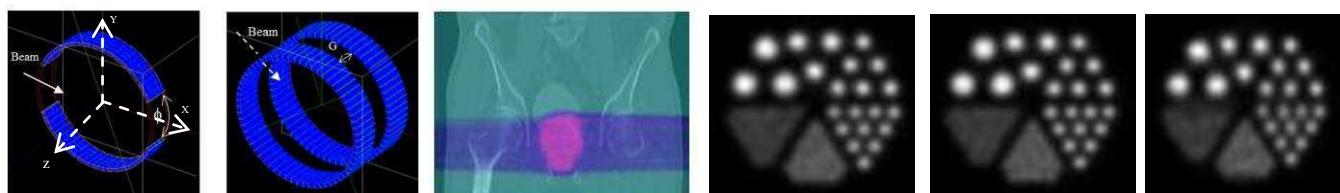


Fig. 1: Simulation of the dual-head PET architecture (left), OpenPET system (middle) and prostate treatment plan (c) in GATE.

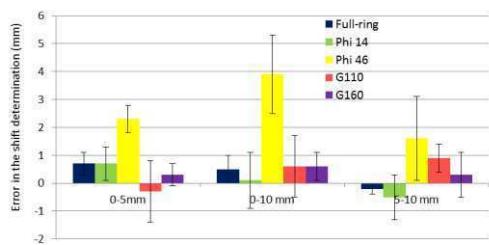


Fig. 2: Reconstructed images of the transaxially off-centered Derenzo phantom (50 iterations). Full-ring PET (left), OpenPET ($G = 160$ mm, middle) and dual-head system ($\phi = 46^\circ$, right).

Fig. 3. Errors in the shift estimates (mm) for the different PET systems when the patient was moved in the posterior-anterior direction (Y).

	Full-ring PET	$\phi = 14^\circ$	$\phi = 46^\circ$	$G = 110$ mm	$G = 160$ mm
Difference in fall-off positions (mm)	2.6 ± 0.9	3.5 ± 0.7	9.9 ± 5.4	2.0 ± 1.0	2.5 ± 1.3

Table 1. Differences in fall-off positions in the Y-direction depending on whether the PET image is obtained from the annihilation photon map using a convolution model or using the complete Monte Carlo simulation and reconstruction process.

References

1. K. Parodi *et al.*, Phys Med Biol, 47: 21-36, 2002.
2. P. Crespo *et al.*, Phys Med Biol, 51: 2143–2163, 2006.
3. T. Yamaya *et al.*, Phys Med Biol, 53: 757–73, 2008.
4. K. Parodi *et al.*, Phys Med Biol, 52: 3369-3387, 2007.
5. S. Jan *et al.*, Phys Med Biol, 56: 881-901, 2011.

Lecture des tests intradermiques à la tuberculine par spectroscopie : résultats cliniques

Anne Koenig¹, Sophie Grande², Karima Dahel², Anne Planat-Chrétien¹, Vincent Poher¹, Catherine Goujon², Jean-Marc Dinten¹

¹CEA, LETI, MINATEC, 17 rue des Martyrs, F38054 Grenoble, France

²Unité de recherche Clinique Lyon Sud CHU Lyon Sud 69495 Pierre Bénite Cedex

Introduction

La spectroscopie de réflectance diffuse a été largement utilisée pour déterminer les propriétés d'absorption et de diffusion dans les tissus [1] [2]. Nous avons développé un système de lecture optique bas-coût associé à une méthode de traitement des signaux permettant une lecture précoce et objective pour détecter une inflammation de la peau avant l'apparition de signes cliniques. Dans cet article nous présentons tout d'abord le système et la méthode que nous avons développée, puis les résultats d'une évaluation clinique de lecture de tests tuberculaires menée sur sujets volontaires.

Matériel et Méthode - Material and Method

Le système, aisément transportable, se compose d'une lampe halogène en lumière blanche comme source d'excitation, d'une sonde fibrée résolue spatialement pour l'éclairage et la détection, d'un spectromètre à fibre pour la détection et l'enregistrement des spectres rétrodiffusés, d'un moteur de déplacement pour la lecture de chacune des fibres de détection, et d'un PC pour contrôler l'acquisition des données en moins de cinq secondes puis les traiter. La sonde placée sur la zone à lire est constituée d'une fibre d'illumination (500 µm de diamètre) et d'un réseau de fibres optiques - dont la géométrie de placement à différentes distances de la fibre d'illumination a été optimisée - pour la collection de la lumière rétrodiffusée à la surface du tissu (300 µm de diamètre) [3].

Les variations en quantité des principaux chromophores (oxyhémoglobine, désoxyhémoglobine, lipides et eau) présents dans la peau témoignent de la réaction au produit injecté. Une méthode basée sur la comparaison des mesures à des courbes de référence et à une zone non injectée donne accès aux paramètres optiques μ_a et μ_s' au niveau de l'injection qui sont alors traduits en concentrations en chromophores.

Résultats - Results

L'évaluation clinique a été effectuée sur 30 sujets volontaires après avoir signé leur consentement. Les sujets ont reçu une injection intradermique de tuberculine provoquant une réaction d'hypersensibilité retardée, ainsi qu'une injection de sérum physiologique comme contrôle. Les tests ont ensuite été lis cliniquement et instrumentalement à différents délais post-injection, puis les résultats des deux modes de lecture comparés. A 72h post injection, délai usuel de la lecture clinique d'un test à la tuberculine, nous obtenons une parfaite concordance entre les résultats de lecture clinique et instrumentale. Nous démontrons aussi que la détection précoce de la réaction de 16 à 18 heures après l'injection de la tuberculine est possible en utilisant notre système.

Conclusion

Nous pensons que l'optimisation du système et l'extension du spectre étudié vers le proche infra-rouge permettra de réduire ce délai post-injection à quelques heures pour diminuer le temps de lecture des réactions d'hypersensibilité retardée et pour objectiver le phénomène. Ce système de lecture permettrait aussi de différencier les réactions inflammatoires allergiques des réactions non spécifiques comme l'irritation.

Références – References

1. N. Rajaram et al., "Lookup table-based inverse model for determining optical properties of turbid media," *Journal of biomedical optics*, vol. 13, 2008, p. 050501.
2. P. Thuler et al., "In vivo endoscopic tissue diagnostics based on spectroscopic absorption, scattering, and phase function properties," *Journal of biomedical optics*, vol. 8, 2003, p. 495.
3. A. Koenig et al., "Diffuse Spectroscopy for Tissue Characterization: Application to Skin Tests Reading" *Biomed/DH Joint Poster Session (JM3A)*, Miami, Florida April 28, 2012

Morphological assessment of non-human primate models of osteoarthritis using HR-MRI and µCT arthrography

E. Chereul¹, D. Grenier², A-L. Perrier², F. Taborik³, L. Mahieu-Willame², K. Tse Ve Koon²; T. Chuzel¹, S. Martin¹, L. Magnier¹, X. Pesesse⁴, Sandra Pietri⁵, H. Contamin³ and O. Beuf²

¹VOXCAN, Marcy l'Etoile, France ; ²Université de Lyon, CREATIS CNRS UMR 5220; Inserm U1044; INSA-Lyon; Université Lyon 1, Villeurbanne, France ; ³Cynbiose, Marcy l'Etoile, France ; ⁴Bone Therapeutics, Grosselies, Belgium; ⁵Laboratoire de Rhumatologie, Hôpital Erasme, ULB, Bruxelles, Belgium.

Introduction

Small animal models of osteoarthritis (OA) do not mimic perfectly the complex conditions occurring in human OA. OA that closely resembles the human condition occurs naturally in primate making non-human primates (NHP) useful to model the human disease. Non-invasive techniques such as 3D HR-MRI have been validated to directly assess the cartilage thickness on guinea pigs (1) and instrumental developments allowed volume quantification in the different compartments of the cartilage can be achieved on rat models of OA (2-3). Nonetheless, spatial resolution is limited compared to CT scanner that however needs contrast agent injected in the joint to depict cartilage limits. The aim of this work was, based on morphological parameters assessed on MRI and µCT arthrography (CTA) acquisitions, to characterize an induced model of OA by transection of the anterior cruciate ligament (ACL).

Material and Method

The ethical guidelines for animal experimental investigations were followed and the experimental protocol was approved by the Animal Ethics Committee of our institution. Three groups of young four year old female primates were constituted. (i) Group 1 (n=3) and Group 3 (n=3) with control animals where only the right knee was injected with contrast agent (Hexabrix 320mg/ml); (ii) Group 2 (n=6) with ACL transection of the right knee; Group 1 and 3 both allow to assess the potential µCTA protocol impact on the model (comparing right and left knee thicknesses by MRI) and the model characterization (comparing right knee thicknesses of all groups). Primates were examined at baseline, 30, 60, 90 and 180 days after surgery. For µCTA, an additional measurement point was performed at D15. MRI was performed on a 1.5T Siemens Sonata system using a dedicated home-made pair of two-channel array coil. Each dual-channels array coil was interfaced with a flex interface from Siemens and a coil configuration file was created to drive the interface in array mode. HR-MRI was performed in the sagittal plane using a 3D water excitation FLASH sequence. A total of 120 partitions (220 µm thick) were acquired with an in-plane pixel of 112 x 131 µm². The scan time was 20 min. µCTAs were performed on a GE Locus µ-CT at standard voltage and amperage parameters with an isotropic resolution of 90µm. The scan time was 15 min. For each animal, both knees were scanned in the same FOV. For both modalities, 3D thicknesses of the lateral and medial cartilage tibial plateaus were assessed using the same image processing protocol. First a double segmentation procedure was achieved with a rough and manually handled contour segmentation to isolate the cartilage regions of interest (ROI) followed by a regional automatic global segmentation procedure extracting medial and lateral cartilage ROIs. Inside the segmented ROIs, the quantification of cartilage thicknesses was performed using the method described by Hildebrand et al. (4).

Results

The µCTA protocol (repeated injection of contrast agent in the knee) did not interfere with the model development since comparisons of cartilage thickness MRI measurements between injected and non-injected knees in control animals showed a mean residual of $R1 = 0.015 \pm 0.134$ mm, a value well below MRI spatial resolution. Additionally; the cartilage thickness µCTA measurements (acquisition and processing protocols) did not show any bias with respect to MRI-based cartilage thickness in control animals: the mean residual between both measurements was $R2 = 0.036 \pm 0.068$ mm, a value well below MRI or µCTA resolution too. Both imaging modalities showed superimpose 3D thickness distributions measurements. Mean cartilage thickness of medial tibia plateaus of the right joint were found constant for G1 but decreased significantly for G2 from D15 (-2.1±5.5 %) to D90 (-25.8±6.1 %) and with intermediate values on D30 (-12.6±8.1 %) and D60 (-20.2±4.8 %).

Conclusion

The cartilage thickness µ-CTA measurement on a NHP model of OA by transection of the ACL was validated with respect to the MRI approach since no residual measurement between both methods were found above the resolution of these techniques. Moreover the NHP model of OA was characterized by both imaging methods showing a monotone progression of the cartilage thinning up to -25.8±6.1 % on D90.

References

1. R. Bolbos et al., *Osteoarthritis Cartilage* 15:656-65 (2007).
2. A. Rengle et al., *IEEE Trans Biomed Eng* 56:2891-2897 (2009).
3. JC. Goebel et al., *Rheumatology* 49:1654-1664 (2010).
4. T. Hildebrand and P. Ruegsegger, *J Microsc* 185:67-75 (1997).

Acknowledgment: This work is funded by OSEO by grant E! 5671 from the Eurostars European program.

Comparaison de méthodes d'analyse paramétrique de la perfusion tumorale pour un suivi longitudinal en IRM.

SA Raslan^{1,2}, ME Cohen², M Lefort², K Ershad², C Pellet-Barakat², F Frouin², O Lucidarme^{1,2}

¹Service de Radiologie Polyvalente Diagnostique et Oncologique, CHU Pitié-Salpêtrière, Paris, France

²Laboratoire LIF, UMR_S 678 UPMC/Inserm, Paris, France

Introduction : L'IRM dynamique injectée est une méthode en plein développement permettant une caractérisation *in vivo* de la micro vascularisation. Elle permet une mesure de la perfusion sanguine, qui est devenue un paramètre fonctionnel important pour la détection et la caractérisation de nombreuses pathologies, notamment en oncologie. Dans le cadre de l'évaluation des tumeurs solides métastatiques, elle doit permettre de mesurer l'efficacité des nouvelles thérapeutiques ciblées. Le but de cette étude est de comparer différentes méthodes d'analyse des examens d'IRM dynamique pour un suivi longitudinal de 9 patients ayant des tumeurs abdominales métastatiques et soumis à un traitement anti-angiogénique (association de Cetuximab® et de Temsirolimus®).

Matériel et Méthode : Dans un premier temps, nous avons appliqué les séquences cliniques d'IRM sur un fantôme contenant différentes concentrations de gadolinium, afin d'obtenir une cartographie T1 et évaluer l'homogénéité du signal dans le champ magnétique. Dans un second temps, nous avons analysé les images d'IRM des patients de façon quantitative avec le logiciel commercial de Siemens, qui utilise le modèle compartimental de Tofts [1] et de façon qualitative avec des logiciels de recherche: Anatomist/Brainvisa [2] pour le recalage et la visualisation, Pixies [3] pour l'analyse factorielle des séquences d'images médicales (AFSIM). Nous avons comparé les résultats obtenus aux valeurs du critère RECIST (Response Evaluation Criteria in Solid Tumors). Pour la méthode quantitative, trois types de fonction d'entrée artérielle (rapide, intermédiaire et lente) ont été testés. Les paramètres fournis par le logiciel : Ktrans, Kep, Ve et l'aire sous la courbe dans les premiers 60 secondes (iAUC) ont été estimés systématiquement sur trois régions elliptiques: une placée sur la cible tumorale au niveau de son plus grand diamètre, une autre sur le foie sain et la troisième sur du muscle squelettique. Pour la méthode qualitative, un recalage élastique des séquences dynamiques a permis la compensation des mouvements respiratoires et deux types de méthodes de recalage rigide ont été testés pour le recalage des données longitudinales (d'un examen à l'autre pour un même patient). L'AFSIM, permet d'analyser plusieurs coupes à la fois, montrant les différentes cinétiques du produit de contraste au sein des différentes zones dans l'image.

Résultats : Les résultats sur fantôme montrent l'inhomogénéité du signal dans le champ magnétique qui peut biaiser la cartographie du T1. L'analyse par le logiciel commercial a montré que les variations des paramètres cinétiques obtenues pour les trois régions utilisées pour un même patient dans un suivi longitudinal sont élevées et ne dépendent pas que des variations physiopathologiques. Néanmoins, les changements en pourcentage de Ktrans, Ve, Kep et iAUC, entre l'examen de départ et les suivis, sont équivalents dans les trois types d'ajustements utilisés pour la fonction d'entrée. Ces paramètres cinétiques ne sont pas corrélés aux critères RECIST. L'AFSIM permet de mettre en évidence différents degrés de vascularisation des tumeurs pour les patients étudiés. Les logiciels de recalage et d'AFSIM présentent un intérêt, mais doivent encore être validés en vue de leur utilisation pour le suivi longitudinal en oncologie.

Conclusion : Actuellement, la quantification à l'aide d'un modèle pharmacocinétique de la microcirculation en IRM dynamique estime des paramètres cinétiques qui doivent faciliter l'analyse physiopathologique du rehaussement tumoral. Cependant, il n'existe pas encore de standardisation pour cette nouvelle méthode de quantification qui reste complexe car dépendante de nombreux paramètres. L'utilisation généralisée de cette méthode en clinique nécessite une compréhension de ses limites et le développement de solutions logicielles pour y remédier.

Références

1. Tofts et al. J Magn Reson Imaging. 10(3):223-32, 1999
2. http://brainvisa.info/index_f.html [Internet].
3. <http://imagerie.apteryx.fr/pixies/> [Internet].

Session 6 :

Bases de données hétérogènes et calculs distribués

Image Data Base on a microscopy facility: Presentation and use for remote collaborations.
Application to modelisation of passage of malaria parasites through the mosquito midgut cells.

P. Paul-Gilloteaux¹, G. Volohonsky², E. A. Levashina³, J. Salamero¹

¹ Cell and Tissue Imaging Facility (PICT-IBISA), UMR 144, CNRS-Institut Curie Section de Recherche, Paris F-75005, France

² IBMC Anopheles group, UPR9022 CNRS, U963 INSERM, 67084 Strasbourg, France

³ Max Planck Institute for Infection Biology, Vector Biology group, Berlin, Germany

Introduction

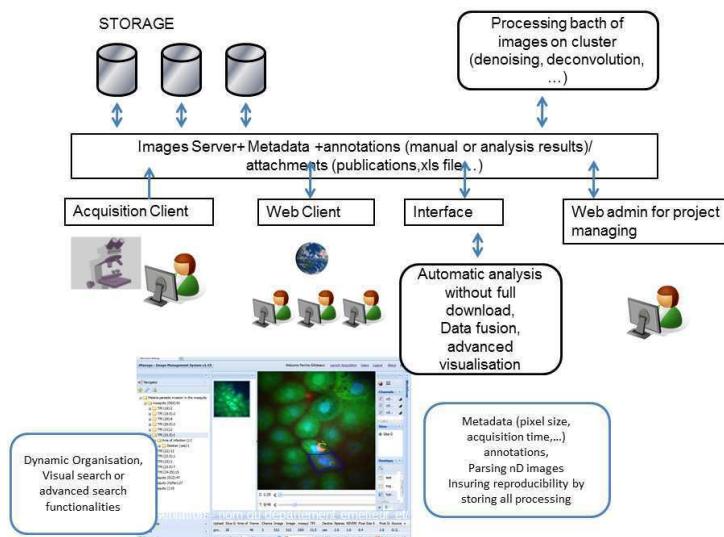
Managing images is now a bottleneck in modern biology, in particular on a microscopy facility. First the volume of data produced on our facility can reach around 200Tb a year, with different format produced by around 40 microscopes, to which data obtained in other places in case of remote collaboration can be added. In addition, the raw data stored in the database is further processed, using off-site or on-site processing facilities. This implies to manage the processes, and to store their results, as well as the processing history.

We will first present why we needed the development of a new image data base tool compared to other solutions, and its deployment from a practical point of view. In order to exemplify the need for such a research tool, we will present an on-going research project about the understanding of malaria parasite development in mosquito.

Material and Method

The Curie image data base was developed in collaboration with the enterprise Strand Scientific Intelligence (San Francisco, USA). It is based on client-server architecture, with a heavy client for the import of image from microscopes and a web client for the management and processing of images. It allows the dynamic organization of data by projects, as well as their annotation, either manual or automatic, extracted from the acquisition itself [1] or from the result of an analysis. In the context of the particular project of the malaria parasite invasion in the mosquito tissues, we expect the combination of analysis at different time points of a data base of around 150 ex vivo acquisition in live midguts to allow the construction of an averaged model of the dynamic behavior of malaria parasites at this stage of its development [2].

Results



Architecture of the database: processing and storage are separate layers from the database server itself. Results of batch processing of data can be stored as textual information or visual annotation (see for example by zooming on the figure the resulting typical spiraling track of a parasite in yellow, as well as damaged cell identified by Dextran staining).

Manual annotations (type of mosquito, time of infection, time post infection...) as well as local processing pipeline results (analysis of parasite tracks compared to position in cells, fate of invaded cells...) are attached to each record of the project.

Conclusion

Image data base for microscopy images are not expected to be only a storage and management tool. It should be also a research tool. The example given is one example among several ongoing projects, all with different needs that we can answer. Next steps will include the integration of this image data base with other data base, such as genome database, or clinical and anatomo-pathological data related to clinical projects.

References

1. M. Linkert et al. Journal of Cell Biology, 189:5777-782, 2010.
2. Vlachou et al. Cellular Microbiology, 6 :671-685, 2004

J. Montagnat¹

¹CNRS, laboratoire I3S (UMR 7271 avec l'UNS)

Introduction

Partant d'un constant, la mise à disposition systématique de cohortes de données biomédicales et le besoin résultant d'accès unifié à ces données à des fins de recherche translationnelle, cette intervention discutera des moyens de fédérer des entrepôts de données indépendants (distribués et hétérogènes) de manière à fournir à l'utilisateur une vue agrégée virtuelle sur plusieurs sources de données.

Matériel et Méthode - Material and Method

Notre approche intègre une modélisation ontologique des concepts du domaine considéré, la création de plans de requêtes distribués et l'utilisation d'interfaces techniques unifiées vers des bases de données de différentes natures. Les technologies issues du Web sémantique, utilisées pour aligner sémantiquement des sources de données hétérogènes, apportent en outre des possibilités inédites de manipulation et de raisonnement sur les données. Enfin, les connaissances issues du domaine, utilisées pour décrire les données, peuvent être complétées par une information sur les traitements appliqués pour la transformation et l'analyse de ces données.

Conclusion

Il en résulte une plateforme intégrée permettant la fédération des données, l'historique des traitements appliqués sur ces données et la production de nouvelles connaissances sur les entités manipulées.

Références – References

1. O. Corby *et al.* " KGRAM Versatile Inference and Query Engine for the Web of Linked Data", IEEE/WIC/ACM International Conference on Web Intelligence, Macao, China, December 2012.
2. A. Gaignard *et al.* "Semantic Federation of Distributed Neurodata", MICCAI Workshop on Data- and Compute-Intensive Clinical and Translational Imaging Applications (DCICTIA-MICCAI 2012), pages 41-50, Nice, France, October 2012.
3. A. Gaignard *et al.* "Characterizing semantic service parameters with Role concepts to infer domain-specific knowledge at runtime". International Conference on Knowledge Engineering and Ontology Development (KEOD'11), Paris, France, October 2011.
4. F. Michel *et al.* "Grid-wide neuroimaging data federation in the context of the NeuroLOG project" in Proceedings of the HealthGrid'10, pages 112-123, IOS Press, Paris, France, June 2010.

OntoCATI et CATISchema: Une ontologie et un schéma pour fédérer les ressources informatiques du Centre d'Acquisition et de Traitement des Images (CATI)

B.Batrancourt¹, S. Poret¹, L. Edward¹, Y.Cointepas², D. Geoffroy²

¹CRICM, UMR_S975, INSERM/CNRS, Université Pierre et Marie Curie, Paris, France

²Neurospin, CEA, Gif-sur-Yvette, France

Introduction

Le CATI est une infrastructure nationale créée dans le cadre du plan Alzheimer. Cette infrastructure de services vise à promouvoir l'utilisation de l'imagerie dans les recherches et les essais thérapeutiques sur la maladie d'Alzheimer. Les services offerts vont du suivi des acquisitions jusqu'à l'analyse des données. Le CATI a pour mission notamment d'assurer le recueil des images IRM et PET des patients (n=2300) de la cohorte MEMENTO[1]. La plateforme informatique est distribuée sur les sites de l'Hôpital Pitié-Salpêtrière (ICM) et de Neurospin (CEA). Une base CATI BUFFER (ICM) centralise les images IRM et PET. Suite aux opérations de contrôle qualité, les images validées seront transmises vers CATI SHARED et CATI CLUSTER (Neurospin) pour exploitation. CATI BUFFER est composée de 2 ressources : le NAS (données semi-structurées, les images DICOM) et une base de données Oracle qui décrit et indexe les images. Afin de fédérer les différentes bases de données impliquées dans les flux CATI, nous développons un schéma de données (CATISchema) ainsi qu'une ontologie (OntoCATI) couvrant un ensemble de domaines : la gestion des études et l'acquisition des données, les opérations de contrôle qualité, les traitements d'images, les flux de données et leur historique ainsi que le domaine de la pathologie cérébrale.

Matériel et Méthode

La méthode de création de OntoCATI et de CATISchema repose sur plusieurs principes de conception :

- 1) Le développement d'une ontologie modulaire et multi-niveaux. La structuration de OntoCATI se fera au moyen d'ontologies de haut-niveau (foundational) [2, 3] (i.e., du moins abstrait au plus abstrait, on trouve : les ontologies de domaine, les ontologies noyaux (core-domain) et les ontologies fondationnelles). Nous suivons ainsi l'approche retenue dans OntoNeuroLOG « structurée au moyen d'une ontologie de haut niveau et intégrant des ontologies génériques de plusieurs domaines » [4]. OntoCATI s'appuie sur OntoNeuroLOG [4] en réutilisant les concepts existants et/ou en les spécifiant et si besoin en créant des concepts originaux.
- 2) Le développement de OntoCATI et de CATISchema tient compte de la modélisation des objets DICOM et des schémas de données émergeants dans les études cliniques et de recherche et notamment de XCEDE [5] dont le développement répondait à l'objectif d'harmoniser les schémas des ressources du réseau BIRN.
- 3) Une gestion simultanée de trois manifestations de l'ontologie: OntoCATI sera spécifiée au moyen du langage semi-informel OntoSpec [6], en OWL et sous la forme d'un modèle relationnel de base de données.
- 4) CATI BUFFER n'est pas une base de connaissances mais une base à visée de recueil exhaustif. Ce point de vue entraîne une certaine simplification de la modélisation. L'intégration d'un champ dans le modèle physique des données –d'un attribut (schéma de données), d'un axe sémantique (ontologie)–n'est pertinent qu'à la condition de ne pas provoquer l'introduction de champs qui resteraient vides dans CATI BUFFER.

Résultats

Une première version de CATISchema fait office de modèle sémantique commun pour les ressources du CATI BUFFER et a permis de structurer les données IRM et PET recueillies dans le cadre de l'étude MEMENTO. Des routines (API Oracle/DICOM) alimentent automatiquement certains champs de la base Oracle à partir des métadonnées des fichiers images DICOM. Un premier effort d'alignement tenant compte de OntoNeuroLOG, DICOM et XCEDE a été réalisé pour un ensemble de concepts majeurs (Subject, Study, Time Point, Visit, Instrument, Dataset, Dataset File). La définition du schéma et de l'ontologie s'étendra dans un deuxième temps aux besoins des traitements d'images et au déploiement de la plateforme CATI à Neurospin.

Références

1. <http://www.fondation-alzheimer.org/content/cohorte-nationale-de-patients-memento>
2. Declerck G. et al. A quoi servent les ontologies fondationnelles ? IC 2012, Paris (France), 2012
3. Kassel G. A formal ontology of artefacts. Applied Ontology, 5: 223-246, 2010
4. Gibaud B. et al. NeuroLOG: sharing neuroimaging data using an ontology-based federated approach. AMIA Annu Symp Proc 2011, 472-80, 2011
5. Gadde S. et al. XCEDE: an extensible schema for biomedical data. Neuroinformatics, 10(1):19-32, 2012
6. KASSEL G. Integration of the DOLCE top-level ontology into the OntoSpec methodology. LaRIA Research Report, 2005

Session 3b :

Les développements récents en méthodologie

et instrumentation

Teodora Scheul¹, Jean-Claude Vial², Irène Wang³

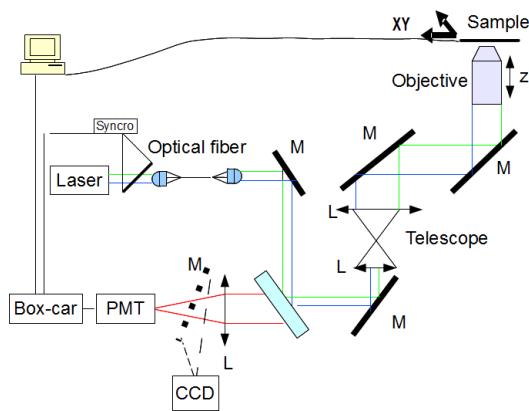
¹ Univ. Grenoble 1/CNRS, LIPhy, UMR 5588, Grenoble, F-38041, France

Introduction

Stimulated emission depletion (STED) microscopy is a well-known and promising super-resolution microscopy method^[1]. However, it requires a rather complex and costly experimental set-up. In the work presented here we aim at building a simplified STED set-up based on a single laser source for excitation and for fluorescence quenching.

Material and Method

The laser source is a Q-switched microchip laser. The two wavelengths 355 nm and 532 nm are generated by harmonic conversion from an Nd-YAG laser emission (1064 nm). This source should allow a simplified STED scheme since the two beams (355 nm for excitation and 532 nm for depletion) are intrinsically aligned and synchronized. Moreover, these micro-chip lasers offer a compact and low-cost alternative to standard STED microscopes, since a single source provides both the excitation and depletion beams and the cost of micro-chip lasers are much lower than the CW or Ti:Sa lasers used in standard STED setups. Therefore, we have started to build the set-up based on the microchip Nd-YAG laser, presented in Fig.1.



Results

The first tests we have done on this set-up were for determining the efficiency of different dyes for excitation at 355 nm and stimulated emission at 532 nm. We will present the results for common dyes such as Coumarine 490, Coumarine 102, Hoescht, Prodan.

One other part of our work was to create the doughnut shape on the 532 nm beam. This was done with a chromatic birefringent device (created from a segmented $\lambda/2$ waveplate) that creates the doughnut shape for the 532 nm beam and does not disturb the 355 nm beam.

Conclusion

We have built a microscope set-up that should allow a resolution improvement up to 50 nm. Preliminary tests were done concerning the adequate dyes that can be used. Future work will be done on fluorescent beads and fixed stained cells.

References

1. S.W.Hell *et al.* Optics Letters, 19:780-782, 1994.

C. Bopp, M. Rousseau, D. Brasse

Université de Strasbourg, IPHC, 23 rue du Lœss 67037 Strasbourg, France.
CNRS, UMR7178 67037 Strasbourg, France.

Introduction

L'intérêt porté récemment à l'hadronthérapie (irradiation de tumeurs par protons ou ions) a résulté en un besoin d'outils plus précis pour la planification de traitement. L'avantage de l'hadronthérapie par rapport à la radiothérapie conventionnelle est de pouvoir précisément cibler la tumeur tout en épargnant les tissus sains adjacents. Cela est dû au comportement des hadrons dans la matière caractérisé par le pic de Bragg. Une imagerie utilisant des protons permet de cartographier la densité en électrons des matériaux traversés, et donc le pouvoir d'arrêt des hadrons dans les tissus. Cette approche conduit à une meilleure précision que la conversion de coefficients d'atténuation de rayons X.

Le principe de l'imagerie proton est le suivant : des protons d'énergie suffisante pour que le pic de Bragg se situe après l'objet à imager sont générés. Les positions et directions de chaque proton sont enregistrées avant et après l'objet, ainsi que l'énergie en sortie. A travers l'équation de Bethe-Bloch, la perte d'énergie mesurée permet de trouver la densité en électrons rencontrée sur le trajet de chaque proton. Le défi actuel est de reconstruire de la façon la plus précise possible la densité en électrons.

Outre les collisions inélastiques avec les électrons qui induisent la perte d'énergie des protons, d'autres interactions entrent en jeu dans l'objet à imager. Les multiples diffusions de Coulomb dévient les protons de leur trajectoire initiale, et les interactions nucléaires inélastiques ont pour effet d'arrêter certains protons. L'apport de la prise en compte de ces observables du point de vue dosimétrique et diagnostique est étudié.

Matériel et Méthode

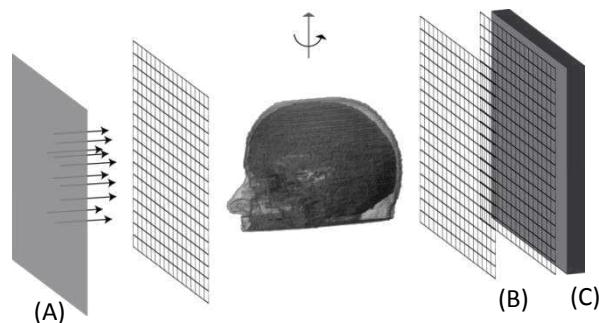


Figure 1 Schéma du scanner à protons simulé composé d'une source plane de protons (A), de trois trajectographes (B) et d'un calorimètre (C)

Une simulation de scanner à protons a été mise en place avec comme objet à imager une tête humaine voxélisée. Des compositions chimiques ont été attribuées aux différentes zones et des tumeurs ont été insérées. Une acquisition de 256 projections autour de la tête avec 100 protons de 200 MeV par millimètre carré a été simulée. Différents algorithmes ont été utilisés afin de reconstruire des images des différentes observables disponibles. Un soin tout particulier a été apporté à la préparation des données afin d'optimiser l'étape de reconstruction.

Résultats et Conclusion

La densité électronique du fantôme étudié a été reconstruite en utilisant trois algorithmes de type analytique, algébrique et statistique pour des données organisées en projections ou en mode liste. Ces résultats nous permettent d'avoir un point de comparaison pour la reconstruction des observables telles que la déviation angulaire et la transmission des protons. Les premières reconstructions utilisant la déviation angulaire et la transmission présentent un bruit plus important que la densité en électrons dû à l'écart-type plus grand sur la distribution des valeurs obtenues. Une reconstruction de nature statistique permet d'améliorer le rapport signal à bruit (cf Figure 2). Une approche algorithmique multi-observable pourrait être la solution afin de différencier des matériaux de compositions différentes mais ayant la même densité en électrons.

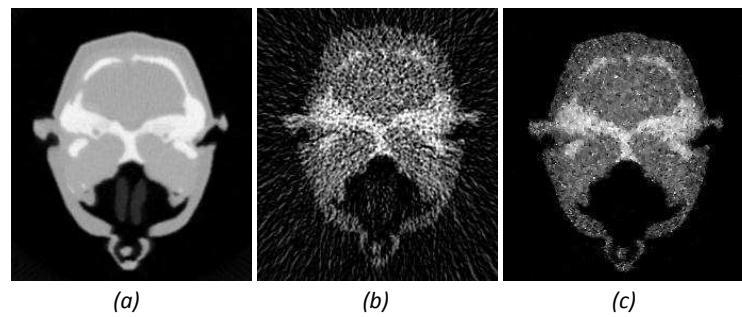


Figure 2 Coupes de reconstructions analytiques de la densité en électrons des matériaux et de leur coefficient d'atténuation des protons (a) et (b) et de reconstruction statistique des coefficients d'atténuations (c)

PIXSIC - Characterisation of a $\beta+$ intracerebral wireless probe for functional imaging coupled with behavioral studies performed on freely moving rats

L. Balasse^{1,2}, J. Maerk³, D. Benoit¹, M. Benoit⁴, J-C. Clemens³, S. Fieux², D. Fougeron³, B. Janvier¹, M. Jevaud³, A. Genoux¹, P. Gisquet-Verrier⁵, F. Lefebvre¹, M. Menouni³, F. Pain¹, C. Tourvieille², C. Morel³, L. Zimmer², P. Laniece¹

¹ IMNC – Imagerie et Modélisation en Neurobiologie et Cancérologie, CNRS / IN2P3 / Université Paris7 et Paris 11, ORSAY, France.

² CRNL - Centre de Recherche en Neurosciences de Lyon, INSERM, CNRS, Université Lyon 1, Lyon, France.

³ CPPM – Centre de Physique des particules de Marseille, CNRS / IN2P3/Université Aix-Marseille, Marseille, France.

⁴ PH-LCD , CERN , Geneva, Switzerland.

⁵ CNPS – Centre de Neuroscience de Paris-Sud , CNRS / Université Paris 11, Orsay, France.

Introduction

Advancing the understanding of neurophysiological mechanisms to decode the functional specificity of brain regions based on small animal *in vivo* studies requires the development of original and well-adjusted methods and instruments. In this field, an exciting challenge remains in the combination of brain imaging techniques and behavioral studies, which helps to associate molecular processes of neuronal communications to the related actions they initiate. However, recent approaches in this context - such as RATCAP and β -Microprobe - are still affected by important constraints considering the investigation of awake and freely moving animals. PIXSIC presents a novel strategy using a submillimetric telemetric pixellated probe for $\beta+$ radiotracer detection based on a reverse biased, high-resistivity silicon diode. The detector permits local time-activity measurements with high sensitivity and additional imaging features.

Material

The prototype of the sensor is 200 μm thick, 690 μm wide and 17 mm long and surrounded by 2 guard rings required to stabilize the probe edge with regard to leakage current. It comprises 10 pixels, with dimensions of 200 $\mu\text{m} \times 500 \mu\text{m}$ that are optimised in terms of beta+ sensitivity versus relative transparency to the gamma background. The probe, which can be stereotactically implanted in the region of interest in rodent brain, is wire-bonded to a PCB fixed on the skull that supports the specific ASIC for the parallel signal processing of each pixel. The PCB is connected to a back-board carried by the animal in a backpack that incorporates the components required to drive the ASIC and to deliver a radio-frequency telemetric signal to the PC acquisition board. It also includes 2 micro-batteries for the power supply of all components. The assembly is sufficiently light and small to prevent any interference with the movements of the animal during the experiments. The RF module renders the setup fully autonomous and therefore limits stress induced in the animal during acquisition and enables behavioral studies.

Results

The physical characterisation of the complete system was performed with a beaker filled with a homogenous aqueous solution of ^{18}F and ^{11}C and confirmed the simulation results in terms of sensitivity with respect to the detection volume. Calculated pixel sensibilities were in the range of 90 cps/(MBq/ml) for ^{18}F and 160 cps/(MBq/ml) for ^{11}C . Response uniformity of the 10 different pixels was evidenced. The theoretical beta-contribution to the signal was 60% and 80% for ^{18}F and ^{11}C , respectively, with a residual noise mainly composed of non-specific gamma background. We proved that parylene coating of the probe protects the sensors against humidity and that the detector sensitivity allows to perform accurate time activity curve measurements with a temporal resolution of less than 2 seconds. As a final result, the first biologic validation was performed on anaesthetised rat and confirmed the compatibility of the probe with pharmacological studies in brain tissue.

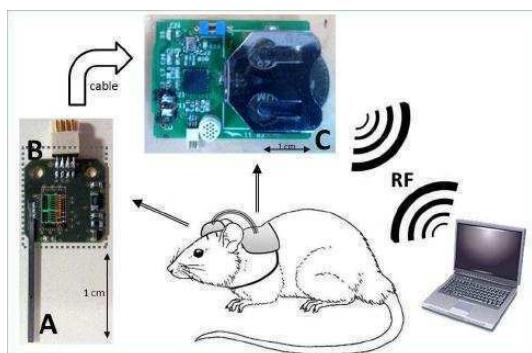


Figure 1 : Illustration of PIXSIC's main components for autonomous experimentation : Prototype of the PIXSIC detector with the silicon probe (A), the signal processing chip (B) and the backpack (C)

Validation du principe de conversion de champ magnétique RF par une technique électro-optique adaptée à l'IRM endoluminale

Reina Ayde¹, Anne-Laure Perrier¹, Raphael Sablong¹, Lionel Duvillaret³, Gwénael Gaborit^{2,3}, Olivier Beuf¹

¹Université de Lyon ; CREATIS; CNRS UMR 5220; Inserm U1044; INSU-Lyon; Université Lyon 1, Villeurbanne, France,

²IMEP-LAHC, UMR CNRS 5130, Université de Savoie, Campus Scientifique, 73376 Le Bourget du Lac Cedex, France,

³Kapteos, Savoie Technolac 73376 Le Bourget du Lac Cedex, France

Introduction

L'exploration de zones profondes par IRM chez l'homme utilisant des capteurs externes ne permet pas toujours de réaliser des images avec une résolution spatiale suffisante. L'acquisition d'images de résolution spatiale submillimétrique peut être réalisée avec des capteurs endoluminaux placés au plus proche de la zone à explorer. Les développements de ce type de capteur ont été compromis par des aspects liés à la sécurité du patient en raison des échauffements localisés qui ont lieu avec une liaison galvanique reliant le capteur au système d'imagerie. Quelques équipes ont développé des capteurs déportés avec une transmission par fibre optique [1]. Par contre, l'utilisation de ces méthodes optiques reste limitée par des problèmes d'encombrement et la nécessité d'alimentation à l'intérieur du capteur endoluminal. Dans ce travail nous présentons une expérience permettant de mesurer un champ magnétique à l'aide d'un capteur RMN classique couplé à un cristal électro-optique (EO). Les cristaux EO présentent un indice de réfraction qui dépend linéairement de l'amplitude d'une composante du champ électrique appliquée au cristal, via l'effet Pockels. Cette propriété permet de les utiliser comme détecteurs diélectriques passifs, dédiés à la mesure vectorielle et non perturbatrice de champs électriques [2]. L'expérience est réalisée à 127 MHz, en vue de la réalisation d'une sonde endoluminale à 3T.

Matériel et Méthode

L'expérience, présentée sur la figure 1, a été réalisée pour valider la conversion du champ magnétique en un signal électrique. Une boucle circulaire en cuivre de 10 cm de diamètre constitue l'émetteur de champ magnétique large bande. Cette émetteur est alimenté par un synthétiseur RF fournissant un signal de fréquence 127 MHz et une puissance variant entre -60 dBm et 14 dBm. Cette puissance électrique est transformée en champs magnétiques par l'émetteur. Le capteur présenté sur la figure 2a) représente un capteur RMN de base à connexion galvanique, il est adapté à 50Ω pour une fréquence de 127 MHz. Ce capteur, placé devant la boucle émettrice RF, transforme le champ magnétique en ddp. Cette ddp est appliquée sur les deux faces opposées d'un cristal EO (LiNbO_3) à l'aide de deux électrodes en cuivre. Une diode laser ($\lambda=1.55 \mu\text{m}$) émet un faisceau optique vers le cristal EO. La polarisation du faisceau est modulée en fonction de la ddp appliquée au cristal. On utilise une lame demi-onde pour placer nos mesures au maximum de linéarité et de sensibilité puis une lame quart-d'onde pour garder uniquement la modulation par effet Pockel. Cette modulation est convertie en un signal électrique à l'aide d'une photodiode. Ce signal modulé est amplifié et envoyé vers un analyseur de spectre.

Résultats

La figure 2b) présente la puissance mesurée (P_{out}) par l'analyseur de spectre en fonction de la puissance émise par le synthétiseur (P_{IN}). Le second axe des abscisses présente le champ magnétique B_x produit par la puissance P_{IN} , au centre de la boucle émettrice. La courbe montre une dynamique de mesure de plus de 60 dB, une bonne linéarité et un champ magnétique minimal détectable de 163 pT.

Conclusion

L'amplitude du champ magnétique RMN à mesurer en IRM étant compris entre nano et micro Tesla, ces résultats montrent la faisabilité de réalisation d'une sonde dédiée à l'IRM par voie endoluminale utilisant une transmission optique.

Remerciement : Les auteurs remercient la région Rhône-Alpes (ADR, projet CIBLE) et la DGA (projet RAPID SNIFER) pour le soutien financier.

Références

- [1] J. Yuan, J. Wei, G. X. Shen, "A 4-channel coil Array Interconnection by analog Direct Modulation Optical Link For 1.5-T MRI", IEEE Transactions on Medical Imaging, Vol. 27, pp.1432, October 2008.
- [2] L. Duvillaret, S. Rialland, and J-L Coutaz, "Electro-optic sensors for electric field measurements. I.Theoretical comparison among different modulation techniques", J. Opt. Soc. Am. B, Vol. 19, pp.2692, November 2002.

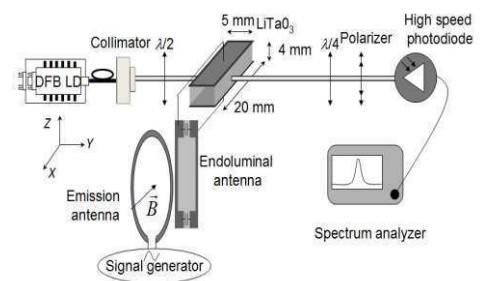


Fig.1 : Schéma d'expérience de capteur de champ magnétique par cristal Electro optique

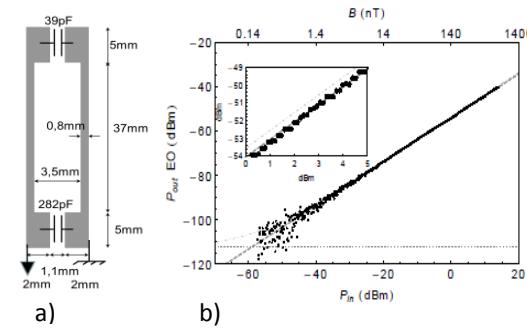


Fig.2 : a)capteur de base b) Courbe de Linéarité

Communications affichées

Session 1 :

Les nouvelles microscopies appliquées au vivant

Nouvelle technique d'imagerie cérébrale microscopique : l'imagerie par rayonnement synchrotron chez la souris

A. Chabrol¹, M. Marinescu¹, H. Rositi¹, M. Langer^{1,2}, A. Durand¹, C. Olivier^{1,2}, N. Nighoghossian¹, Y. Berthezène¹, F. Peyrin^{1,2}, M. Wiart¹

¹: Centre de Recherche en Acquisition et Traitement de l'Image pour la Santé (CREATIS) UMRS CNRS 5220 Inserm U1044, Université Claude Bernard Lyon 1, INSA de Lyon, Lyon, France

²: European Synchrotron Facility (ESRF), Grenoble, France

Introduction

L'IRM avec injection de nanoparticules d'oxyde de fer (Ultrasmall Superparamagnetic Iron Oxyde, USPIO) permet d'objectiver l'inflammation lors d'une ischémie cérébrale, mais ne permet pas de localiser précisément les USPIO (1). Dans cette étude, nous proposons une nouvelle méthode de microscopie, l'imagerie tomographique de contraste de phase par rayonnement synchrotron (SR-PCT), pour la visualisation des USPIO dans le cerveau de la souris.

Matériel et Méthode - Material and Method

Trois types d'échantillons ont été imaginés en IRM et en SR-PCT : des fantômes d'USPIO (n=9), des cerveaux de souris après injection stéréotaxique d'une gamme de concentrations d'USPIO (n=10) et des cerveaux de souris après induction expérimentale d'une ischémie cérébrale focale et injection intraveineuse d'USPIO (n=8).

Résultats – Results

La technique SR-PCT est suffisamment sensible pour détecter des quantités nanomolaires d'USPIO. Les images obtenues par SR-PCT permettent la détection des dépôts d'USPIO sous forme d'hyperdensités de taille compatible avec celle des macrophages. Elles permettent également leur localisation anatomique précise du fait d'une résolution spatiale isotropique de 8 microns (Figure 1).

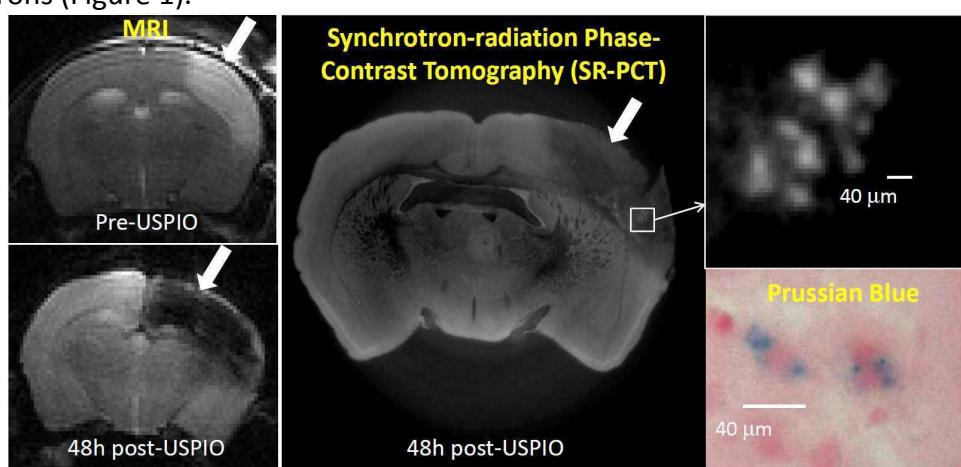


Figure 1- Cerveau de souris avec une lésion ischémique (flèche), imagée par IRM et SR-PCT

Conclusion

L'imagerie tomographique de contraste de phase par rayonnement Synchrotron est une technique prometteuse pour la détection et la localisation des USPIO, ainsi que pour la différentiation des structures anatomiques de par son excellent contraste et son excellente résolution spatiale avec une qualité comparable à celle de coupes immunohistologiques.

Références – References

- Desestret V, et al. Stroke 2009;40(5):1834-1841.

Visualisation 2D et 3D des modifications de la perméabilité vasculaire induites par l'Electroperméabilisation

Pelofy S^{1,2}, Bellard E^{1,2}, Rols M-P^{1,2}, Teissié J^{1,2} et Golzio M^{1,2}

¹IPBS-CNRS, UMR 5089, 205 route de Narbonne, 31077 Toulouse Cedex, France

²Université Toulouse III Paul Sabatier, 31400 Toulouse, France

Introduction

L'Electroperméabilisation (EP) est une méthode physique proposée comme traitement alternatif dans les cancers cutanés, en combinaison avec des agents chimiothérapeutiques (électrochimiothérapie ou ECT)¹. Plus récemment, des essais cliniques ont été menés pour le transfert d'acides nucléiques comme l'ADN (Electrogénothérapie ou EGT)². Dans la zone tumorale traitée (entre les électrodes), les vaisseaux sanguins tumoraux sont présents ainsi que des vaisseaux normaux. Pendant l'EP, il a été démontré un effet direct sur la vascularisation et une diminution transitoire de la circulation sanguine par laser Doppler³. Cependant, la résolution spatiale de cette technique, ne permet pas d'évaluer l'effet des impulsions électriques sur les petits vaisseaux sanguins normaux et tumoraux. La microscopie intravitaire permet une forte résolution spatio-temporelle pour l'étude dynamique de la perméabilité des vaisseaux sanguins.

Matériels et Méthodes

L'implantation d'une chambre dorsale sur des souris est réalisée sous anesthésie. Afin de caractériser le comportement des vaisseaux sanguins soumis à l'EP, un dextran fluorescent de poids moyen (20 kDa) a été utilisé comme marqueur plasmatique. Les souris sont placées sous un microscope à champ large (Macrofluor (Leica)) ou multiphotonique (7MP (Zeiss)). Des impulsions permettant le transfert d'acides nucléiques (EGT) sont appliquées via des électrodes de contact placées contre la peau, après l'injection du dextran fluorescent, pour caractériser la perméabilité vasculaire, ou à différents temps avant, pour définir la dynamique de retour à l'état basal des vaisseaux sanguins.

Résultats

Après EP, une forte augmentation de l'intensité moyenne de fluorescence a été observée en dehors des vaisseaux sanguins, ce qui signifie qu'une fuite s'est produite immédiatement après l'impulsion. L'analyse vaisseau par vaisseau montre que les vaisseaux sanguins affectés par la perméabilisation sont les veines et veinules. De plus, les vaisseaux parallèles aux électrodes sont les plus touchés par le champ électrique donc principalement perméabilisés. Nous avons également observé une asymétrie de la fuite du dextran sur les vaisseaux sanguins perméabilisés. Cette fuite se fait essentiellement du côté de l'anode et dure moins de 20 minutes. En parallèle, lorsque le dextran est injecté après l'EP, le remplissage des vaisseaux sanguins est plus lent dans la zone pulsée, ce qui indique un effet de verrouillage vasculaire (ou vascular lock). Cet effet peut être associé à la contraction des artéries qui retrouvent leur diamètre normal en moins de 5 minutes. La contraction des artéries pourrait aussi dépendre de l'orientation des électrodes.

Conclusion

Nos résultats sur les vaisseaux normaux montrent une augmentation de la perméabilité vasculaire sous l'effet d'impulsions électriques. Cet effet, transitoire et réversible, a lieu au niveau des veinules et permettrait un meilleur apport des molécules anticancéreuses dans les tissus après une administration systémique. Un effet concomitant à également lieu, il affecte les artéries. Cette vasoconstriction est également transitoire et réversible et pourrait être due à la contraction des cellules musculaires lisses plus abondantes au niveau des artéries. Ainsi, les effets du champ électrique seul sont transitoires et réversibles (pas de dommage observé sur tissus sains).

Références

1. Sersa G et al. Eur J Surg Oncol, 34: p. 232-240, 2008.
2. Cemazar M et al. Curr Gene Ther, 10: p. 300-311, 2010.
3. Sersa G et al. Br J Cancer, 98(2): p. 388-98, 2008.

Ce travail est supporté par La Ligue Contre Le Cancer.

Journées scientifiques Nouvelles méthodologies en imagerie du vivant – Lyon, décembre 2012

PLATEAU D'IMAGERIE OPTIQUE DU PETIT ANIMAL

E BELLARD^{1,2}, M GOLZIO^{1,2}, JP GIRARD^{1,2}, J TESSIE^{1,2}

¹ IPBS-CNRS, ² Université Paul Sabatier, UMR 5089, 205 Route de Narbonne, 31077 Toulouse Cedex, France

Introduction

L'imagerie est devenue un outil indispensable pour l'étude et la compréhension des processus biologiques. La complexité des animaux modèles ainsi que la volonté d'en réduire le nombre, conduisent les laboratoires à utiliser des méthodes d'imagerie non invasive.

Les travaux développés au sein de l'IPBS s'intéressent plus particulièrement à l'imagerie en fluorescence car elle offre la possibilité d'un suivi spatio-temporel à plusieurs longueurs d'onde et offre des réponses très rapides (ms). Elle est basée sur la détection de la lumière émise par un fluorophore en réponse à une excitation d'une longueur d'onde donnée.

Résultats - Conclusion

Nos études non invasives ont montré ainsi la possibilité de suivre en temps réel et de façon non invasive le transfert et la régulation de gènes, le développement de tumeurs, la bio-distribution de molécules thérapeutiques et d'évaluer des traitements anti-tumoraux. Les limitations de l'imagerie non invasive en termes de profondeur et de résolution, nous ont amené à utiliser d'autres méthodes pour améliorer la visualisation *in vivo*.

La chirurgie nous permet d'accéder directement aux organes plus profonds (microscopie intravitale). Par un modèle de chambre dorsale nous avons accès à la microcirculation cutanée, au suivi de l'angiogenèse tumorale et du comportement des cellules circulantes du sang. Ces observations peuvent s'appliquer à d'autres organes, tissus, pour autant qu'on puisse les exposer pour l'imagerie.

La microscopie multiphotonique améliore la pénétration dans les organes et la résolution spatiale. Elle permet de suivre, dans le temps, le comportement des cellules tumorales et/ou immunitaires, l'angiogenèse tumorale en 3D ou encore d'étudier la peau.

Remerciements: TRI, CPER, PF, ARC n°8505

Visualiser tous les astrocytes chez les rongeurs en microscopie intravitaire par l'injection intraveineuse de sulforhodamines

Florence Appaix^{1,2*}, Sabine Girod^{1,2}, Sylvie Boisseau^{1,2}, Johannes Römer^{1,2}, Boudewijn van der Sanden^{1,2}, Mireille Albrieux^{1,2}, Mathieu Maurin^{1,2}, Antoine Depaulis^{1,2}, Isabelle Guillemain^{1,2} and Jean-Claude Vial^{2,3},

¹ Grenoble Institut des Neurosciences, Inserm U836, Grenoble, ²Université Joseph Fourier, Grenoble, ³Laboratoire Interdisciplinaire de Physique, CNRS UMR 5588, Saint Martin d'Hères.

Introduction

La coloration fluorescente de toutes les populations astrocytaires, sans perturber les fonctions du cerveau, est essentielle en microscopie intravitaire. En effet, bien que de nombreux modèles de souris transgéniques présentent d'intéressantes colorations astrocytaires, ce n'est pas le cas pour les rats ni pour les modèles de souris qui présentent certaines pathologies cérébrales. De plus, les meilleurs fluorophores, au premier rang desquels se situent les rhodamines, surpassent largement l'efficacité des protéines fluorescentes dans le régime d'excitation biphotonique. Il faut toutefois mettre au point une méthode qui assure la coloration spécifique, pour tous les astrocytes, qui soit stable, non toxique et facile à mettre en œuvre.

Matériel et Méthodes

Les colorants : Notre choix s'est porté sur la famille des sulforhodamines, sulforhodamine B (SRB), sulforhodamine 101 (SR101) et sulforhodamine G (SRG) pour plusieurs raisons : i) la grande section efficace d'excitation biphotonique entre 800 et 900 nm, domaine spectral où les photons sont faiblement diffusés; ii) l'émission dans le rouge-orange, domaine spectral où les photons sont faiblement absorbés par les tissus cérébraux ; iii) la forte solubilité dans l'eau et donc dans le sang (plusieurs g/L) ; iv) le faible poids moléculaire et la faible affinité vis-à-vis de l'albumine qui assure une grande diffusivité ; v) un faible coefficient de partition octanol/eau qui ralenti le passage du colorant à travers les parois phospholipidiques des cellules ; vi) une faible toxicité (bien documentée pour la SRB) ; vii) enfin, une spécificité vis-à-vis des astrocytes a été publiée pour la SR101, mais seulement en application directe sur les tissus cérébraux : une méthode très invasive qui peut perturber le fonctionnement neuronal.

La microscopie biphotonique : Pratiquée sur Grenoble à l'Institut des neurosciences et au laboratoire Interdisciplinaire de physique, s'appuie sur des dispositifs commerciaux (ZEISS et BIORAD) pompés par des lasers TiSa (Coherent Inc ou Spectra Inc) qui émettent dans le régime femtoseconde entre 680 nm et 1080 nm. Nous obtenons en routine une résolution micrométrique jusqu'à une profondeur d'environ 1mm dans les tissus cérébraux des rongeurs avec un rythme d'acquisition de 1 image/s sur un champ voisin de 1mmX1mm.

L'expérimentation sur souris et rats, se fait dans le respect scrupuleux de la réglementation européenne par des biologistes agréés. Les mesures se font soit intravitalement sur animal anesthésié quand c'est la zone corticale qui est étudiée, soit sur tranches épaisses, prélevées sur animal sacrifié et maintenues fonctionnelles par perfusion et oxygénation, pour des zones plus profondes du cerveau. Les colorants sont administrés en phase aqueuse (concentration de l'ordre du g/L) par la veine caudale à des doses typiques de 50µL pour 1mL de sang.

Résultats

Des images des réseaux astrocytaires, très contrastées, uniformément colorées, contrairement à celles obtenues par injection locale, ont été acquises pour toutes les zones du cerveau et de la moelle épinière aussi bien en *in vivo* que sur tranches. Dans tous les cas la spécificité vis-à-vis des astrocytes est validée.

Conclusion

Les sulforhodamines injectées par voie intraveineuse pour la microscopie intravitaire de tous les astrocytes du cerveau des rongeurs se révèle être une méthode très versatile. Elle devrait être d'une grande efficacité dans les études des pathologies où les astrocytes sont impliqués.

Références Appaix F et al. PLoS One. 2012;7(4):e35169.

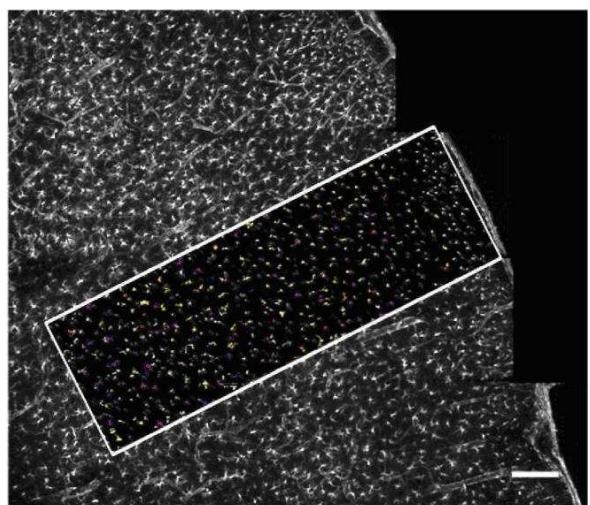


Image typique de réseau astrocytaire coloré par la SRB suffisamment contrastée pour autoriser un traitement numérique (de la zone rectangulaire) statistique conclusif.

Picosecond Optical Tomography POT (et imagerie fibrée & IRM).
Atteindre 100µm de résolution à 5-10mm de profondeur
pour quantifier une stimulation sensorielle.

Stéphane Mottin¹, Bruno Montcel², Raphael Sablong²

¹ Lab. Curien ; CNRS UMR5516, UJM, PRES Univ. Lyon, 18 rue du Pr. Benoît Lauras, Saint Etienne,

² CREATIS ; Université Lyon 1, CNRS UMR5220 , INSERM, INSA Lyon,
 3 rue Victor Grignard, 69616 Villeurbanne.

Labex PRIMES

mottin@univ-st-etienne.fr

La spectroscopie proche infrarouge associée à l'imagerie par tomographie optique diffuse est un outil d'exploration non invasif de l'activité cérébrale chez le petit animal jusqu'à l'homme avec signature moléculaire. Pourtant l'utilisation de celle-ci reste encore très restreinte du fait de 2 limites.

La première est liée à la forte multidiffusion de l'onde lumineuse par les tissus biologiques, prépondérante devant l'absorption en dehors du système vasculaire. Ceci rend le MID (maximum imaging depth) et la localisation spatiale des variations du contraste optique induites par l'activité cérébrale très difficiles. Ce verrou est partiellement levé par les techniques résolues en temps de vol qui permettent notamment d'amener des informations sur la profondeur, dénommées POT, Picoseconde Optical Tomography, en hommage à la célèbre méthode PET (*Mottin et al, JCBFM, 2011*).

Le deuxième verrou est l'interprétation de ces contrastes qui reposent sur des différences d'absorption et/ou de diffusion en termes de paramètres neurophysiologiques notamment des couplages neuro-vasculaires lors des stimulations sensorielles. Ces contrastes sont liés à la partie imaginaire pure (absorption) et à la partie réelle (diffusion) des indices de réfraction des milieux sondés. En effet ces contributions sont très nombreuses, fortement intriquées et sur plusieurs échelles spatiales et temporelles (cytoarchitecture, angioarchitecture, hémodynamique (oxygénation tissulaire), potentiels d'action neuronales (Events Related Optical Signal), métabolisme cellulaire (cytochrome-c-oxidase)...). Sans doute le problème principal repose sur la compréhension de l'homogénéisation/moyennisation des tissus à toutes les échelles comme nous venons de le souligner avec le premier théorème en biophotonique (*Mottin et al., PlosOne, 2011*) qui démontre que l'on ne peut pas moyenner l'absorption facilement.

L'analyse spectroscopique sur une large bande spectrale permet de rendre les approches optiques plus robustes grâce aux signatures spectrales de chacune des contributions (*Mottin et al, 2002, brevet WO2004013617*). De plus la combinaison de la mesure spectrale à une mesure spatiale permet une investigation puissante de l'activité cérébrale (*Mottin et al., JCBFM, 2011*). Notre approche a été de coupler la POT spectrale et temporelle ce qui a permis d'atteindre 250µm de résolution latérale pour une activité cérébrale à 5mm de profondeur du scalp toutes les 33ms avec une sensibilité submicromolaire des hémoglobines. Le but est maintenant de coupler la POT pour atteindre une imagerie multiéchelle avec en plus l'IRM à forte résolution et une approche d'imagerie (Cell-Vizio®, MTK) permettant une microscopie par balayage laser avec une résolution sur des tissus profonds meilleure que 5µm avec une fibre multibrin implantée en aiguë ou en chronique où avec une fibre monobrin et l'EEG/EMG (*Mottin et al, LASER93-Springer, 1993*).

Cette approche, compatible avec l'imagerie IRM, permet de mesurer de façon simultanée l'ensemble des paramètres pertinents pour exploiter la richesse de l'optique des tissus vascularisés en termes neurophysiologiques. Le système autorise un accès aux études cognitives chez le petit animal non anesthésié « freely moving » y compris comportementale, ce que l'IRM ne peut réaliser.

Assessing brain cell structure *in vivo* by diffusion-weighted NMR spectroscopy at different time scales

C. Najac^{1,2}, C. Marchadour^{1,2}, E. Brouillet¹, P. Hantraye^{1,2}, V. Lebon^{1,2}, J. Valette^{1,2}

¹Commissariat à l'Energie Atomique (CEA), Institut d'Imagerie Biomédicale (I2BM), MIRCen, Fontenay-aux-Roses

²Centre National de la Recherche Scientifique (CNRS), Unité de Recherche Associée CEA-CNRS 2210, Fontenay-aux-Roses

Introduction

Diffusion-weighted (DW) magnetic resonance spectroscopy (MRS) allows the non-invasive measurement of metabolites translational diffusion. Due to the intracellular compartmentation of brain metabolites (as opposed to ubiquitous water), DW-MRS may be a unique tool to probe brain intracellular structure *in vivo*. However, the ability of DW-MRS to actually extract quantitative information remains elusive. At low diffusion-weighting (low b -value), the measured apparent diffusion coefficient (ADC) is essentially equal to $ADC = \langle x^2 \rangle / (2T_d)$. In the absence of restriction, the average quadratic displacement $\langle x^2 \rangle$ along any fixed direction, resulting from random thermal movements (Brownian motion), increases linearly as a function of the diffusion time T_d during which it is observed, so that ADC is equal to the free diffusion coefficient D_{free} , whatever T_d . However, T_d is expected to become a crucial parameter when measuring diffusion in biological systems. While ADC measured at ultra-short T_d will still essentially reflect free diffusion (due to the lack of time for molecules to encounter restriction barriers), molecules will start encountering obstacles as T_d is increased. It follows that $\langle x^2 \rangle$ will be limited by intracellular structure, resulting in an underestimated value of the ADC. The ADC will decrease in a manner that depends on the presence of obstacles over longer and longer distances, reflecting hindrance by subcellular structures. Finally, the limit of ADC as T_d is increased will bring information about restriction at very long distance, i.e. about cell geometry. In the present work, we report the first-time the measurement of brain metabolite ADC over three orders of magnitude of T_d , and show how structural information can be extracted from DW-MRS data.

Material and Method

Experiments were performed on a 7 Tesla Agilent primate scanner. Measurements at ultra-short T_d were done in the rat brain, using a rodent gradient insert. An original sequence with oscillating gradients was used [1] to measure ADC for N-acetylaspartate (NAA), total creatine (tCr) and choline compound (tCho) from 0.94 ms to 12.9 ms. Measurements at ultra-long T_d were done in the macaque brain, using a STEAM sequence with positive and then negative diffusion gradients to cancel bias due to cross-terms [2]. ADC for NAA, tCr, tCho, glutamate and myo-inositol were measured for $T_d = 82$ ms to 1 s. All spectra were quantified using LCModel. Data modeling was performed to extract geometrical parameters from experimental ADC, using simple analytical models such as spheres and isotropically oriented cylinders.

Results

Generally speaking, as T_d is increased, metabolite ADC exhibits a fast initial decrease (rat data), followed by a stable plateau at longer T_d (monkey data). Averaged ADC for NAA, tCho and tCr as a function of T_d is summarized on Fig. 1. The fact that ADC exhibit a plateau at long T_d is rather unexpected and suggests that the observed diffusion at long T_d is essentially free, which can be intuitively ascribed to metabolites diffusing in long fibers such as axons, dendrites or astrocytic processes, rather than closed cell-bodies. This is confirmed by data modeling. From the ADC variation at short T_d , modeling allows extracting fiber diameter ($\sim 1.8 \mu\text{m}$), while the limit at short T_d yields an estimate of the intracellular D_{free} ($\sim 0.5 \mu\text{m}^2/\text{ms}$), i.e. intracellular viscosity only $\sim 20\%$ higher than free water.

Conclusion

In the present work we used cutting-edge DW-MRS methods to explore brain metabolite ADC over an unprecedented range of T_d . The time-dependency of the ADC could be modeled to extract quantitative data about intracellular space. This work appeals to further exploration under normal and pathological conditions where cell structure is expected to be altered.

References: [1] Marchadour *et al.*, JCBFM, in press [2]; Neeman *et al.*, JMR, 90:p303 (1969).

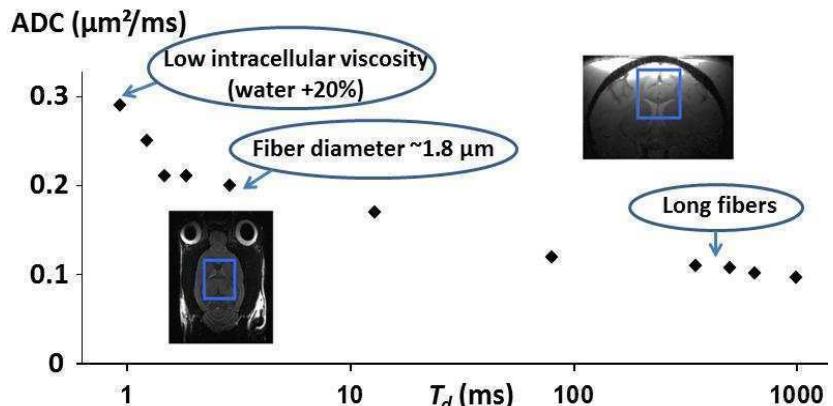


Fig.1: ADC averaged for NAA, tCr and tCho as a function of T_d , and the information about intracellular organization we get from the ADC time dependency at different time-scales.

CARACTERISATION PAR IMAGERIE EN TEMPS REEL DE CULTURE CELLULAIRE HEPATIQUE AU SEIN D'UNE BIOPUCE MICROFLUIDIQUE

M.NAUDOT, R.MOURA, L. CHOUCHA-SNOUBER, P. PAULLIER, E.LECLERC, Z.KHARBOUTLY

UMR7338 Bio-mécanique et Bio-ingénierie, Université Technologique de Compiègne (UTC) Compiègne, France

INTRODUCTION

Afin de répondre aux exigences de l'OCDE concernant l'évaluation toxicologique des molécules chimiques, de nouveaux systèmes *in vitro* se sont développés basés sur la culture en 3D [1, 2]. Parmi eux, les biopuces microfluidiques présentent l'avantage de mimer l'écoulement sanguin en générant un apport de milieu de culture continu. Ces biopuces ont prouvé qu'elles contribuent à améliorer la fonction cellulaire (lignées cellulaires ou des cellules primaires) [3]. Elles sont actuellement utilisées au sein du laboratoire pour tester la toxicité des différentes molécules [4, 5]. L'objectif de notre étude est de développer une méthode d'analyse en temps réel en utilisant l'imagerie appliquée à la culture d'hépatocytes dans des biopuces. En effet l'imagerie a déjà été employée pour démontrer les effets cytotoxiques de certains médicaments [6].

MATERIELS ET METHODES

La lignée d'hépatocytes : HepG2/C3A issue d'un carcinome humain est utilisée pour cette étude. La suspension cellulaire contenant environ 500 000 cellules est ensemencée dans les biopuces. Après l'adhésion cellulaire, la biopuce est reliée à une pompe péristaltique par un circuit en silicium et placée sous un microscope avec incubateur intégré. Des sondes fluorescentes directement placé dans le milieu de culture sont choisies afin de cibler des compartiments cellulaires spécifiques (le noyau, les mitochondries ...) et pour évaluer la viabilité et la cytotoxicité. Des images sont prises régulièrement pendant 24 heures à 6 positions différentes (2 en entrée, 2 en milieu de biopuce et 2 en sortie) dans la biopuce. Ces images sont ensuite retraitées et analysées en utilisant le logiciel gratuit et open source: CellProfiler.

RESULTATS

A l'heure actuelle 9 sondes fluorescentes ont été testées : la Calcein AM®, le DioC6(3)®, le Fluo 4AM®, le Hoechst 33342®, le TMRE®, le Mitotracker Green AM®, l'éthidium homodimère®, le RedFlica®, et le DCFDA®. La performance de chaque sonde a été évaluée pendant 24h afin d'observer l'évolution du marquage fluorescent et les différents phénomènes qui peuvent avoir lieu, comme le bleaching, le quenching, la saturation etc... . Après observation de l'ensemble des images visuellement puis par CellProfiler, les marqueurs Hoechst 33342®, éthidium homodimère et DioC6(3)® ont été sélectionnés. Dans CellProfiler, un pipeline spécifique a été développé pour retraitrer les images. L'algorithme généré, permet à partir d'une image obtenue, de compter le nombre de cellules totales, mortes ou endommagées présentes dans la zone d'intérêt, de calculer la surface occupée par les cellules, et de mesurer l'activité mitochondriale.

CONCLUSIONS

Grâce à ce travail il est à présent possible de quantifier et de caractériser en temps réel certaines fonctions biologiques (viabilité, activité mitochondriale) des cellules cultivées en biopuce. Ce nouvel outil sera utilisé pour évaluer en temps réel la toxicité de composés chimiques.

REFERENCES

- [1] Chen A *et al*, Multiplexed, high-throughput analysis of 3D microtissue suspensions, *Integr. Biol.* 2010; 2: 517–527.
- [2] Albrecht D *et al*, Microfluidics-integrated time-lapse imaging for analysis of cellular dynamics, *Integr. Biol.* 2010, 2: 278–287.
- [3] Prot JM *et al*, A cocktail of metabolic probes demonstrates the relevance of primary human hepatocyte cultures in a microfluidic biochip for pharmaceutical drug screening, *International Journal of Pharmaceutics* 2011; 408: 67–75.
- [4] Prot JM *et al*, Integrated Proteomic and Transcriptomic Investigation of the Acetaminophen Toxicity in Liver Microfluidic Biochip, *Plos one* 2011; 8, 6.
- [5] Choucha Snouber L *et al*, Transcriptomic analysis of the effect of ifosfamide on MDCK cells cultivated in microfluidic biochips, *Genomique* 2012 in press.
- [6] Nadanaciva S *et al*, A high content screening assay for identifying lysosomotropic compounds, *Toxicology in Vitro* 2011; 25: 715–723.

High resolution surface plasmon microscopy: from nanoscale to microscales

**Lotfi Berguiga¹, Elise Boyer-Provera¹, Juan Elezgaray,² and
Françoise Argoul^{1,*}**

¹ CNRS, UMR5672, Université de Lyon, Ecole Normale Supérieure de Lyon, 46 Allée d'Italie, F-69007 Lyon, France

² CNRS, UMR 5248, Université Bordeaux 1-ENITAB, 2 rue Robert Escarpit, F-33607 Pessac, France

Abstract. I will introduce the principles of evanescent waves imaging and its ability to discriminate sub-micronic structures, confined on a surface and to provide a way to extract either the phase of the electric field after interacting with the material to be probed or the fluorescence emitted by markers judiciously chosen to mark some region of interest in a cellular or a tissular medium. These methods include Interference reflection microscopy (IRM), Total Internal Fluorescence (TIRF) microscopy and Surface Plasmon Resonance Microscopy (SPRM). This latter method offers several advantages; (i) an amplification of the evanescent field thanks to the surface plasmon in the linear illumination case; (ii) a confinement of the PSF with nonlinear illumination case; (iii) a polarization of the field and its confinement in the plane of illumination. Surface plasmon microscopy can be achieved with different configuration set-ups that I will present and compare. This microscopy is very attractive for imaging biological systems, from nanoscale macromolecular assemblies to cellular and sub-cellular structures. Its versatility comes from the simplicity of the sample preparations and its robustness.

My presentation will combine fundamental aspects of this microscopy, together with applications to imaging nano-structured objects and biological specimens. I will present some recent advances that we have achieved with this microscopy and the potentiality of future studies, that could not been performed previously with standard surface plasmon microscopes.

X-RAY IN-LINE PHASE MICRO-CT FOR SIMULTANEOUS BONE AND SOFT TISSUE VISUALISATION

M Langer^{1,2}, P Cloetens², B Hesse^{2,3}, A Pacureanu^{1,2,*}, K Raum³, MH Lafage-Proust⁴, F Peyrin^{1,2}

¹Université de Lyon, CREATIS ; CNRS UMR5220 ; Inserm U1044 ; INSA-Lyon ; Université Lyon 1, F69621 Villeurbanne, France

²European Synchrotron Radiation Facility, F38043 Grenoble Cedex, France

³Julius-Wolff-Institute & Berlin Brandenburg School for Regenerative Therapies, Charité, D13353 Berlin, Germany

⁴Université de Lyon, LBTO ; Inserm U1059 ; F42023 Saint-Etienne, France

*Currently at Centrum för bildanalys, Uppsala universitet & Sveriges lantbruksuniversitet, SE75105 Uppsala, Sweden

Introduction

In in-line X-ray phase tomography, phase contrast is generated simply by letting the beam propagate in free space after interaction with the object [1]. Several algorithms for phase retrieval from propagation based phase contrast images have been proposed. Most of these are based on linearization of the Fresnel integral to yield efficient algorithms [1-3]. Non-linear, iterative algorithms have also been proposed with the aim to improve spatial resolution of the linear methods [4-7]. Phase retrieval from propagation based phase contrast images is inherently sensitive to noise in the low frequency range which makes interpretation and image analysis, such as segmentation, very difficult without substantial post-treatment (Fig. 1a). This issue has previously been addressed by introducing a prior on the phase based on a homogeneous composition assumption. Homogeneity effectively means a unique ratio δ/β between real and imaginary part of the refractive index. Density variations are allowed, however [8].

Material and Method

Here, we present an extended regularization approach suited to multi-material objects; that is consisting of several defined materials. Such a prior can not be introduced directly in the projections, as there are several unknowns in the phase map as well as the attenuation map: the distance travelled in each material, and the real and complex part of the refractive index respectively. Instead, it has to be introduced in the object domain. We propose to do this by first reconstructing the attenuation index from acquired projection images, thresholding this reconstruction to calculate a 3D δ/β -map, applying this map on the reconstructed attenuation index to yield an a priori refractive index guess, and finally forward projecting this a priori refractive index, which yields a prior estimate on the phase shift at each projection angle.

Results

The method was evaluated on a constructed object of known composition and showed increased reconstruction quality in heterogeneous objects compared to previous methods (Fig. 1b) [9]. We applied the method to the imaging of a mouse knee (Fig. 1c-e) [10]. Small animal models of osteoarthritis are often used for evaluating treatments and cartilage repair strategies. Non-invasive techniques are limited by the joint size and the low radio opacity of soft tissues. We demonstrated the proposed methods ability to resolve both hard and soft tissues (Fig. 1d-e).

Conclusion

We propose a phase retrieval algorithm in the X-ray propagation based phase contrast framework where a priori information is introduced in the object domain. This extends previous algorithms assuming homogeneous objects, and alleviates associated artefacts. The algorithm was applied to the imaging of a mouse knee where it permits quantitative imaging of the electron density in both soft and hard tissue.

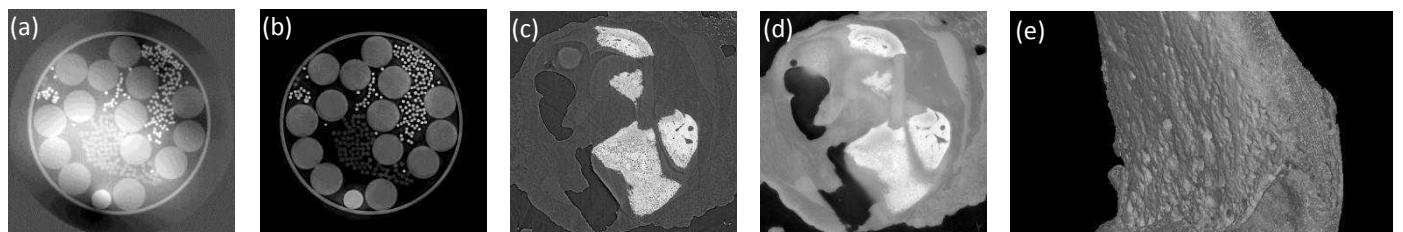


Fig. 1 (a) A phase tomography slice from a constructed object reconstructed without object prior [3]. (b) Same slice reconstructed with the proposed method. (c) An attenuation CT slice of a mouse knee. (d) Phase tomography in the same slice. Note visibility of meniscus and cruciate ligaments. (e) Volume rendering of (d), cruciates and meniscus segmented.

References

- Cloetens P *et al.* Applied Physics Letters, 75:2912-2914, 1999
- Nugent KA *et al.* Physical Review Letters, 77:2961-2964, 1996
- Guigay JP *et al.* Optics Letters, 32:1617-1619, 2007
- Allen LI *et al.* Optics Communications, 199:65-75, 2001
- Davidoiu V *et al.* Optics Express, 19:22809-22819, 2011
- Moosmann J *et al.* Optics Express, 18:25771-25785, 2010
- Langer M *et al.* PLoS One, 7:e35691, 2012
- Langer M *et al.* IEEE Transactions on Image Processing, 19 :2428-2436, 2010
- Langer M *et al.* Optics Letters, 37:2151-2153, 2012
- Langer M *et al.* Proceedings of the IEEE ISBI, 9:210-213, 2012

Title:Intravital microscopy at the single vessel level brings new insights of vascular modification mechanisms induced by electroporation

Authors: Elisabeth Bellard^{a,b,*}, Bostjan Markelc^{c,*}, Sandrine Pelofy^{a,b}, François Le Guerroué^{a,b}, Gregor Sersa^c, Justin Teissié^{a,b}, Maja Cemazar^{c,d,†}, Muriel Golzio^{a,b,†}

aCNRS; IPBS (Institut de Pharmacologie et de Biologie Structurale); BP 64182, 205 Route de Narbonne, F-31077, Toulouse, France

bUniversité de Toulouse; UPS (Université Paul Sabatier); IPBS (Institut de Pharmacologie et de Biologie Structurale); BP 64182, F-31077, Toulouse, France

cDepartment of Experimental Oncology, Institute of Oncology Ljubljana, Zaloska 2, SI-1000 Ljubljana, Slovenia

dUniversity of Primorska, Faculty of Health Sciences, Polje 42, SI-6310 Izola, Slovenia

INTRODUCTION: Electroporation/electroporation, i.e. the result of the application of electric pulses to tissues, is a physical method for delivery of exogenous molecules into cells. It is effective particularly for compounds with limited transmembrane transport. In vivo, electroporation facilitates the delivery of chemotherapeutic drugs into tumor cells that is the basic mechanism of the antitumor effectiveness of electrochemotherapy. This therapy has also blood flow modifying effects in tissues. The aim of our present study was to understand and explain the effects of electroporation on the dynamics (vasomotoricity, permeability and recovery) of subcutaneous blood vessels towards different size of molecules.

METHODS: These features were measured in C57Bl/6 mice via a dorsal skin fold window chamber, using fluorescently labeled dextrans of different sizes, intravital fluorescence microscopy imaging and specific image analysis.

RESULTS: Application of electric pulses on the skin in vivo resulted in a rapid increase in vascular permeability that gradually recovered to basal levels at different times post-treatment, depending on dextran size. Simultaneously, the immediate constriction of the blood vessels occurred that was more pronounced for arterioles compared to venules. This vasoconstriction of arterioles results in a transient “vascular lock”.

CONCLUSION: The increased permeability of small vessels walls whatever the dextran size associated with delayed perfusion explains the improved delivery of the intravenous injected molecules into the tissues induced by electroporation in vivo. Thus, knowledge of the vascular effects of EP can lead to a better planning of the treatments that are based on EP (electrochemotherapy, electogene therapy and DNA vaccination) for increased efficacy of treatment or for distribution of the i.v. injected molecules (i.e. drugs, siRNA, plasmid DNA).

Algorithme meanshift et distribution de l'histogramme des couleurs pour le suivi d'objets
Hittawe Mohamad Mazen, Paskal Makris
Université François Rabelais Tours
Laboratoire d'Informatique
Ecole Polytechnique de l'Université de Tours
64 avenue Jean Portalis
37200 Tours, France
Mazen.hittawe@gmail.com

1. Introduction

L'objectif de ce travail consiste à proposer un outil permettant de fournir un certain nombre de paramètres liés à la vitesse des spermatozoïdes présents dans l'utérus de la brebis. Cette approche est innovante car jusqu'à aujourd'hui ce type de relevé ne pouvait se faire qu'en situation *in vitro*. La mise sur le marché d'un dispositif d'acquisition vidéo basé sur la fluorescence ouvre un nouveau champ d'action pour les biologistes qui s'intéressent à la fertilité chez l'animal. Ce travail est mené en collaboration avec un chercheur de l'INRA. L'objectif de ce travail est donc de pouvoir mesurer objectivement la mobilité des spermatozoïdes *in utero*.

2. Matériel

L'acquisition de la séquence vidéo est réalisée en microscopie confocale fibrée en fluorescence. Sans rentrer dans le détail, le système utilisé dénommé cellvizio repose sur une source laser qui émet un faisceau balayant un ensemble de fibres optiques (environ 30000). Fréquence du balayage : une douzaine de fois par seconde. En retour, une caméra, reçoit le signal de fluorescence, porté par le même réseau de fibres, émis par les fluorophores tissulaires excités.

Définition des images : Quelques dizaine de micromètres. Après insémination, les brebis sont anesthésiées et les spermatozoïdes sont imités dans les différentes régions du tractus génital. Durée d'acquisition : 30 secondes

3. Méthode

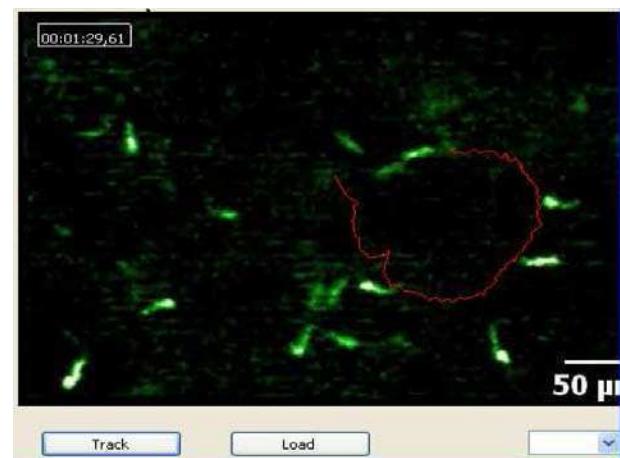
L'idée centrale est que les objets en mouvement sont caractérisés par leur histogramme des couleurs. Notre traitement s'appuie sur le calcul de l'estimation de cet histogramme des couleurs. L'algorithme proposé s'appuie sur celui du meanshift basé sur un schéma itératif de comparaison de l'histogramme de l'objet dans l'image i et de l'histogramme de celui-ci dans la région candidate de l'image $i+1$. Le but est de maximiser la

corrélation entre les deux histogrammes. La méthode de calcul utilise les coefficients de Bhattachryya.

L'algorithme meanshift calcule la valeur du décalage calculé et par conséquent les nouveaux points x et y dans l'image suivante. Une fois mis en œuvre et testé, il s'est avéré que les résultats obtenus montrent une certaine efficacité du suivi. Chaque gamète détecté sur la première image est assez bien suivi tout au long de la séquence (pour les meilleurs scénarios)

4. Résultats

La figure ci-dessous illustre un résultat parmi d'autres. Nous avons choisi un cas où l'objet réalise un déplacement circulaire tout en restant dans un plan perpendiculaire à l'axe de la caméra, scénario idéal dirons-nous. Bien évidemment sans la dimension temporelle cela est moins illustratif. On peut noter toutefois le petit décrochement (qui dénote la présence du croisement de deux objets). L'algorithme a rectifié la trajectoire pour continuer à suivre l'objet original. On notera aussi la nature du bruit sous-jacent de ce type de modalité d'image qui nécessite quelques prétraitements pour la bonne marche de la méthode décrite rapidement.



5. Conclusion

Tout d'abord, la détection des objets est faite par l'expert. Il est libre de les choisir. Les résultats du suivi obtenus semblent prometteur. Bien entendu selon le contraste et la forme de l'objet ciblé, les résultats sont plus ou moins satisfaisants. Néanmoins il apparaît déjà comme un outil d'aide pour obtenir de façon automatique les coordonnées des objets suivis et faire par la suite des calculs via un tableur par exemple. L'information 3D n'est pas ici prise en compte et par conséquent les valeurs de vitesses calculées ne seront qu'apparentes.

Imagerie biologique par microscopie de phase quantitative

S Aknoun^{1,2}, J Savatier¹, P Bon¹, B Wattellier², S Monneret¹

¹Institut Fresnel, CNRS UMR 7249, Aix-Marseille Université, Ecole Centrale Marseille, Campus de Saint Jérôme, 13397 Marseille, France

²PHASICS SA, XTEC Bat. 404, Campus de l'Ecole Polytechnique, Route de Saclay, 91128 Palaiseau, France

Introduction

L'imagerie de phase a depuis longtemps permis d'obtenir des images contrastées en transmission d'échantillons biologiques non absorbants, comme des cellules en culture. Néanmoins les techniques d'origine n'étaient pas quantitatives. Nous proposons une méthode simple, auto-référencée et adaptable sur n'importe quel microscope à la manière d'une caméra, permettant de mesurer le déphasage induit par un échantillon, sans marquage.

Matériels et Méthodes

La technique utilisée repose sur l'interférométrie à décalage quadrilatéral¹. Elle permet, grâce à une analyse du front d'onde traversant l'échantillon, de donner une différence de chemin optique (OPD, en nm) en chaque pixel de l'image. Elle est achromatique et peut donc s'utiliser avec la lumière blanche native du microscope, avec des objectifs classiques². On peut la combiner avec l'imagerie de fluorescence de façon simultanée en utilisant les bonnes combinaisons de filtres (proche infrarouge pour la phase, visible pour la fluorescence). On peut également modifier la polarisation de la lumière traversant l'échantillon et remonter à une image en anisotropie d'indice. Enfin, il est possible d'obtenir des données tomographiques, moyennant un éclairage spatialement incohérent avec un diaphragme d'ouverture ouvert et un condenseur de forte ouverture numérique.

Résultats

Des marqueurs fluorescents ont permis d'identifier des organites intracellulaires spécifiques et de vérifier lesquels pouvaient être identifiés grâce à la seule imagerie de phase quantitative. C'est le cas pour les lysosomes et les mitochondries, ainsi que pour les plus grosses fibres de stress du cytosquelette d'actine³. L'étude en anisotropie d'indice a permis de mettre en évidence les éléments biréfringents de la cellule, comme le sont également les fibres de stress, ou des fibres de collagène. La tomographie de diffraction a été utilisée pour gagner en résolution, aussi bien latérale qu'axiale et tenter de remonter à une construction en trois dimensions de la cellule et de coupes de tissus, tout en conservant des informations quantitatives.

Conclusion

Notre technique d'imagerie de phase quantitative a montré des applications dans de nombreux domaines de l'imagerie biologique, soit en soutien d'autres contrastes, comme la fluorescence, soit en donnant suffisamment d'informations pertinentes pour se suffire à elle-même. Elle est simple à mettre en œuvre et ne nécessite aucun changement dans le microscope. Elle est sensible et se révèle particulièrement adaptée à l'étude de cellules vivantes ou de coupes de tissus. De nombreux post-traitements peuvent être utilisés pour étudier des caractéristiques précises de l'échantillon.

Références

- Primot J, Sogno L. Achromatic three-wave (or more) lateral shearing interferometer. *J. Opt. Soc. Am. A.* 1995 ; 12(12) : 2679-2685
- Bon P, Maucort G, Wattellier B, Monneret S. Quadriwave lateral shearing interferometry for quantitative phase microscopy of living cells. *Optics Express.* 2009, 17 (15): 13080-13094.
- Bon P, Savatier J, Merlin M, Wattellier B, Monneret S. Optical detection and measurement of living cell morphometric features with single-shot quantitative phase microscopy. *J Biomed Optics,* 2012, 17(7): 076004

Suivi du cycle cellulaire par microscopie de phase quantitative

J Savatier¹, S Aknoun^{1,2}, P Bon¹, S Monneret¹

¹Institut Fresnel, CNRS UMR 7249, Aix-Marseille Université, Ecole Centrale Marseille, Campus de Saint Jérôme, 13397 Marseille, France

²PHASICS SA, XTEC Bat. 404, Campus de l'Ecole Polytechnique, Route de Saclay, 91128 Palaiseau, France

Introduction

Le cycle cellulaire consiste à doubler la quantité de matière de la cellule pour, après division, donner deux cellules filles identiques. Il est habituellement suivi par divers marqueurs fluorescents, notamment de l'ADN, et par analyse en cytométrie de flux. Nous proposons une méthode simple pour analyser le cycle cellulaire à travers la détermination de la masse sèche et de divers paramètres morphologiques des cellules, en utilisant l'imagerie de phase quantitative. Elle ne nécessite pas de marquage, est auto-référencée et adaptable sur n'importe quel microscope, à la manière d'une caméra.

Matériels et Méthodes

La technique utilisée repose sur l'interférométrie à décalage quadrilatéral. Elle permet, grâce à une analyse du front d'onde traversant l'échantillon, de donner une différence de chemin optique (OPD, en nm) en chaque pixel de l'image. Elle est achromatique et peut donc s'utiliser avec la lumière blanche native du microscope, avec des objectifs classiques¹. Elle peut être combinée avec l'imagerie de fluorescence². Elle est très sensible et n'induit pas de halo sur le contour des cellules, permettant une segmentation automatique et un accès à des paramètres de surface et de formes précis. En intégrant l'OPD sur la surface de la cellule on a accès à une différence de volume optique, directement proportionnelle à la masse sèche³.

Résultats

Nous avons étudié plusieurs lignées cellulaires adhérentes (COS-7, HeLa, RPE). Deux stratégies ont été utilisées : le suivi d'une cellule dans le temps et l'analyse de populations cellulaires à un temps donné. Dans le premier cas deux divisions d'une COS-7 ont pu être enregistrées, sur 36h. La masse sèche suit une augmentation quasi linéaire, jusqu'à un plateau avant division. Après division elle est égale à la moitié de la cellule en mitose. Dans le deuxième cas des populations cellulaires ont été étudiées dans différentes conditions : témoin, blocage en mitose et état (pseudo) G0, afin de mettre au point un référentiel en masse sèche et en surface par rapport aux phases du cycle. Cela permet de voir l'effet de certaines drogues au niveau populationnel. Nous avons également corrélé masse sèche et quantité d'ADN par mesure de l'intensité de fluorescence du Hoechst 33342.

Conclusion

L'utilisation de la phase quantitative et de notre technique particulière pour analyser le cycle cellulaire a de nombreux avantages : pas de marquage, pas de modification du microscope (pas de bras de référence, lumière blanche classique), bonne sensibilité (1 pg pour une cellule de 400 pg), segmentation automatique, possibilité de travailler dans le proche infrarouge et ainsi de ne pas causer de dommages aux cellules, utilisation en simultané de marqueurs fluorescents (ADN, histones, microtubules...). Elle peut être utilisée pour des études de cycle ou pour vérifier l'état cellulaire morphologique et fonctionnel avant de cibler d'autres sujets d'étude.

Références

1. Bon P, Maucort G, Wattellier B, Monneret S. Quadriwave lateral shearing interferometry for quantitative phase microscopy of living cells. Optics Express. 2009, 17 (15): 13080-13094.
2. Bon P, Savatier J, Merlin M, Wattellier B, Monneret S. Optical detection and measurement of living cell morphometric features with single-shot quantitative phase microscopy. J Biomed Optics, 2012, 17(7): 076004
3. Barer. Interference microscopy and mass determination. Nature, 1952, 169: 366-367

Rôle de la protéine kinase MAPK/Erk dans la nécroptose.

François Sipieter^{1,2,3}, Franck Riquet¹, Jean François Bodart¹, Laurent Héliot³, Peter Vandenabeele²
et Katia Cailliau-Maggio¹.

¹ Laboratoire de Régulation des Signaux de Division, EA4479, USTL-Lille1, Villeneuve d'Ascq.

² Department for Molecular Biomedical Research, DMBR, VIB, Ghent

³ Institut de Recherche Interdisciplinaire, IRI-CNRS USR3078, Biophotonics Group, Parc Scientifique Européen de la Haute Borne, Villeneuve d'Ascq. francois.sipieter@ed.univ-lille1.fr

Résumé :

La nécroptose est un processus programmé de mort cellulaire indépendant des caspases. Elle est déclenchée par le TNF α et repose sur l'assemblage d'un complexe moléculaire intracellulaire, le « ripoptosome » qui fait intervenir, notamment, deux sérine/thréonine kinases de la famille des RIP kinases, RIP1 et RIP3 [1-2]. La régulation de ces kinases et leur place en regard des effecteurs classiques de la signalisation cellulaire reste encore à ce jour à déterminer.

Nos résultats préliminaires montrent que les profils de phosphorylation de la kinase MAPK/Erk varient sous l'effet de la nécrostatine, un inhibiteur de RIP1 [3], et suggèrent une action de la kinase dans ce processus de mort cellulaire. Cependant, il est important de déterminer si MAPK/Erk est nécessaire à l'induction ou bien à l'accomplissement de la nécroptose. Par ailleurs, plusieurs études rapportent une importance capitale exercée par la dynamique spatio-temporelle de l'activité de la MAPK/Erk dans les processus de mort cellulaire, en fonction du type cellulaire [4-5-6]

Les profils d'activation topologiques et chronologiques de la kinase MAPK/Erk ont été mesurés à l'aide de biosenseurs FRET codés génétiquement dans le contexte de la nécroptose [7]. Nous avons pu ainsi mettre en évidence que l'activité de la kinase MAPK/Erk ne corrélait pas avec les profils de phosphorylation. Ces mesures ont été rapportées à la localisation de la kinase et révèlent une compartimentation de la protéine phosphorylée dans le cytoplasme des cellules engageant la nécroptose. L'utilisation d'inhibiteurs ciblant la kinase MAPK/Erk suggère également un rôle capital de la phosphorylation mais pas de l'activité de la kinase dans ce processus cellulaire.

Enfin, afin de préciser le rôle de la kinase MAPK/Erk dans la nécroptose, il a été entrepris la création inédite d'un biosenseur RIP-KAR rapporteur de l'activité kinasique des protéines RIP. Pour ce faire, des études phosphoprotéomiques ont été menées par un consortium européen auquel le laboratoire de Peter Vandenabeele appartient. Elles ont permis de déterminer les substrats spécifiques des kinases RIP jusqu'alors inconnus qui serviront de base à ce travail collaboratif.

Références:

- ¹ Declercq et al., *RIP Kinases at the Crossroads of Cell Death and Survival*, Cell, 2009.
- ² Vandenabeele et al., *Molecular mechanisms of necroptosis: an ordered cellular explosion*, Nature Reviews Molecular Cell Biology, 2010.
- ³ Degterev et al., *Identification of RIP1 kinase as a specific cellular target of necrostatins*, Nature Chemical Biology, 2008.
- ⁴ Ebisuya et al., *The duration, magnitude and compartmentalization of ERK MAP kinase activity: mechanisms for providing signaling specificity*. J Cell Sci, 2005.
- ⁵ Costa et al., *Dynamic regulation of ERK2 nuclear translocation and mobility in living cells*, Journal of Cell Science, 2006.
- ⁶ Cagnol and Chambard, *ERK and cell death: Mechanisms of ERK-induced cell death – apoptosis, autophagy and senescence*, FEBS Journal, 2009.
- ⁷ Sipieter and Vandame, et al., *Microscopy for measurement of fluorescence-based reporters in living cells; analysis and methodologies for kinase activity assessment*, Progress in Molecular Biology and Translational Science, in press.

Mots clefs : MAPK/Erk – nécroptose – RIP – biosenseurs FRET.

**Polarization-resolved Four Wave Mixing and Second Harmonic Generation
on Amyloid fibrils and Collagen fibrils**

F-Z Bioud, J. Duboisset, H. Rigneault and S. Brasselet

Institut Fresnel, Aix Marseille Université, CNRS, Campus de St Jérôme, 13013 Marseille, France.
Sophie.brasselet@fresnel.fr, julien.duboisset@fresnel.fr

Introduction

In the last few years Second Harmonic Generation (SHG) and Four Wave Mixing (FWM) microscopy techniques have strongly evolved to become powerful imaging and spectroscopy tools that are nowadays ready to investigate the biological world. Furthermore, the molecular organization is becoming crucial for understanding biological process and tissue organization. In this context, FWM microscopy and SHG microscopy, which allows imaging of specific objects without the need of labeling or staining, is a powerful investigative tool.

Material and Method

In this work we investigate a generic method able to extract the information about the molecular organization in insulin amyloid fibrils or collagen fibrils, when intensity is recorded for a varying incoming direction of the fundamental fields linear polarizations [1]. The molecular organization of these fibrils can be described by a general angular distribution function describing the molecular orientations in the sample plane. This function can be decomposed on the basis of spherical harmonics, with the specificity that only even orders of symmetry are available with the FWM contrast and only the odd orders with SHG contrast.

Results

For collagen fibrils probed by SHG, we show that the mean orientation of the distribution function is highly correlated to the fibril direction and the odd order of symmetry exhibits a high organization of the collagen at the molecular level [2]. For the amyloid fibrils probed by FWM, the molecular organization retrieved by polarization analysis is close to isotropic distribution, demonstrating the poorly crystalline organization of amyloid structure.

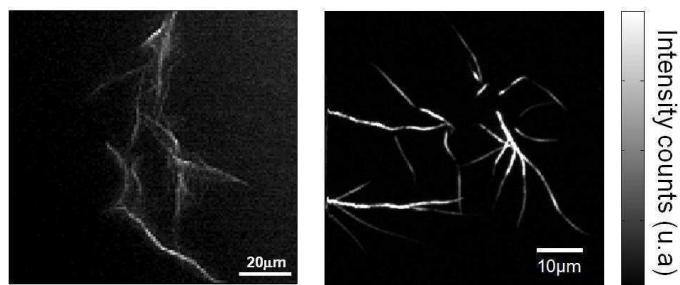


Figure 1. Left: FWM microscopy image of Insulin fibrils
 Right: SHG microscopy image of Collagen fibrils

References

1. J. Duboisset et al, Physical Review A, 85, 043829, 2012
2. D. Ait-Belkacem et al, Journal of Biomedical Optics, 17(8), 080806, 2012

Session 2 :

Agents d'imagerie moléculaires et fonctionnels

Magnetosomes, a new class of highly sensitive superparamagnetic contrast agents for MR molecular imaging

S. Mériaux¹, B. Marty¹, N. Ginet², C. Lefèvre², D. Garcia², F. Lethimonnier¹, D. Pignol²

¹LRMN, CEA/DSV/I²BM/NeuroSpin, Gif-sur-Yvette, France

²LBC, CEA/DSV/IBEB/SBVME, Saint-Paul-lez-Durance, France

Introduction

Superparamagnetic iron oxide particles appear to be the preferred material to perform MR molecular imaging due to high relaxivity properties. We present a new class of superparamagnetic nanoparticles, naturally produced by magnetotactic bacteria, which regroup different characteristics of interest for biomedical applications: a perfectly crystalline and regular crystal of magnetite (*Figure 1*), surrounded by a natural lipid bilayer enabling a possible functionalization. In this study, we demonstrate the high sensitivity of magnetosomes both *in vitro* and *in vivo*, as well as the interest to use them at ultra-high field.

Material and Method

Wild-type AMB-1 bacteria were grown at 28°C with Komeili's medium in hermetically sealed Schott bottles. Magnetosomes were then extracted after bacteria centrifugation using a permanent magnet. For *in vitro* assays, magnetosomes were suspended at different concentrations (from 0.15 to 3 µM) in agar matrix. MR imaging was performed at 7 T for *in vitro* assays and 17.2 T for *in vivo* study on preclinical Bruker scanners. A T_2 mapping sequence (MSME, 64 TE from 8.3 ms to 530 ms) was acquired to measure the transverse relaxivity r_2 of magnetosomes. *In vivo* experiments were carried out on nude mice. Anatomical T_2 -weighted (RARE, $R = 150 \times 150 \times 375 \mu\text{m}^3$) and T_2^* -weighted (FLASH, $R = 75 \times 75 \times 150 \mu\text{m}^3$) images were acquired prior and after intravenous injection of magnetosomes (200 µL, dose = 20 µmol_{Fe}/kg).

Results

Transverse relaxivity r_2 of magnetosomes was measured to $680 \text{ mM}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$ (*Figure 2*), a value higher than r_2 of commonly used particles (Endorem $r_2 \sim 150 \text{ mM}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$). This gain is probably due to the high regularity of nanocrystals produced by AMB-1 bacteria. *In vitro* sensitivity at 7 T of magnetosomes was estimated to 150 nM in term of iron content. *Figure 3a* represents the overlay of T_{2w}^* volumes on anatomical T_{2w} images of the mouse brain. After injection, an overall T_2^* decrease is observed in the whole brain (*Figure 3b*) due to magnetosomes circulating in the vascular compartment. Large blood vessels are also highlighted: to confirm this result, we developed an automatic procedure to specifically detect vascular hypointense signals. As shown by *Figure 3c*, injection of magnetosomes significantly enhances the number of detected large blood vessels.

Conclusion

In conclusion, our preliminary results demonstrated that magnetosomes provide a new class of highly sensitive MR contrast agents. MRI data at ultra-high field confirm that these superparamagnetic agents exhibit higher relaxivity properties than those chemically produced. The *in vivo* detection of magnetosomes in the mouse brain is therefore obtained after injection of a significantly lower dose than the one commonly used in rodent studies (200-1000 µmol_{Fe}/kg).

Moreover we have already shown that genetic manipulation of magnetosomes offers the possibility to insert peptides in its membrane [1] to target specific biomarkers. In conjunction with ultra-high field MR imaging, such functionalized contrast agents should provide enough sensitivity and specificity for molecular imaging studies.

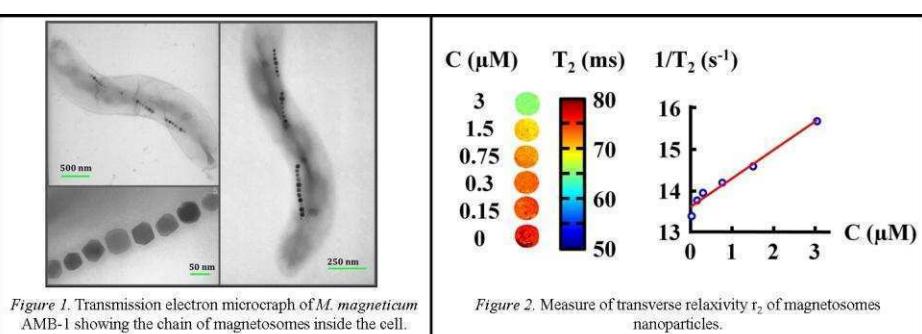
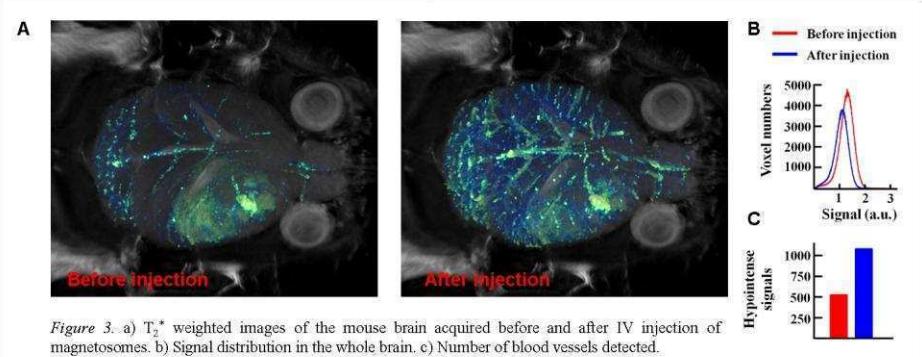


Figure 1. Transmission electron micrograph of *M. magneticum* AMB-1 showing the chain of magnetosomes inside the cell.



Reference [1] Ginet et al., PLoS ONE, 6(6):e21442, 2011.

Sondes fluorogènes pour l'imagerie à très haute sensibilité de peptidases et glycosidases

M. Prost¹, O. Thorn-Seshold¹, L. Canaple², J. Hasserodt¹

¹Laboratoire de Chimie de l'ENS de Lyon, Equipe de Chimie Bio-Organique, Ecole Normale Supérieure de Lyon

²Institut de Génomique Fonctionnelle de Lyon, Ecole Normale Supérieure de Lyon

...
Détecter et localiser précisément l'activité d'une enzyme donnée au sein d'un organisme vivant est d'une importance capitale pour mieux comprendre les mécanismes biologiques qui sont à l'origine de certaines pathologies, et ainsi mieux les traiter. D'immenses progrès ont été réalisés dans ce domaine, notamment avec la conception de sondes ciblant les enzymes activées, évitant la détection de zymogènes.¹ Cependant, les sondes classiques souffrent de certaines faiblesses comme la diffusion du signal loin du site actif ou la production d'un fluorophore à faible déplacement de Stokes, favorisant la détection de l'autofluorescence des tissus.² Pour dépasser ces désavantages, notre équipe a élaboré des sondes basées sur un fluorophore ESIPT (Excited State Intramolecular Proton Transfer), insoluble en conditions physiologiques, qui fonctionnent selon un principe off→ON permettant l'imagerie très sensible d'une activité enzymatique souhaitée.

Nos sondes sont basées sur un système à trois composantes permettant de bénéficier des propriétés exceptionnelles des fluorophores ESIPT. Un des rares exemples de l'utilisation de tels fluorophores a été popularisé par Molecular Probes qui a développé une sonde pour phosphatase basée sur l'alcool ELF-97,³ un fluorophore insoluble qui produit une intense fluorescence verte, et exhibe un déplacement de Stokes de plus de 130nm. Cependant, ce fluorophore n'a pas rencontré un franc succès pour la détection d'autres enzymes comme les peptidases ou les glycosidases, probablement à cause de l'instabilité de la liaison reliant le fluorophore au substrat. Notre équipe a solutionné ce problème en incorporant un espaceur intelligent, relié au fluorophore par une liaison stable d'un côté, et au substrat d'intérêt de l'autre. Le fluorophore ainsi lié est privé de son caractère ESIPT, et sa fluorescence est inhibée (off). Après clivage enzymatique, le nucléophile généré va cycliser instantanément, provoquant la libération du fluorophore (ON) qui précipite à l'endroit même de l'activité enzymatique (Figure 1).

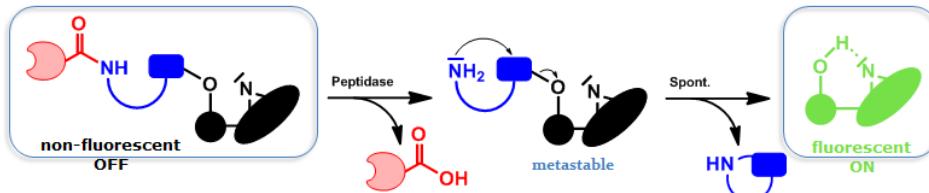


Figure 1 – Principe de fonctionnement des sondes à trois composantes

Nous avons ainsi mis au point une synthèse courte et versatile nous permettant de produire facilement des sondes pour détecter *in vitro* et imager *in cellulo* l'activité de la LeucineAminoPeptidase⁴ (LAP – Figure 2A et 2B), et de la β-D-galactosidase (β-gal – Figure 2C et 2D).

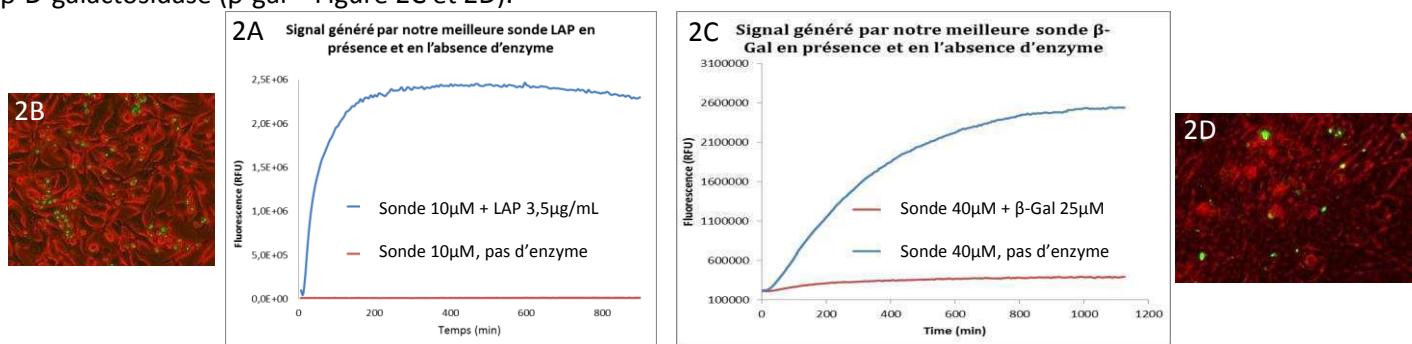


Figure 2 – Signal généré par l'incubation de nos sondes avec les enzymes purifiées (2A : LAP ; 2C : β-Gal) et images de cellules HeLa incubées avec nos sondes après 24h à 37°C (2B : LAP ; 2D : β-Gal)

En conclusion, nous avons développé des sondes modulables qui permettent l'imagerie très précise d'enzymes de classes diverses. Cette précision est obtenue grâce à l'insolubilité de l'intense fluorophore ESIPT généré et à la grande stabilité de nos sondes apportant un rapport signal/bruit immense. Des recherches sont en cours pour varier les fluorophores afin de parvenir à une imagerie dans la fenêtre de transparence biologique et au multiplexing.

...

1. A. Baruch *et al.* Trends in Cell Biology, 14: 29-35, 2004.
2. E. Boonacker *et al.* J. Histochem. Cytochem., 49: 1473-1486, 2001.
3. V.B. Paragas *et al.* J. Microscopy, 206: 106-119, 2002.
4. O. Thorn-Seshold *et al.* Chem. Commun., 48: 6253-6255, 2012.

Magnetofluorescent Nanoparticles: a Reverse Approach for High-Loaded Active Materials

Adrien Faucon¹, Julie Hémez¹, Jérôme Fresnais², Eléna Ishow¹

¹ Université de Nantes, Laboratoire CEISAM-UMR CNRS 6230

² Université Pierre et Marie Curie, Paris 6, Laboratoire PECSA – UMR CNRS 7195

Introduction

Magnetofluorescent nano-objects have recently stirred considerable interest in biological imaging. Both magnetic and optical addressing methods offer the combined advantages of remote vectorization and high sensitivity through light detection, respectively. The usual architecture consists in doped silica nanoparticles or core-shell structures where an inorganic magnetic core is surrounded by fluorescent units. The main limitations of these systems generally rely on spatial dilution of the active units or strong interactions with the surroundings, which is likely to quench the emissive excited state by energy, electron or proton transfer.

Material and Method

We have thus developed organic non-covalent fluorescent nanoparticles (FON)¹ which can serve as fluorescent platforms for hybrid magnetofluorescent nanoparticles² and exhibit weak sensitivity to biological media. Compared to free dyes in solution, they provide higher emission contrast thanks to a high load of active units estimated at around 10^5 - 10^6 molecules per nanoparticle. The stability provided by these amorphous nanoparticles in media of various ionic strength and pH makes them particularly attractive for biological imaging.

Results

The synthesis of amphiphilic triarylamine compounds with complexing units³ allowed us to generate FON (40-80 nm in size) with large linear or non-linear optical coefficients in the red and near infrared range. A straightforward procedure was developed to obtain stable and tunable organic nanosphere by reprecipitation in aqueous solution. This one-step procedure could be applied to organic molecules with distinct terminal units like carboxylic or phosphonic acids, able to complex iron oxide nanoparticles. Hybrid magnetofluorescent nano-assemblies (50–180 nm) have thus be simply elaborated by reprecipitating the complexing organic derivatives in iron oxide nanoparticle solution⁴ instead of water, and display high response to a magnetic or optical field excitation (Figure 1).

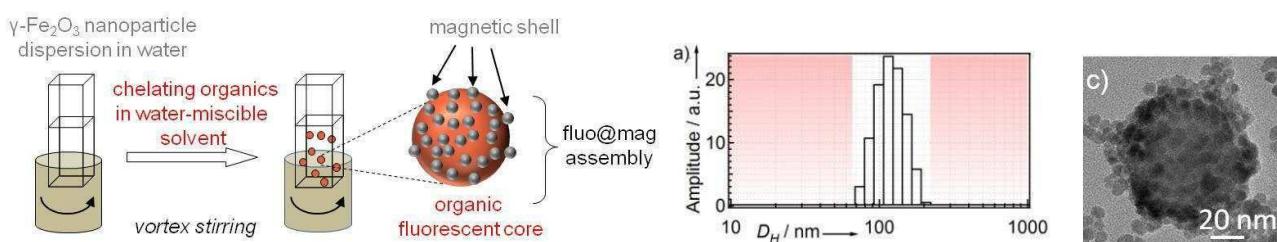


Figure 1 : Schematic description of the fabrication method to yield magnetofluorescent nanoparticles. TEM imaging and distributions of the mean hydrodynamic diameters D_H .

Conclusion

To the best of our knowledge, organic nanoparticles made of small organic molecules coated with iron oxide nanoparticles represent an innovating structure which has never been realized in spite of their vectorization properties. *In-vitro* assays are currently being performed to infer the potential ability as biological probes of this new class of core-shell structure, dubbed fluo@mag.

References

1. M. Breton et al. Phys. Chem. Chem. Phys., 13 ; 13268–13276, 2011
2. A. Faucon et al. Proc. SPIE-Int. Soc Opt. Eng., 8464, 1-9, 2012
3. A. Faucon et al. Fluorescent complexing organic nanoparticles: effect of H-bonding interactions on emission in the solid state, 2012, submitted
4. J. Fresnais et al. Small, 5 ; 2533-2536, 2009

In vivo detection of neuroinflammation surrounding amyloid plaque by USPIO-enhanced MRI in murine models of Alzheimer's disease

G. Louin, JS. Raynaud, P. Robert, X. Violas, R. Santus, V. Vives, F. Gombert, P. Zamia, O. Rousseaux, S. Catoen, E. Lancelot, I. Raynal, M. Port, C. Corot

Guerbet – Research Division, Roissy CdG, France

Introduction : Ultrasmall superparamagnetic iron oxide particles (USPIO) have been evaluated in animal experiments and clinical studies as MRI markers for the diagnosis of neuroinflammatory disease (1,2). However, the application to MRI diagnosis of Alzheimer's Disease (AD) still remains a challenge (3). This study was designed to evaluate the efficiency of a new USPIO , P904 [Guerbet Research], to detect by *in vivo* MR imaging, neuroinflammation surrounding amyloid plaques in two transgenic AD mice models with high-field (7T) and widely available clinical field-strength (2.35T) MR systems.

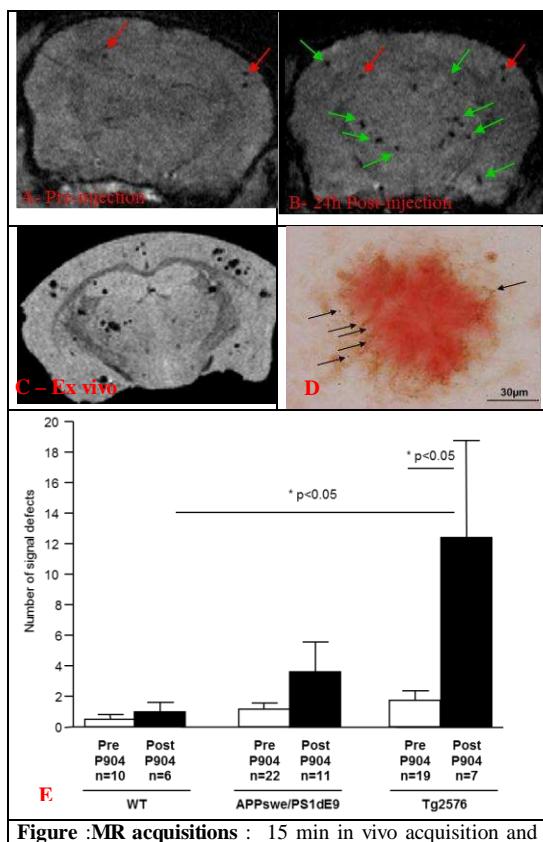


Figure :MR acquisitions : 15 min *in vivo* acquisition and iron accumulation in mice brain, before (A / red arrows) and 24h after P904 injection (B / green arrows); ex vivo MRI (C); **On histological slices :** iron (arrows), A β plaques (red), activated microglia staining (brown). **(D): Quantification:** Blinded *in vivo* evaluation of the number of signal defects detected in pre- and post-injection scans in all animals (E)

histological analysis showed that iron staining was colocalized with microglial cells surrounding amyloid plaques and some triple-staining matched with focal signal defects in injected transgenic mice. The ROC curve analysis showed that P904-enhanced MRI could differentiate an Alzheimer mouse from a wild-type animal with specificity and sensitivity of 80%. The accuracy of discrimination between Alzheimer and wild-type mice was clearly improved by injection of P904 (~30%).

Conclusion: This study suggests that the imaging of neuroinflammation surrounding amyloid plaque is feasible after an intravenous injection of P904. Continued investigation of P904 is warranted in diagnosing human Alzheimer's disease and monitoring treatment response.

References

1. Corot C. et al., Adv. Drug Delivery Reviews. 58, 1471–1504, 2006
2. Weinstein J.S., et al., J Cereb Blood Flow Metab. 30, 15-35, 2010.
3. Beckman N. et al, J. Neurosci. 31, 1023-1031, 2011

MOLECULAR ULTRASOUND ASSESSMENT OF ANTI-ANGIOGENIC THERAPY USING BR55, A SPECIFIC ULTRASOUND VEGFR2 TARGETED AGENT

Alexandre Helbert^{1,2}, Jean-Marc Hyvelin¹, Isabelle Tardy¹, Mathew von Wronski¹, Lucille Vallé¹, Catherine Botteron¹,
Sybille Pochon¹, Frédéric Padilla² and François Tranquart¹

¹Bracco Suisse S.A., Geneva, Switzerland

²LabTAU, Inserm U1032, F-69424 Lyon, France

Introduction

The Response Evaluation Criteria In Solid Tumors criteria (RECIST) is commonly used to evaluate the efficacy of anticancer therapies based on morphological assessment. However, with the advent of anti-angiogenic chemotherapy, vascular changes might occur initially without tumor size reduction, which can cast doubt on the sensitivity of RECIST criteria. These anti-angiogenic therapies target factors involved in neovascularisation. Our hypothesis is that molecular imaging of these factors could predict the response to anti-angiogenic treatment at an early stage. We tested the hypothesis that performing ultrasound molecular imaging (USMI) with BR55, an ultrasound contrast agent designed to bind the VEGFR2 (which is highly expressed during angiogenesis), could predict the efficacy of an anti-angiogenic treatment in a rat model of mammary tumor.

Material and Method

Spontaneous rat mammary tumors were obtained by intra-peritoneal injection of N-Nitroso-N-Methyl Urea in female rat. Animal received a daily anti-angiogenic treatment (sunitinib) or vehicle (20mg/Kg). VEGFR2 expression during treatment (from 6h up to 72h) was monitored by USMI using BR55 (Ultrasound scanner iU22, L12-5 probe operating in contrast mode). Ultrasound contrast enhancement was quantified using software developed in-house. Perfusion parameter (peak enhancement, PE) was quantified in the largest cross section of the tumor during the early wash-in phase. Targeted contrast enhancement, due to bound BR55 microbubbles, was assessed 10 min after injection in the largest cross section as well as through the entire tumor by sweeping the transducer in 2 mm steps. Finally immunohistochemistry staining of both CD31 (vascularity) and VEGFR2 was performed on tumor at different times after treatment.

Results

Throughout treatment, anti-angiogenic treatment produced a rapid decrease of BR55 binding over time. This decrease appeared earlier and was more pronounced compared to the effect on both PE and morphological parameters. Similarly, immunohistochemistry showed a rapid decrease in VEGFR2 expression, which preceded decrease in vascularity. In the control vehicle group no modifications were observed.

Conclusion

We demonstrate that USMI using BR55 shows greater and earlier changes in response to anti-angiogenic treatment compared to morphological modifications. This earlier assessment of therapeutic efficacy based on VEGFR2 expression was further supported by immunohistochemistry.

High potential of 99m Tc-NTP 15-5 as a SPECT radiotracer for cartilage pathologies in human

E. Miot-Noirault¹, A. Vidal¹, F. Cachin^{1,4}, F. Gouin², S. Boisgard^{1,3}, P. Auzeloux¹, M. Filaire⁴, C. Peyrode¹, S. Askienazy⁵, D. Heymann², F. Redini², JM. Chezal¹.

¹UMR 990INSERM/UdA- 63005 Clermont Ferrand; ²INSERM U957- 44035 Nantes; ³Orthopaedic Surgery, Gabriel Montpied Hospital- 63005 Clermont Ferrand; ⁴Jean Perrin Center – Clermont Ferrand; ⁵Cyclopharma Laboratoires – 63360 St Beauzire - FRANCE

Background: Our group develops 99m Tc-N-(triethylammonium)-3- propyl-[15]ane-N5 (99m Tc-NTP 15-5), which binds to proteoglycans (PG) in cartilage. Potential clinical applications include the assessment of degenerative, and malignant cartilage diseases.

Methods: We have assessed 99m Tc-NTP 15-5 radiotracer in: (i) healthy animals, (ii) animals developing osteoarthritis, and (iii) animals with primary and recurrent grade II orthotopic chondrosarcoma. Considering pathological models, 99m Tc-NTP 15-5 imaging was performed at regular intervals after pathology induction and tracer uptake followed as a function of time.

The potential of the radiotracer to bind to human articular cartilage was also evaluated after ex vivo incubation with osteoarthritic knee parts and large knee specimens, and compared to. results obtained with 99m Tc-HMDP bone radiotracer.

Results: In healthy animals, a high and specific accumulation of 99m Tc-NTP 15-5 was observed in cartilage (about 5.5 +/- 1.7 % of ID/g of tissue at 15 min after iv injection), with a highly contrasted joint imaging.

In the meniscectomized guinea pig model of osteoarthritis, 99m Tc-NTP 15-5 imaging allowed in vivo the assessment of PG changes associated to both the hypertrophic and decompensation responses of degenerative cartilage.

In the orthotopic swarm rat chondrosarcoma models (both the primary growth and recurrent models) a significant uptake of the tracer was evidenced at the tumoural site at very early stage, and strongly correlated with tumoural growth. It should be mentionned that 99m Tc-HMDP imaging was negative during the whole study, even at the later stage of tumoural development or recurrence.

Ex vivo incubation with human specimens evidenced cartilage to cortical bone uptake ratios about 3.90 ± 2.35 and 0.76 ± 0.24 , respectively, for 99m Tc-NTP 15-5 and 99m Tc-HMDP. Visual analysis of fused SPECT/ CT slices confirmed selective, intense 99m Tc-NTP 15-5 accumulation in articular cartilage, whereas 99m Tc-HMDP binding was low. Furthermore cartilage defect visualized on CT was clearly associated with focal decreased uptake of 99m Tc-NTP 15-5.

Conclusions: 99m Tc-NTP 15-5 has the potential to be the first and only radiopharmaceutical able to provide in vivo a specific diagnosis and staging of cartilage diseases in human and prompt us to initiate clinical transfert.

Grants: Ligue Contre Le Cancer ; Fondation pour la recherche Medicale ; Regional Innovation fund OSEO

Brain activation patterns of serotonin-1A agonists: a 7T pharmacological-MRI study in the rat

R Bolbos¹, G Becker^{2,3}, JB Langlois¹, A Newmann-Tancredi⁴, N Costes¹, L Zimmer^{1,2,3}

¹ CERMÉP - Imagerie du vivant, Bron, France; ² Centre de Recherche en Neurosciences de Lyon, CNRS, INSERM, Université Lyon 1, Lyon, France; ³ Hôpitaux Civils de Lyon, Lyon, France; ⁴ Neurolixis Inc, San Diego, USA

Introduction

Serotonin 1a (5-HT_{1A}) receptors are involved in several physiological and pathological processes and constitute therefore an important therapeutic target for pharmacology. The recent concept of "biased agonism" [1] asserts that agonists can preferentially direct receptor signaling to specific intracellular responses. This opens the possibility of drugs targeting receptor in specific brain regions. Our aim is to bring supplementary proofs to this concept with the *in vivo* imaging. Functional magnetic resonance imaging (fMRI) with the blood oxygen level dependent (BOLD) signal, widely used in the field of cognitive and sensory neuroscience, has recently been employed to investigate the effects of psychoactive agents on brain activity (pharmacological-MRI or PhMRI) [2]. The present study aims to highlight the BOLD signal obtained subsequent to the administration of 5-HT_{1A} agonists. We use three different 5-HT_{1A} agonists (8-OH-DPAT, F13714 and F15599) to test for their specific localized influence on the BOLD signal.

Material and Method

In vivo experiments were performed in agreement with the ethical guidelines for animal experimentations of the European Community Directive (86/609/EEC). We used adult male Sprague Dawley rats (n=3 for each agonist). After anesthesia induction, animals were placed in a supine position in a dedicated bed (Bruker Animal Handling Systems) and maintained under anesthesia during the entire MRI protocol at 2.5% isoflurane delivered *via* a cone mask. The body temperature was maintained at 37°C during all the experiment.

The *in vivo* MR experiments were conducted on a 7T BRUKER Biospec MR scanner using a 25 mm diameter surface coil for signal reception. Pharmacological MR images were performed on rat brain using a T2*-EPI sequence with the following parameters: TR/TE = 3000/25 ms, 10 consecutive slices of 1.5 mm thickness, FOV = 3 x 1.5 mm², matrix 128 x 64, 600 repetitions for 30 minutes total scan time.

The MR experimental schedule consisted of 15 minutes of initial baseline acquisition period (pre-injection) followed by 15 min. acquisition after intra-peritoneal drug injection *via* a remote cannula. The animals were scanned under two conditions, after delivering saline solution (NaCl, 0.9%, control condition), and 72 hours later, receiving one of the three agonists: 8-OH-DPAT (0.32 mg/kg ip), F15599 (0.16 mg/kg ip) or F13714 (0.04 mg/kg ip).

Results

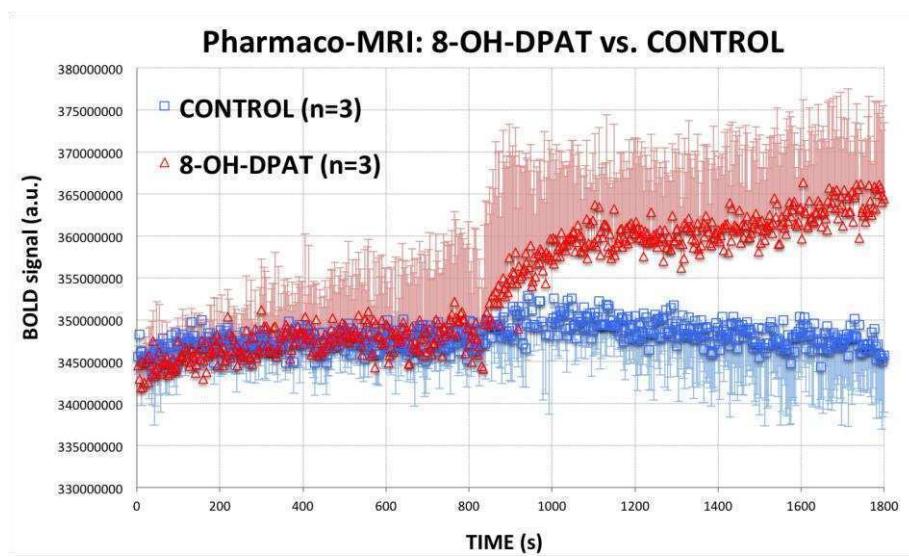


Figure 1 : BOLD temporal profiles specifically drowned on the hippocampus showing a significant ($p<0.001$) effect as response to 8-OH-DPAT administration compare to saline solution.

Two symmetric region of interest (ROI) were drawn on the hippocampus on the EPI images. BOLD temporal profiles from the selected ROIs are represented in Fig. 1. In accordance with the existing literature [3], injections of saline solution induced no significant functional changes in BOLD signal intensity compared to the baseline (blue curve, t-test, $p=0.18$). In contrast, significant effects were observed as interaction with 8-OH-DPAT administration compare to baseline (red curve, t-test, $p<0.001$). The same approach was used for the F15599 and F13714's pharmacological challenges.

Conclusion

This protocol highlights phMRI as a useful and sensitive tool for mapping region-specific patterns of functional activity

across the rat brain in response to the administration of 5-HT_{1A} agonists. This approach might be useful for *in vivo* mapping of the neuronal activation via 5-HT_{1A} agonists, confirming the concept of specific drug targeting with phMRI and accelerating the screening of drug candidates.

References:

1. Newman-Tancredi, Neuropsychiatry, 2:149-164, 2011.
2. Ferrari L et al. J NeuroScience Meth, 204:9-18, 2012.
3. Canese R et al. NeuroImage 58:885-894, 2011.

Radiolabelling and Biological Evaluation of ICF15002, a New Fluorinated and Iodinated Melanin-Targeting Compound for Melanoma PET Imaging and Targeted Radionuclide Therapy

Latifa Rbah-Vidal, Emilie Billaud, Aurélien Vidal, Sophie Besse, Pierre Labarre, Elisabeth Miot-Noirault, Philippe Auzeloux, Jean-Michel Chezal

Université d'Auvergne, Imagerie Moléculaire et Thérapie Vectorisée, BP 10448, F-63000 Clermont-Ferrand, France; Inserm, U 990, F-63005 Clermont-Ferrand, France.

Aim:

The incidence of malignant melanoma is increasing worldwide. Although localized disease is often curable by surgical excision, metastatic melanoma is inherently resistant to most treatments. Our lab developed for many years arylcarboxamides as melanoma tracers due to their melanin affinity in order (i) to improve staging and monitoring of therapy by PET imaging (ii) to develop Targeted Radionuclide Therapy (TRT). In a new bimodal approach, we evaluated ICF15002, a fluorinated and iodinated melanin-targeting compound, offering both diagnosis (PET/fluorine-18) and therapeutic (TRT/iodine-131) applications, depending on the radionuclide introduced.

Methods:

¹⁸F radiolabelling and PET imaging : Fully automated radiosynthesis of [¹⁸F]ICF15002 was performed on a SynChrom® R&D module (Raytest). [¹⁸F]F⁻ was converted into [¹⁸F]KF₂₂₂ complex, then nucleophilic substitution of mesylate precursor ICF15001 was achieved in MeCN at 90°C for 10 min. [¹⁸F]ICF15002 was injected to animal after semi-preparative HPLC purification and formulation.

For primary melanoma model, melanoma *cells* (3×10^5 *cells/mouse*) were injected subcutaneously in the shoulder of mice. Pulmonary metastatic model was induced by intravenous injection of melanoma *cells* (1.5×10^5 *cells/mouse*) in lateral tail vein of mice. In both models, *in vivo* biodistribution of [¹⁸F]ICF15002 was evaluated by PET imaging 1 h post tracer injection at different stages of melanoma development.

¹³¹I radiolabelling and radionuclide therapy: ICF15002 was radiolabelled with ¹³¹I at high specific activity, starting from ICF15060 ([¹³¹I]NaI, HCl, Chloramine T, rt) and purified by semi-preparative HPLC.

[¹³¹I]ICF15002 treatment was administered by i.v. injection in B16Bl6 primary melanoma-bearing C57BL/6j mice (2x20 MBq) at Day-7 and Day-11 post tumour inoculation. Tumour growth was evaluated by measuring tumoural volume three times a week with a digital caliper and compared to control mice. Survival rate and spontaneous lung metastasis occurrence were also assessed.

Results:

[¹⁸F]ICF15002 was produced in 54 min, with 23% overall RCY and a RCP>99%.

Melanoma tumours were visualized by PET 1 h post tracer injection as early as Day-6 after cells inoculation. Tumoural uptake of [¹⁸F]ICF15002 was 9.1±4.1 %ID/g, 15.6±0.9 %ID/g and 13.5±1.8 at Day-6, Day-10 and Day-15, respectively. All tumours were clearly visible with high signal to background ratio (tumour-to-muscle ratio=5.7±2.9, 9.4±0.6 and 12.2±3.8 at Day-6, Day-10 and Day-15, respectively). Furthermore, radiotracer elimination occurred mainly through the urinary system. In pulmonary metastatic model, uptake of [¹⁸F]ICF15002 was evident in lung metastatic lesions as early as Day-9 post inoculation with radiotracer accumulation increasing as melanoma invaded lungs.

For targeted radionuclide therapy, [¹³¹I]ICF15002 was radiosynthesized with 60% overall RCY and a RCP >99%.

Treatment of primary melanoma-bearing mice with [¹³¹I]ICF15002 showed that this radiotracer was able to deliver a high radiation dose to melanoma tumours, inducing an increase in survival (26.9±0.7 days in treated mice vs 21.2±0.6 days in controls) and reduction of tumour growth rate (doubling time 2.92±0.45 days vs 1.80±0.25 days in controls; T test: p=0.006).

Conclusion:

[¹⁸F]ICF15002 demonstrated very promising results with highly contrasted melanoma lesions imaging suggesting an excellent potential for melanoma staging. Moreover, [¹³¹I]ICF15002 treatment significantly inhibited B16Bl6 tumoural growth and increased survival time. Our findings support the bimodal concept which could constitute a promising approach for imaging, staging and therapy of melanoma.

Grant: TRT/PET/MEL Program (CLARA).

MRI detection of iron (II) complexes responsive to chemical or enzymatic stimuli

F. Touti¹, L. Canaple², O. Beuf³, P. Maurin¹, J. Samarut², J. Hasserodt¹

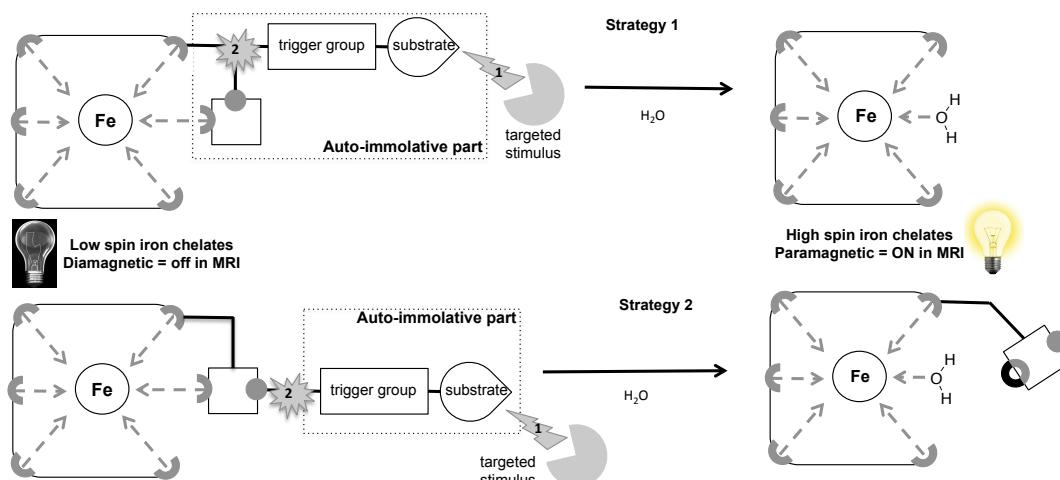
¹ Laboratoire de chimie, UMR CNRS UCBL 5182, Ecole Normale Supérieure de Lyon, 46 allé d'Italie, 69364, Lyon, France

² Institut de Génomique Fonctionnelle de Lyon, Université de Lyon 1, UMR CNRS 5242, ENS de Lyon, 46 allée d'Italie, 69364 Lyon, France

³ Laboratoire CREATIS, UMR CNRS 5220, Inserm U1044, INSA-Lyon, Université Lyon 1, France

Outstanding resolution, unlimited tissue penetration and absence of ionizing radiation are features that make Magnetic Resonance Imaging (MRI) the tool of choice for anatomical imaging. In many applications, Gadolinium based contrast agents allow to enhance contrast between different tissues in order to improve diagnosis. However, this technology still misses agents capable of revealing a specific biological or molecular activity, in other words probes that enhance the signal upon a chemical or enzymatic stimulus.

Our work is aimed to the design of such probes and focuses on Iron (II) complexes¹ because they can, depending on the ligand nature, adopt two electronic spin states: a low-spin state (diamagnetic, silent in MRI) or a high-spin state (paramagnetic, MRI "active"). We will present two different strategies we developed to obtain diamagnetic iron (II) complexes (left part of the scheme) that can become paramagnetic (right part of the scheme) upon chemical or enzymatic stimuli and thus lead to a generation of contrast in MRI. Both strategies rely on the replacement of one coordinating atom of the ligand by a water molecule subsequent to chemical modifications initiated by the encounter with the targeted chemical or enzymatic stimulus. Strategy 1 consists in the loss of one coordinating arm² whereas strategy 2 consists in the de-coordination of one arm via a protonation process.³



We will show synthetic access to both kind of probes and studies proving the generation of an MRI signal upon activation by the desired stimulus.



Application of such systems to the visualization of gene expression or even the monitoring of the efficiency of a therapeutic treatment should be of great interest.

1. V. Stavila, M. Allalli, L. Canaple, Y. Stortz, C. Franc, P. Maurin, O. Beuf, O. Dufay, J. Samarut, M. Janier, J. Hasserodt, *New J. Chem.* **2008**, *32*, 428
2. F. Touti, P. Maurin, J. Hasserodt, Patent pending FR20121257413
3. F. Touti, P. Maurin, L. Canaple, O. Beuf, J. Hasserodt, *Inorg. Chem.* **2012**, *51*, 31

Comparison of Echo-Power Estimation Using Linearized Video Data and Raw Data for Dynamic Contrast-Enhanced Ultrasound

Payen T.¹, Coron A.¹, Lamuraglia M.¹, Lucidarme O.², Le Guillou-Buffello D.¹, Bridal S.L.¹

¹Laboratoire d'Imagerie Paramétrique UMR 7623 CNRS UPMC, Paris, France

²Functional Imaging Laboratory, INSERM UPMC 678, Paris, France

Introduction

To estimate perfusion using Dynamic Contrast-Enhanced Ultrasound (DCE-US), some manufacturers provide software that analyses DICOM Raw Data formatted files. In those files, most of the information cannot be interpreted except by the manufacturer software. This approach, when available, is often recommended over use of more accessible DICOM JPEG which encapsulate ultrasound system images as compressed JPEG images [1, 2]. However, the manufacturers' dedicated software is machine specific with limited functionalities which hinders multicentric studies using different ultrasound machines.

Material and Method

Three approaches for estimation of echo-power from contrast ultrasonographic images are compared using data acquired at the same time and in the same analysis regions: machine specific CHIQ (Contrast Harmonic Imaging-Quantification, Toshiba, Tokyo, Japan) to analyze DICOM Raw Data, commercially available VueBoxTM (Bracco SA Suisse, Geneva, Switzerland) using DICOM JPEG images [3] and in-house software PixPower (developed in-house at UPMC and CNRS, UMR 7623) also processing DICOM JPEG images. Proportionality between echo-power estimates and dose of contrast agent microbubbles in solution was compared for the three methods using the BR38 experimental agent from Bracco. Concentration range from 500 microbubbles/mL to 8×10^5 microbubbles/mL was selected to have signals sufficiently above the noise and with minimal shadowing. Agreement between the three approaches was also assessed using DCE-US sequences acquired in an *in vivo* tumor model and stored in the two data formats. Care was taken to compare estimates of echo-power throughout the full dynamic range from noise in the coupling gel to saturation in the highly reflecting regions in the tumor.

Results

Proportionality between echo-power estimates and dose of contrast agents in suspension was validated *in vitro* for the three approaches (echo-power increased by approximately 3 dB for each concentration doubling). VueBoxTM and PixPower echo-power estimations from DCE-US sequences acquired in an *in vivo* tumor model were in agreement with those obtained with the CHIQ reference.

Conclusion

The results demonstrate that, for the dynamic ranges considered, linearized data from compressed video images can provide echo-power estimation as good as dedicated software exploiting DICOM Raw Data. This study also underlines the acquisition conditions that must be respected to apply more universal approaches for DCE-US analysis based on DICOM JPEG images.

Acknowledgement

The BR38 microbubbles and VueBoxTM software were kindly provided by Bracco Suisse SA. The authors are most grateful to Marcel Ardit, Emmanuel Gaud and Laurent Mercier of Bracco Suisse SA for constructive discussions and advice on the use of VueBox.

References

1. Peronneau P. *et al.*, Ultraschall in der Medizin, vol. 31, no. 4, pp. 370–8, Aug. 2010, Contrast ultrasonography: necessity of linear data processing for the quantification of tumor vascularization.
2. Gauthier T. P. *et al.*, Ultrasonics, vol. 51, no. 1, pp. 102–6, Jan. 2011, Perfusion quantification using dynamic contrast-enhanced ultrasound: the impact of dynamic range and gain on time-intensity curves.
3. Tranquart F. *et al.*, Ultraschall in der Medizin, vol. 33, pp. S31–S38, 2012, Perfusion Quantification in Contrast-Enhanced Ultrasound (CEUS)-Ready for Research Projects and Routine Clinical Use.

Inflammation and macrophage imaging in the aging ApoE^{-/-} mouse: the impact of exercise.

Erica N Chirico^{1,2}, Fabien Chauveau³, Alain Geloen¹, David Patsouris¹, Cyril Martin², Hubert Vidal¹, Jennifer Rieusset¹, Vincent Pialoux^{2*}, Emmanuelle Canet-Soulas¹.

¹Cardiovascular, Metabolism, Diabetes, and Nutrition (CarMeN INSERM U-1060) University Lyon 1, Faculty of Medicine Hospital Lyon Sud, Oullins, France; ²Center of Research and Innovation in Sports, (CRIS EA647), University Claude Bernard Lyon 1, University of Lyon, Villeurbanne, France ;³CREATIS (CNRS UMR 5220), INSERM, University Claude Bernard Lyon 1, France

* These authors equally contributed to the presented work.

Atherosclerosis is a chronic inflammatory disease that is overwhelmed by oxidative stress and inflammation, with macrophages being main actors in this process. Exercise training has been shown to reduce oxidative stress and inflammation, providing protection in many diseases. We hypothesize that exercise training could limit macrophage accumulation within the aortic arch and cerebral vessels as seen in MRI via a decrease in oxidative stress and inflammation. A 12-week exercise or sedentary program was enforced in young (8 weeks) and old (66 weeks) ApoE^{-/-} mice on high fat/high cholesterol diet, followed by 2 MRI sessions.

MRI of the aortic arch showed an increased vessel wall area in old untrained mice compared to old exercise trained mice. The old mice had a significantly increased vessels wall area compared to the young mice. In terms of T2* measurements, there was no difference in the delta between pre- and post-contrast. However, both young and old exercise trained mice had a higher pre- and post-T2* measurement. Exercise training was able to decrease systemic levels of oxidative stress and inflammation as old untrained mice had higher levels of AOPP, TNF, and IL-1b. This corresponded to oxidative stress and inflammation levels in the brain, as MDA, AOPP, TNF, and IL-1b were significantly increased in old untrained mice. This improvement in exercised trained mice was translated to MRI results of the brain. MRI showed an increase in macrophage accumulation in 83% the old untrained mice, while positive macrophage imaging was virtually absent in the old exercise trained mice (12%).

In conclusion, these results suggest that the overall increase in systemic oxidative stress and inflammation common to atherosclerosis could increase plaque size and alter macrophage phenotype in the aorta, as well as increase macrophage accumulation within the brain. Exercise training was able to ameliorate these consequences by reducing systemic and local production of oxidative stress and inflammation.

UltraSmall Rigid Platforms for multimodal imaging and theranostic applications

L. Sancy¹, A. Mignot¹, J. Morlieras¹, C. Truillet¹, S. Dufort²⁻³, G. Le Duc⁴, J.-L. Coll³, S. Roux⁵, P. Perriat⁶, F. Lux¹, O. Tillement¹.

¹ Laboratoire de Physico-Chimie des Matériaux Luminescents, UMR 5620, Université Lyon 1, Villeurbanne, France.

² Nano-H SAS, 2 place de l'Europe, 38070 Saint-Quentin Fallavier, France.

³ INSERM, CRI, U823, Institut Albert Bonniot, F-38042 Grenoble 9, France.

⁴ European Synchrotron Radiation Facility, ID 17 Biomedical Beamline, BP220, 38043 Grenoble, France.

⁵ Institut UTINAM, UMR 6213 CNRS – Université de Franche-Comté, 25030 Besançon Cedex, France.

⁶ Laboratoire MATEIS, UMR 5510, INSA Lyon.

Introduction

UltraSmall Rigid Platforms (USRPs) are hybrid nanoparticles with a size under 5 nm composed of polysiloxane and gadolinium complexes covalently grafted to the inorganic matrix. Due to its composition, the nanoparticles could be used as contrast agent for 4 different types of imaging: Magnetic Resonance Imaging (MRI), Scintigraphy (SPECT or PET), Fluorescence Imaging (FI) and X-Ray tomography.

Material and Method

The nanoparticles, native, labeled with a fluorophore or a radioactive atom, were injected to rodents to perform MRI, FI and SPECT imaging, respectively. The biodistribution was evaluated using radioactive or fluorescent counting and inductively coupled plasma (ICP). Organ sections were also analyzed using a very innovative method, the laser-induced breakdown spectroscopy (LIBS), to cartography and quantify the Gadolinium (Gd) and Silicon (Si) atom in tissue sections.

Results

The *in vivo* biodistribution on healthy rats and mice indicated that USRPs freely circulate in the blood vessels without undesirable accumulation in the lungs, spleen or liver; the USRPs were eliminated exclusively by renal excretion¹. The combination of the different imaging modality is important to benefit from the advantages of each (resolution for MRI imaging and sensitivity for scintigraphy). The injection of the USRPs in tumor-bearing animals revealed their accumulation in the tumor area due to its enhanced permeability and retention properties². Active targeting can also be used to increase specifically this tumor accumulation. This specific targeting was also demonstrated by the coupling of cyclic RGD-peptide, known for its affinity toward α,β_3 integrins, on the nanoparticles³. Thanks to LIBS, the detection of the native USRPs in absence of any labelling was possible. Kidney⁴ and tumor sections were mapped to detect and quantify Gd, Si and Fe atoms. Gd and Si were highly correlated, indicating that the USRPs were stable in those conditions.

Conclusion

These nanoparticles combine nano-objects advantages, i.e. multimodality that allow the detection of passive accumulation in the tumor due to enhanced permeability and retention effect and prolonged time circulation, and molecular advantages such as renal excretion. The USRP possess also a great potential for radiosensitization, i.e. enhancement of the therapeutic properties of the radiotherapy by the use of the nanoparticles. For this type of treatment, the following of the particles by imaging techniques is a key point to determine the opportune moment to “launch” radiotherapy. To conclude, USRPs exhibit an interesting potential for image-guided radiotherapy that should permit to adapt the therapy to each patient.

References

1. Lux F. et al. Angew. Chem. Int., 50:1-6, 2011.
2. Le Duc G. et al. ACS Nano., 5:9566-74, 2011.
3. Morlieras J. et al. *in preparation*.
4. Motto-Ros V. et al. Appl. Phys. Lett. submitted.

Synthesis of watersoluble nanoprobes for two-photon imaging and photodynamic therapy

C. Cepraga,^{1,2,3} T. Gallavardin,³ S. Marotte,^{1,2,4} P-H. Lanoe,³ J-C. Mлатier,³ M. Lindgren,^{3,5} P. L. Baldeck,^{3,6} J. Marvel,⁴ O. Maury,³ C. Monnereau,³ F. Lerouge,³ A. Favier,^{1,2} S. Parola,³ C. Andraud,³ Y. Leverrier,⁴ M-T. Charreyre^{1,2}

1) ENS de Lyon, Laboratoire Joliot-Curie, 46 Allée d'Italie, F-69364 Lyon

2) INSA-Lyon, Laboratoire Ingénierie des Matériaux Polymères, F-69621 Villeurbanne

3) ENS de Lyon, Laboratoire de Chimie, 46 allée d'Italie, F-69364, Lyon

4) INSERM, U851, 21, Avenue Tony Garnier, F-69007, Lyon

5) Norwegian University of Science and Technology, Department of Physics, N-7491 Trondheim, Norway

6) Université Joseph Fourier, Laboratoire de Spectrométrie Physique, F-38402 Saint Martin d'Hères

Introduction

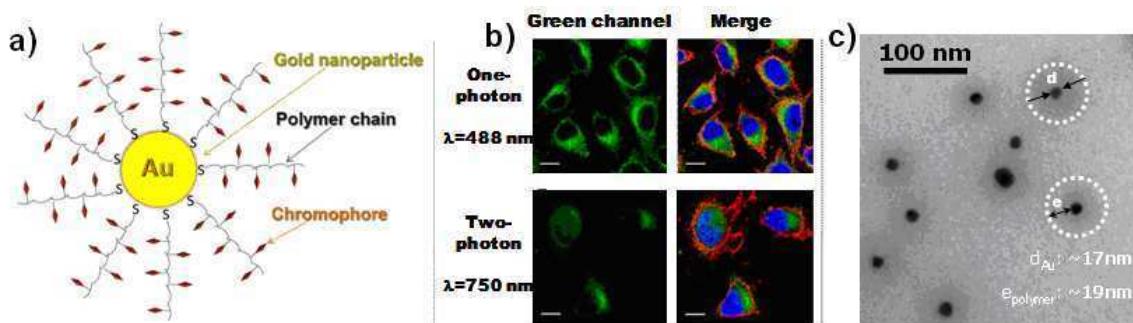
A versatile approach is introduced for the synthesis of well-defined and biocompatible nanoprobes combining two-photon chromophores, hydrophilic multifunctional polymers and spherical gold nanoparticles (Fig a) for bioimaging and photodynamic therapy (PDT) applications.

Material and Method

Multifunctional polymers were synthesized by RAFT polymerization.¹ Murine IL-3 dependent BaF3 cells and B16-F10 melanoma cells were used. Cells were analyzed using a LSR or a Canto II flow cytometer. Imaging was performed using one-photon excitation (488 nm) or two-photon excitation (750 nm) with the tunable infrared laser Ti:Sapphire Chameleon Ultra II (690 nm-1040 nm).

Results

In a first step, two different classes of chromophore-polymer conjugates carrying multiple fluorophores (based on an anthracene moiety, Anth) or photosensitizers (based on a dibromobenzene moiety, DBB) along the polymer chain were elaborated. In both cases, the polymer greatly improved the solubility in biorelevant media as well as the cell uptake. Anth conjugates provided high quality fluorescence microscopy images using both one- and two-photon excitation (Fig b). DBB conjugates successfully induced the death of cancer cells upon photoactivation.



In a second step, the grafting of these conjugates onto spherical gold nanoparticles resulted in nanoprobes stable in aqueous media. Their characterization by TEM provided the gold core diameter as well as the polymer shell thickness (Fig c). Spectrophysical studies indicated that the fluorescence of the nanoprobe was dependent upon the number of chromophores per nanoparticle and the length of the polymer chain. The behavior of such nanoprobes in biological medium is currently under investigation.

Conclusion

Our results demonstrate that highly water-soluble polymer conjugates could be elaborated and provided valuable imaging probes for one- and two-photon excitation fluorescence microscopy as well as novel photosensitizers with significantly improved efficiency for photodynamic cancer therapy.²

References

1. Favier A. *et al.* Polymer, 45:7821, 2004.
2. Cepraga C. *et al.* Polymer Chemistry, DOI: 10.1039/c2py20565c, 2012.

DETECTION OF FREE RADICAL PRODUCTION IN THE MITOCHONDRIA OF SINGLE LIVING CELLS BY

FLUORESCENCE LIFETIME MICROSCOPY

A-C Ribou¹, A Bijoux¹, N Inguimbert²

¹ IMAGES, Université de Perpignan

² LCBE, Université de Perpignan

Introduction

Free radicals are an important part of reactive oxygen species (ROS). Their presence is essential for proper cell function. If present in moderate amounts, they act as signalling messengers in numerous cellular processes such as cell proliferation, differentiation, migration, as well as cell-cell communication. However, excessive ROS accumulation leads to oxidative stress inducing cell damage and death. Numerous diseases are linked to aberrant ROS production. Direct quantification of ROS on a cellular level still remains difficult nowadays. Since their detection on cellular level is of great interest for bio-medical researches new methods are continually developed, such as spin trapping techniques or synthesis new fluorescence probes. Using the potential of a method based on fluorescence lifetime microscopy approach, we present here the synthesis and characterisation of a new probe that localized in the mitochondria of living cells.

Material and Method

Free radical detection can be performed on the cellular level with PBA (1-pyrenebutyric acid). We recorded the fluorescence lifetime decays using time-resolved microfluorimetry in living cells loaded with less than micromolar concentrations of PBA. Emission was recorded through an adapted band-pass filter (404nm for PBA) after excitation of single living cells with a pulsed nitrogen laser (337nm, 3ns). Both PBA lifetimes and NAD(P)H intensities were simultaneously recorded. Free radical concentration variations were calculated from the Stern-Volmer equation. Metabolism activity is obtained through the ratio of NADPH intensities. The new mitochondrial probe was successfully synthesised by adding pyrene fluorophore to a known cargo-peptide.

Results

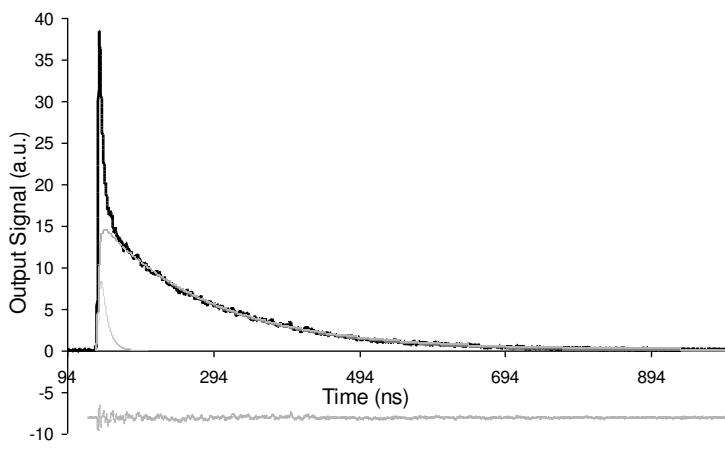


Figure 1: Fluorescence decay of PBA ($0.2\mu\text{M}$) in single living cell.

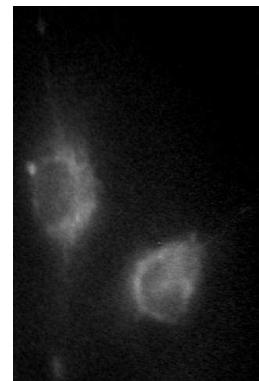


Figure 2 : Fluorescent Image of PBA loading cells (exc 337 nm)

Conclusion

This new method was validated for the probe PBA in solutions [1] and used to detect free radical at cellular level in several applications [2-3].

References

1. O. Oter, et al. *Journal of fluorescence*, 19 :389-397, 2009
2. A-C. Ribou and K. Reinhardt. *Proceedings of the Royal Society B*, 279: 2196-203, 2012.
3. J. Savatier, et al. *Leukemia Research*, 36 : 791-8, 2012.

Session 3 :

Les développements récents en méthodologie

et instrumentation

Nouveaux dendrimères luminescents à base de lanthanides pour imagerie biologique proche infrarouge

A Foucault¹, S Villette¹, H Uh², S Petoud^{1, 2}

¹Centre de Biophysique Moléculaire, CNRS, UPR4301, Orléans, France

²Department of Chemistry, University of Pittsburgh, Pennsylvania, USA

Introduction (Calibri 11, gras)

L'imagerie optique proche infrarouge est particulièrement avantageuse pour les études biologiques *in vivo* car en plus de pénétrer profondément dans les tissus biologiques sans créer de dommages, ce type de lumière permet de travailler dans un domaine où l'autofluorescence est très faible ou inexistante, permettant ainsi d'obtenir une meilleure sensibilité de détection¹.

A l'heure actuelle, la plupart des composés émettant dans le proche infrarouge ont des rendements quantiques relativement faibles et sont sensibles au photoblanchiment. Nous proposons d'utiliser de nouvelles molécules à base de lanthanides luminescents dont la structure permet de maximiser le nombre de photons émis par unité de volume afin de compenser les faibles rendements quantiques et d'améliorer la sensibilité de détection.

Les composés de lanthanides possèdent des propriétés uniques offrant de nombreux avantages pour l'étude de problèmes biologiques. Ils résistent notamment à la photodécomposition et émettent sous forme de bandes très étroites dont les longueurs d'onde ne varient pas en fonction des conditions expérimentales et qui ne se recouvrent pas, permettant ainsi de les distinguer spectralement². Une autre particularité est leur faible absorption dans le domaine de l'UV et du visible. Pour pallier à cette limitation, il est nécessaire de sensibiliser les lanthanides par l'effet d'antenne : un sensibilisateur ou chromophore va capter l'énergie lumineuse d'excitation et la transférer au lanthanide qui va alors émettre sa luminescence.

Matériel et Méthode

Le laboratoire a créé de nouveaux composés dérivés de dendrimères polyamidoamine de génération 3 capables non seulement de sensibiliser les cations lanthanide mais également d'augmenter considérablement la sensibilité de détection en maximisant le nombre de photons émis par unité de volume. Ils intègrent 8 cations lanthanides sensibilisés par 32 antennes dérivées du 1,8-naphthalimide³. Pour un même dendrimère, il est alors possible de choisir la longueur d'onde d'émission en complexant le lanthanide adéquat: Eu³⁺ (614 nm), Yb³⁺ (980 nm) ou Nd³⁺ (1064 nm).

Résultats

Le but de ce travail est d'étudier le comportement de ces nouveaux composés dans la cellule avant de l'utiliser chez le petit animal. Nous avons montré que ces dendrimères ne sont pas toxiques et sont bien internalisés malgré leur poids moléculaire élevé (environ 29000 Dalton). Ces composés ont démontré une bonne stabilité en milieu biologique et dans différentes conditions extrêmes (pH variant de 3 à 10 et exposition prolongée à la lumière). Des études de microscopie proche infrarouge ont validé notre stratégie consistant à multiplier le nombre d'antennes et de lanthanide par molécule. En effet, la détection du signal du lanthanide Yb³⁺ à 980nm a permis d'observer un signal d'émission intense avec des temps d'acquisition courts. Il a également été possible d'observer le signal proche infrarouge de l'Yb³⁺ *in vivo* (sans signal parasite d'autofluorescence), après injection sous cutanée de cellules ayant internalisé les dendrimères.

Conclusion

Pour la première fois, il a été possible d'établir la preuve de principe que les dendrimères polymétalliques incorporant des lanthanides luminescents peuvent être utilisés pour l'imagerie *in vivo* dans proche infrarouge et notamment pour la détection de tumeurs sous cutanées (carcinome mammaire) chez petit animal.

Références – References

1. Weissleder R., et al. Nature Biotech. 19 : 316, 2001
2. Petoud S., et al. J. Am. Chem. Soc. 44 : 13324-5, 2003
3. Cross J.P., et al. J. Am. Chem. Soc. 126 : 16278-9, 2004

Preuve de concept d'un TEP orienté axialement pour l'imagerie du petit animal

E. Brard, D. Brasse

Université de Strasbourg, IPHC, 23 rue du Loess 67037 Strasbourg, France, CNRS, UMR7178, 67037 Strasbourg, France

Introduction

La tomographie par émission de positrons (TEP) est une technique d'imagerie nucléaire utilisant des noyaux radioactifs. Ceux-ci décroissent en émettant un positron qui en interagissant avec les noyaux voisins produit deux photons gammas émis à 180°. Un scanner conventionnel est constitué de modules de détection entourant le patient et orientés vers le centre du système (radialement). Ce type de tomographe fournit des informations spatiales discrétisées de l'interaction entre le gamma et le module de détection, généralement la position du cristal d'interaction. Malgré l'extension radiale du cristal, il n'y a pas d'information de la profondeur de l'interaction dans le cristal. Cette incertitude sur la profondeur d'interaction entraîne une dégradation de la résolution spatiale dans les images TEP. Plusieurs approches ont été étudiées afin d'ajouter la coordonnée radiale. Des détecteurs mesurant la profondeur d'interaction ont été proposés. Une alternative prometteuse est l'utilisation de la géométrie axiale : les modules de détection sont alors orientés de façon axiale, parallèlement au patient. Cette géométrie permet une mesure de la profondeur d'interaction (plan transverse) ainsi que de la position axiale (plan axiale) grâce au couplage de deux photo-détecteurs à chaque extrémité. Les récents développements en imagerie TEP du petit animal ont permis une mesure de l'information 3D de l'interaction à l'intérieur du module permettant de discerner ou reconstruire les événements à diffusion Compton en ne conservant que la première interaction, celle appartenant réellement à la ligne de réponse. Ceci améliore considérablement efficacité de détection et résolution spatiale et donc la qualité de l'image. Plusieurs paramètres tels que le partage de lumière, l'électronique de lecture de la charge doivent être étudiés afin d'éviter une dégradation d'image. En dehors de l'instrumentation, la qualité de l'image dépend aussi de l'algorithme de reconstruction. Afin de montrer les performances d'une telle approche une simulation dédiée ainsi qu'un algorithme adaptée à la géométrie ont été mise en place pour un système petit animal.

Matériel et Méthode

Le prototype du tomographe simulé est composé de 4 modules offrant un champ de vue transverse de 40 mm de diamètre et un champ de vue axiale de 25mm avec des cristaux de 1,5mm de section. Un algorithme de reconstruction adapté à la géométrie a été implémenté permettant de préserver la mesure continue de la position axiale. La simulation d'un fantôme composé de 12 points sources a permis d'obtenir la résolution spatiale du tomographe dans tout le champ de vue.

Résultats

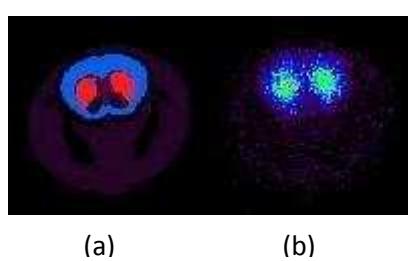


Figure 1: (a) représentation du fantôme numérique, (b) : image reconstruite.

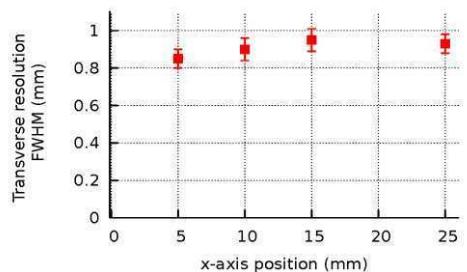


Figure 2 Résolution transverse

La figure 1 montre une coupe transverse d'un fantôme numérique de souris ainsi que l'image reconstruite à partir de 2,5 millions de coïncidences simulées. Les structures internes du cerveau de la souris sont très bien distinguées malgré un contraste de 4 :1 entre les striata et le cortex. La figure 2 indique la variation de la résolution transverse dans le champ de vue. Elle varie de $0,85 \pm 0,05$ mm à $0,98 \pm 0,06$ mm. La résolution axiale varie de $0,72 \pm 0,09$ mm à $1,03 \pm 0,08$ mm.

Conclusion

Un TEP petit animal utilisant des cristaux orientés axialement a été simulé. Nous avons montré qu'en utilisant un algorithme adapté à la géométrie, nous pouvons pleinement tirer profit des avantages de cette géométrie. La résolution spatiale volumétrique est estimée à moins de 1 mm^3 avec une efficacité de détection proche de 15%. Ces performances sont pleinement adaptées à l'imagerie de la souris et potentiellement transférable à l'homme.

**Caractérisation d'un système d'imagerie 3D bimodale associant Rayons X et Fluorescence
Suivi non invasif du développement tumoral dans les poumons**

J. Lavaud¹, A. Fertin², M. Kéramidas¹, JL. Coll^{1*}, V. Josserand^{1*}.

1 CRI-INSERM U823, Cibles diagnostiques ou thérapeutiques et vectorisation de drogues dans les cellules tumorales, Institut Albert Bonniot, Grenoble, France

2 CNRS-UJF UMR 5525, Lab. TIMC-IMAG, DyCTIM team

Université Joseph Fourier, Grenoble, France

* Co-last authors.

Contact : lavaudjonathan@gmail.com

Introduction : La définition de modèles de tumeurs pulmonaires ayant des caractéristiques morphologiques, histopathologiques et moléculaires semblables aux adénocarcinomes humains et la mise aux points de systèmes d'imagerie compatibles avec la taille des rongeurs sont des points essentiels pour la validation préclinique de nouveaux traitements, pour l'identification de nouveaux marqueurs ou encore dans la compréhension de la succession d'évènements moléculaires entraînant la formation de tumeurs pulmonaires.

Méthode : Notre équipe a développé un tomographe de fluorescence (TomoFluo) dédié au petit animal et cet instrument permet de déterminer la biodistribution d'un composé fluorescent au sein d'un organisme *in vivo* et de la modéliser en 3D. La limite de cette technique est une localisation spatiale imprécise liée à un manque de repères anatomiques. Ce manque peut être pallié par l'utilisation complémentaire de l'imagerie rayons X qui est essentiellement anatomique.

Cette étude présente la caractérisation de notre système expérimental associant la tomographie de fluorescence et l'imagerie rayons X (sensibilité, linéarité, résolution, reproductibilité) puis son utilisation pour le suivi non invasif du développement tumoral dans un modèle murin de métastases pulmonaires de cancer mammaire.

Résultats : La sensibilité, et la résolution du système ont été évaluées en imageant des souris intubées par des capillaires contenant un agent de contraste X mélangé à des concentrations décroissantes en fluorophore. Le TomoFluo a montré une sensibilité de l'ordre de la picomole et une détection de la fluorescence parfaitement linéaire entre 1 pmol et 1 µmol. La colocalisation de l'agent de contraste X et du fluorophore a montré une résolution de l'ordre du mm pour la fluorescence.

Une lignée de cancer mammaire murin exprimant la luciférase (TS/Apc-pGL3) a été injectée par voie intraveineuse chez des souris nudes aboutissant après 10 jours à l'apparition de tumeurs au niveau du parenchyme pulmonaire. Le suivi de la croissance tumorale a été réalisé 10, 12 et 14 jours après l'injection des cellules tumorales par imagerie de bioluminescence, ainsi que par notre système bimodal. Pour l'imagerie de fluorescence les souris ont été injectées par voie intraveineuse par de l'Angiostamp®, un marqueur fluorescent ciblant spécifiquement l'intégrine $\alpha_v\beta_3$ surexprimée dans les tumeurs.

L'imagerie de fluorescence a permis le suivi du développement tumoral au cours du temps et la quantification des signaux fluorescents s'est montrée en parfaite corrélation avec les mesures de bioluminescence.

Conclusion : Nous avons développé et caractérisé un système d'imagerie bimodale permettant de compiler des données morphologiques de haute résolution fournies par les rayons X et des données fonctionnelles de haute sensibilité fournies par la fluorescence 3D. Cette technologie innovante a permis de réaliser le suivi spatio-temporel non invasif du développement tumoral pulmonaire chez la souris. Cette méthodologie pourrait être utilisée pour l'évaluation de l'efficacité de chimiothérapies candidates *in vivo* sur des cohortes réduites d'animaux et à partir de stades précoce du développement tumoral.

Primate brain template image and reference atlas creation for *macaca fascicularis* voxel based PET functional analysis

N. Costes¹, L. Tremblay², V. Sgambato-Faure², M. Beaudoin², F. Lavenne¹, D. Le Bars¹, B. Ballanger²

¹CERMEP – Imagerie du vivant, Lyon, France

²CNRS U5229, Cognitive Neurosciences Centre, Lyon, France

Introduction

Neuroimaging studies are increasingly performed on non-human primates including *macaca fascicularis*. Functional imaging (e.g. positron emission tomography (PET)) studies deeply need correspondence to anatomical image for identification of brain structures, but also for quantification and modeling of ligand-receptor interactions. Moreover, voxel-based statistical parametric mapping analysis needs a reference frame (the template) to perform spatial normalization of individual brains. In this work we are introducing a specific brain template and its associated atlas, which allow accurate, robust and reproducible normalization and brain structure labeling of *macaca fascicularis* brain images.

Material and Method

Twelve animals were included for template creation. For each of them, three high resolution (0.6 mm cubic) 3D T1 MRI were acquired then averaged for contrast enhancement. The atlas was created with the MRI of one subject on which a precise and exquisite delineation and labeling of 42 volumic brain structures, including the cortex, subcortical nuclei, brain stem, white matter and cerebro-spinal fluid areas were manually performed. The MRI of that subject was chosen as the initial target target for an automatic iterative procedure of template creation with rigid-body transformations. Iterative process stopped when each parameter of the remaining coregistration of the *i*th template on the original target was inferior to 0.3 mm and 1 degree. The final template was tested for accuracy, robustness and reproducibility as follow. Accuracy was tested under visual inspection of the normalized brain on the template, with positioning inspection of the brain structures of the atlas projected on individual MRI with the reverse normalization transform. Robustness was tested by normalizing new MRI's on the template. Reproducibility was tested on four of the seven monkeys which were also submitted to PET acquisitions with various tracers ([¹¹C]raclopride, [¹⁸F]Fdopa, [¹⁸F]MPPF, [¹¹C]pe2i, and [¹¹C]DASB), with test-retest scans. Time activity curves (TAC) were extracted from manually delineated regions of interest (ROIs) and from automated delineated ROIs of the atlas on normalized data and from atlas propagated to individual MRI. Comparison of ROIs volumes, ROIs tracer distribution volumes and modeled binding parameters were established: bias, standard error and intra-class coefficient (ICC) were computed.

Résultats - Results

Figure 1 shows atlas, template and fusion on three orthogonal slices focalized on striatum. Visual inspections were in good agreement with anatomy. Robustness tests were passed with success for every individual. Reproducibility was good providing bias between methods inferior to test-retest standard error, and ICC were over 0.7.

Conclusion

A brain *macaca fascicularis* template, and a reference atlas were successfully achieved. These references are suitable for future voxel-based analyses, longitudinal and multi-tracer analyses. They are also useful for quantification, corrections like partial volume effect recovery, and for inter-individual comparisons.

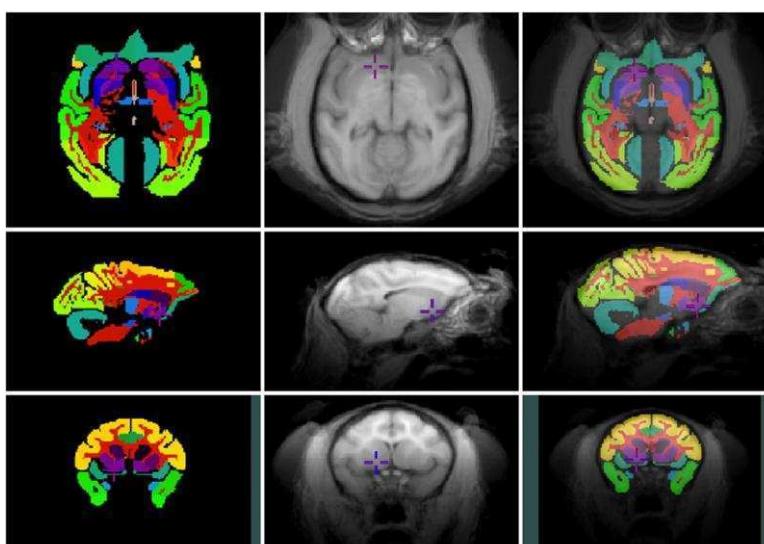


Figure 1 – *Macaca fascicularis* brain atlas (first column), MRI template (second column) and fusion (third column).

Performance evaluation of a time-of-flight PET/CT scanner with an extended field-of-view using the NEMA NU 2-2007 standard

F. Lavenne¹, A. Picard¹, J. Redouté¹, D. Le Bars¹, N. Costes¹

¹CERMEP – Imagerie du vivant, Lyon, France

Introduction

Positron emission tomography (PET) is an *in vivo* imaging technique based on the simultaneous detection of two collinear 511 keV gamma photons emitted in opposing directions. Positron emitting radionuclides are incorporated into molecules and administered to a subject. The emitted positron annihilates with an electron in the tissue, which generates the two gamma photons. Measuring the difference in arrival time of the two 511 keV photons (time-of-flight, TOF) reduces the statistical noise in PET.¹ The Biograph mCT-64 PET/CT whole-body scanner (Siemens Medical Solutions) uses LSO crystals enabling TOF. It operates exclusively in 3-dimensional acquisition mode and integrates both high definition (HD) technology and TOF measurements used in the image reconstruction process. HD is achieved by using the scanner's point spread function (PSF) in the reconstruction algorithm.²

Material and Method

In this study, we evaluate the imaging performance of a Biograph mCT, recently installed at the CERMEP imaging centre, using the NEMA NU 2-2007 standard. We also examine the effect of HD and TOF measurements on image quality.

Results

Near the center of the field of view (FOV), the transverse resolution is 4.46 mm full width half maximum (FWHM) and the axial resolution is 4.57 mm FWHM. As expected, the spatial resolution degrades as the point source is moved away from the FOV center, mainly in the axial direction. At a radial distance of 10 cm, the FWHM is increased by nearly 0.6 mm in the transverse direction and nearly 1.4 mm in the axial direction. The intrinsic scatter fraction is about 31%. The peak true count rate, measured at an activity concentration of 41.7 kBq/mL, is 661 kcps. The peak Noise Equivalent Count rate (NEC 0), measured at 28.5 kBq/mL, is 200 kcps (Fig.1). The absolute system sensitivity of the Biograph mCT for a line source was 9.3 kcps/MBq at the center of the transaxial FOV and 9.6 kcps/MBq at a radial distance of 10 cm from the center. Image quality is illustrated in Fig.2. The accuracy of the attenuation and the scatter corrections is given by the sphere-to-background activity ratios. This ratio varies from 28% (with FBP non TOF) to 64% (with a HD+TOF recon) for a 10mm sphere; whereas for a 37 mm sphere, the ratio is equal (81%) The residual error for the “lung” part of the phantom is only 8.83 % when using HD and TOF together, compared with 14.09 % with non-TOF HD (Fig. 2).

Conclusion

The mCT surpasses the performance of previous LSO based PET cameras in terms of sensitivity, NEC rate peak, and resolution when the HD algorithm is used. The improvements due to the introduction of PSF in the reconstruction process are clearly demonstrated. The effects of incorporating TOF on data quality for other organs are not specified by NEMA and have yet to be characterized.

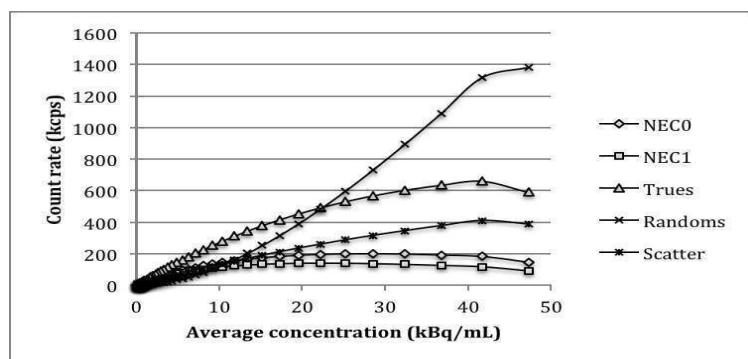


Figure 1 – Count rate performance

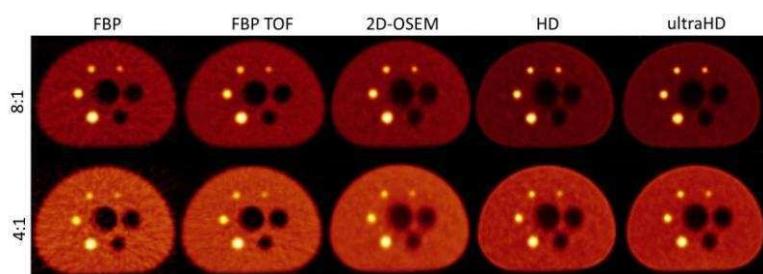


Figure 2 – Transverse sections through the center of the spheres of the 80 cm NEMA “lung” phantom. Two sphere-to-background activity ratios and various reconstruction methods are illustrated.

References

- ¹Lois, J Nucl Med 2010, ²E. Rapisarda, Phys Med Biol, 2010

Validation d'un lit multimodal permettant les acquisitions séquentielles micro-IRM et micro-TEP chez le petit animal.

JB Langlois¹, C Bouillot¹, R Bolbos¹, N Costes¹, L Zimmer^{1,2}

¹CERMÉP - Imagerie du vivant, Lyon, France

² Centre de Recherche en Neurosciences de Lyon, CNRS, INSERM, Université Lyon 1

Introduction

Nous présentons dans ce travail une approche de la multimodalité dans le but de réaliser des examens μ IRM (Imagerie par Résonance Magnétique) et μ TEP-TDM (Tomographie par Emission Positons – Tomodensitométrie) de rats, sans réveil de l'animal entre les deux modalités. En effet, aucune technique d'imagerie prise isolément n'est, à l'heure actuelle, ni suffisamment sensible, ni suffisamment spécifique pour apporter l'information diagnostique souhaitée par les investigateurs. L'apport de la multimodalité permet d'améliorer cette information. L'objectif de ce travail a été de mettre au point un lit multimodal pouvant être déplacé séquentiellement d'un imageur à l'autre sans réveil de l'animal. Ce dispositif permettra un recalage et une fusion optimale des images obtenues dans les deux modalités.

Matériel et Méthode

Adaptation du lit. Après avoir évalué différentes options (fabrication d'un support en plexiglass ou utilisation d'un modèle commercialisé) notre choix s'est porté sur un modèle de lit commercialisé (Bruker) dédié aux acquisitions μ IRM sur le rat. Ce lit présente l'avantage d'être adapté aux acquisitions cérébrales, comprenant un masque d'anesthésie équipé de barre d'oreilles et barre de dents et d'un système de thermorégulation par circulation d'eau intégré pour maintenir la température pendant l'examen. Il présente également l'avantage d'avoir un encombrement restreint permettant de l'utiliser aussi bien dans l'appareil μ IRM (Bruker BioSpec 7T) que dans la μ TEP-TDM (Siemens Inveon). Nous avons procédé à plusieurs adaptations : au niveau de la longueur du support, en le raccourcissant afin de permettre son introduction au niveau du scanner de la μ TEP-TDM ; par la mise en place de tubulures plug-in permettant un branchement rapide de l'anesthésie entre les deux modalités.

Protocole standard d'examen IRM-TEP. Six rats ont été utilisés dans cette expérience. Après une induction par anesthésie gazeuse à l'isoflurane, un cathéter est placé dans la veine caudale pour l'injection du radiotraceur TEP. Chaque rat, positionné dans le lit multimodal, est passé en μ IRM (temps d'examen moyen de 20 min), puis transféré en μ TEP avec une interruption d'anesthésie de moins de 30 secondes (les deux caméras étant distantes de moins de 10m). L'examen μ TEP-TDM débute par une acquisition Scanner X (TDM, 15 min) suivi d'une acquisition μ TEP de 10 min. Le rat est sorti du lit multimodal et une deuxième acquisition μ TEP-TDM est réalisée sur le lit du constructeur.

Traitements. Pour évaluer l'intérêt du lit multimodal nous avons comparé les performances de deux méthodes de recalage IRM-TEP, effectuées avec et sans le lit : 1) recalage direct semi automatique des images TEP (fonctionnelles) avec les images IRM (anatomiques) en l'absence de repères communs, 2) recalage manuel indirect à l'aide du TDM (anatomiques), sur les images d'IRM (logiciel IRW Inveon Research Workplace). Les mesures physiques de l'activité TEP sont réalisées à partir de régions dessinées sur les IRM et positionnées sur la TEP à l'aide des différents recalages.

Résultats

La variabilité des mesures effectuées avec ou sans le lit multimodal montre le gain en précision de notre dispositif et permet de choisir la meilleure méthode de recalage.

Conclusion

Les résultats obtenus confirment l'intérêt d'un lit commun pour l'imagerie *in vivo* avec une possibilité d'acquisition IRM puis TEP-TDM, sans modifier le placement du rongeur sur son support. Cette amélioration expérimentale complète les autres d'outils de recalage multimodal tel que l'atlas numérique pour le cerveau de rongeur.

Un banc expérimental complet en IRM pour caractériser la dynamique de l'écoulement aortique.

M. Khalifé¹, D. Rodríguez¹, L. de Rochefort¹, E. Durand¹

¹IR4M, Université Paris-Sud XI - CNRS (UMR8081), Orsay, France.

Introduction

La dynamique du l'écoulement aortique aide au diagnostic des maladies cardiovasculaires. L'IRM permet le codage multidirectionnel de la vitesse et de l'accélération [1] de l'écoulement afin d'en extraire des paramètres liés à la pression et la rigidité artérielle. Dans ce travail, nous présentons un banc expérimental compatible IRM qui reproduit les conditions physiologiques de la circulation sanguine dans un modèle d'aorte élastique, tout en permettant des mesures de pression simultanées. Les cartes de vitesse et d'accélération et la compliance de la paroi aortique sont obtenues dans le but d'établir une caractérisation poussée de l'écoulement sanguin.

Matériel et Méthodes

Le banc expérimental est constitué d'un circuit fermé reproduisant la circulation cardiaque. Une pompe CardioFlow 5000MR (Shelley Automation, Canada) est connectée à un modèle d'aorte en silicium (Elastrat, Suisse). Elle produit un débit similaire au débit à la sortie du ventricule gauche. Le liquide employé dans le circuit a les mêmes propriétés physiques et magnétiques que le sang. Les expériences sont menées sur un imageur Philips Achieva 1.5T (Philips, les Pays-Bas). La séquence écho de gradient a été modifiée afin de permettre le codage de la vitesse et de l'accélération en contraste de phase (CP) sur un axe arbitraire [2]. Des capteurs de pression optiques compatibles IRM (Opsens, Canada) sont introduits dans l'aorte pour des mesures de pression simultanées. De plus, la vitesse de l'onde de pouls (VOP) est calculée sur les profils de vitesse à travers le plan acquis sur une coupe sélectionnée. La VOP est estimée par le rapport de la distance entre les sites de mesure et le délai entre les ondes : $VOP = \Delta t / \Delta t$. La compliance aortique est obtenue par la relation : $C = A / (\rho \cdot VOP^2)$, A étant l'aire de la section de l'aorte et ρ la densité du fluide. La VOP et la compliance sont également estimées sur les ondes de pression mesurées pour la comparaison avec les mesures non-invasives.

Résultats

Les cartes de vitesse et d'accélération 3D sur une coupe coronale en début de systole montrent une vitesse élevée dans la branche ascendante et une accélération élevée allant dans le sens de la crosse aortique. Elles sont en bon accord qualitatif avec les cartes acquises *in vivo* présentées dans la littérature [3].

Par ailleurs, la VOP et la compliance calculées à partir des ondes de vitesse ($VOP = 4.21 [\pm 0.95] \text{ m/s}$, $C = 0.062 [\pm 0.026] \text{ cm}^2/\text{mmHg}$) et des ondes de pression ($VOP = 4.32 [\pm 0.66] \text{ m/s}$, $C = 0.055 [\pm 0.018] \text{ cm}^2/\text{mmHg}$) montrent une bonne correspondance entre elles, avec les mesures de référence et avec les valeurs présentées dans la littérature : $VOP = 3-6 \text{ m/s}$, $C = 0.03-0.1 \text{ cm}^2/\text{mmHg}$ [4].

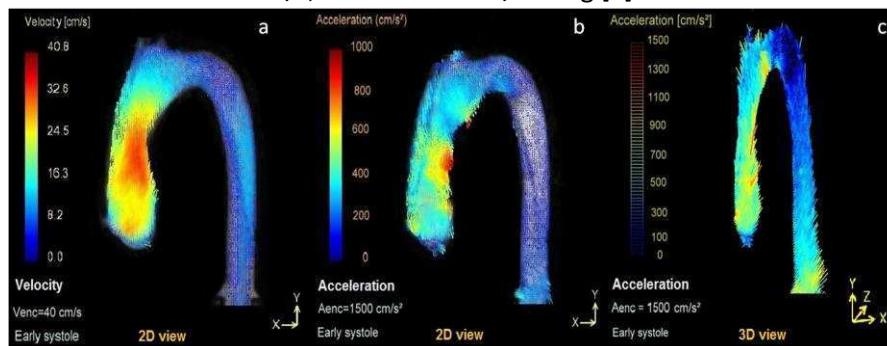


Fig. 1 : (a)Carte de vitesse, (b et c) cartes d'accélération acquises sur le modèle d'aorte en début de systole

Conclusion

Nous avons présenté un banc expérimental qui permet de caractériser le flux sanguin aortique en IRM. Le modèle d'aorte et le circuit de liquide offre une bonne reproduction des conditions physiologiques et peuvent être utilisés pour le développement de nouvelles techniques d'IRM pour la caractérisation du flux. En couplant les paramètres d'élasticité, la vitesse et l'accélération avec un modèle numérique, la perspective de ce travail serait de parvenir à mesurer en IRM la pression de manière non-invasive.

Références

- [1] J. Bittoun *et al.*, Magnetic Resonance in Medicine, 44:723-730, 2000.
- [2] J-P. Tasu *et al.*, Magnetic Resonance in Medicine, 38:110-116, 1997.
- [3] A. Baker *et al.*, Magnetic Resonance in Medicine, 67:50-61, 2012.
- [4] S. Urchuk *et al.*, Magnetic Resonance in Medicine, 38:215-223, 1997.

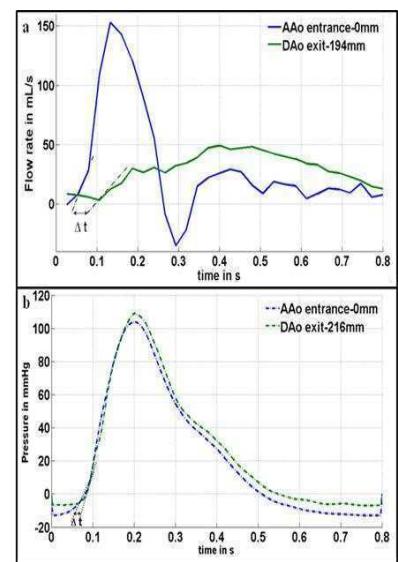


Fig. 2 : Le délai Δt estimé (a) sur les profiles de vitesse acquis en IRM et (b) sur les ondes de pression mesurées.

Time-resolved NIR DOT for preterm infants brain imaging: Depth sensitivity evaluation for different probe geometries

A. Planat-Chrétien¹, A. Puszka¹, L. Hervé¹, M. Berger¹, A. Koenig¹, J. Dinten¹

¹CEA-LETI, 17 av des Martyrs, 38009 Grenoble Cedex, France

Introduction

The routine transfontanellar ultrasound exam of very preterm infants aims at detecting hemorrhages and anoxic-ischemic injuries and in particular white matter lesions. While hemorrhages are no longer a deal for US imaging, white matter lesions remain difficult to address since the periventricular zone may have a normal hyper echogenicity answer hard to differ from the pathological echogenicity increase. Thus there is a need for a bedside non invasive method to access the cerebral metabolism in an intensive care unit that could provide such information safely and continuously specially between the 7th and the 15th days of the infants. With the assumption that these cerebral injuries induce local variations on optical parameters, we explore the use of near infrared light to obtain information on local evolution on chromophores concentration (μ_a) and local tissue organization (μ_s'). Aiming at maximizing depth sensitivity to absorption and reduced scattering, we focus on time-resolved approaches. Now we propose a new method [1] based on the Mellin-Laplace (ML) transform to allow reconstruction based on time-windows of the time-resolved measurements. We have associated this new DOT method to two experimental set-ups in order to address (1) a helmet or headband geometry-like probe and (2) a handheld probe. The depth sensitivity of the two approaches has been characterized.

Material and Method

We have evaluated the limits in depth of the ML-DOT method with respect to signal dynamics by simulations on both geometries (1-2).The results were used to design two experimental benches to address the deep endogenous reconstruction problematic: In (1), the system is composed of a Femtosecond Ti-Sapphire Laser 80 MHz coupled with an HRI (High Rate Intensified camera) so that a large number of detection fibres can be measured at the same time: 6 excitation fibres and 7 detection fibres are used at the moment. The geometry of the probe is cylindrical to mimic the helmet or headband geometries. In (2), the system uses the same laser source (2 excitations fibers) coupled with 2 detection fibres connected to photomultipliers and a TCSPC board. The geometry of the probe is smaller and plane so that the conclusions obtained on this geometry can be used to design handled probes. For both systems, the acquisition protocol consists in two measurements performed (i) on the medium to be characterized (ii) on a reference medium for which optical parameters are perfectly known.

Results and conclusion

We apply the new ML-DOT method to real measurements acquired on our two systems and discuss advantages and drawbacks of each system. The results obtained on both experimental benches show the interest and relevance of optical contrast imaging for brain studies ([2]). We explore three main contributions to the depth sensitivity (i) the probe geometry itself, (ii) the optimisation of the acquisition protocol to obtain a relevant SNR on late photons, (iii) endogenous parameters given by the medium itself (background medium optical parameters, perturbation contrast, and heterogeneity of the medium). To push these promising results towards clinical application, we are now investigating the benefits of an instrumentation evolution to deal with wider dynamic range (1) with the use of variable optical attenuator to optimize signal dynamics and acquisition times or (2) with the implementation of a an acquisition protocol with the use of fast-gated SPADs [3] allowing a wider dynamic range leading to better signal to noise ratio on late photons.

References

1. L. Hervé and al. Applied Optics, 51:5978-5988, 2012.
2. A. Puszka and al. Biomedical Optics (BIOMED), Miami, Florida, April 28, 2012.
3. A. Tosi and al. Optics Express Vol. 19, No. 11 (2011)

L'imagerie biphotonique intravitaire pulmonaire révèle de nouvelles connections cellulaires dans la muqueuse soumise à une infection.

D. Fiole^{1,2}, P. Deman¹, J. Douady², J.-N. Tournier^{1,3}

¹ Unité interactions hôte-agents pathogènes, Institut de Recherche Biomédicale des Armées, La Tronche, France

² Laboratoire Interdisciplinaire de Physique UMR 5588, Université Grenoble 1 / CNRS, Grenoble, France

³ Ecole du Val-de-Grâce, Paris, France

Introduction

Les infections par voie pulmonaire constituent un problème de santé majeur, alors que les méthodes d'exploration en imagerie sont limitées par l'instabilité d'un organe dont l'activité physiologique impose un perpétuel mouvement à l'ensemble de la cage thoracique. Le thorax reste donc une boîte noire inaccessible à l'examen dynamique. Nous avons surmonté cette difficulté par la mise au point d'une méthode de post traitement permettant de s'affranchir des perturbations sur l'imagerie tout en conservant la ventilation inhérente au maintien de la physiologie du poumon. Cette méthode *in vivo* est associée à des expérimentations *in situ* qui permettent de sonder la dynamique immunitaire des couches profondes du parenchyme pulmonaire. Elle a été appliquée à l'étude de l'infection pulmonaire de souris par des spores de *Bacillus anthracis*, agent infectieux responsable de la maladie du charbon (en anglais *anthrax*).

Matériel et Méthode

Des spores de *B. anthracis* couplées à un fluorochrome sont injectées à des souris CX3CR1^{+/gfp} dont les cellules dendritiques (DC) expriment constitutivement la protéine de fluorescence verte (GFP).

Pour l'analyse *in vivo*, le poumon de la souris anesthésiée et ventilée est exposé à l'objectif du microscope qui balaye une zone de l'organe sous l'effet de la ventilation. Les séries temporelles acquises sont triées et realignées sur un critère de maximisation du signal de second harmonique du collagène alvéolaire utilisé comme référence, permettant de reconstruire la dynamique cellulaire d'une région du poumon durant plusieurs dizaines de minutes.

L'imagerie *in situ* optimisée pour 4 couleurs (DC-GFP, macrophages-Rhodamine B, spores-Alexa 633 et collagène alvéolaire en génération de seconde harmonique) est effectuée sur des explants de poumons maintenus dans des conditions favorables (température) au maintien de la dynamique cellulaire.

Résultats

Contrairement à nos hypothèses, le sous-type de cellules dendritiques (CD11b-DCs) présent dans l'espace sous-pleural *in vivo* ne capture pas directement les spores. Par contre, nous avons observé des contacts dynamiques entre les CD11c-DCs et des phagocytes. Nous avons alors pratiqué des expérimentations *in situ* afin de caractériser le type de phagocyte incriminé. L'analyse *in situ* a montré que les macrophages alvéolaires, marqués spécifiquement par instillation de dextran-rhodamine B, sont les premières cellules à capturer des spores avant d'interagir avec des CD11b-DCs GFP⁺.

Le rôle fonctionnel de ces contacts reste à déterminer, mais les résultats obtenus apportent un nouvel éclairage sur le fonctionnement du système immunitaire soumis à une infection pulmonaire.

Conclusions

Ces résultats issus du développement d'une nouvelle méthode d'imagerie biphotonique pulmonaire sur petit animal anesthésié et ventilé dévoilent pour la première fois une possible coopération entre macrophages alvéolaires et CD11b-DCs et pourraient affiner notre connaissance du comportement du système immunitaire pulmonaire soumis à une infection.

Suivi de la maturation cérébrale du rat nouveau-né *in vivo* par imagerie Q-Ball

Dupont D, Po C, Sebrié C, Gillet B

I4RM UMR 8081 Université Paris Sud 11

Introduction

L'étude par fiber tracking des voies neuronales durant le développement est un outil performant pour comprendre la formation des connections cérébrales. Dans un premier temps le DTI a été utilisé afin de réaliser ce genre d'étude [1], puis considérant les limitations en termes de croisement de fibres, des techniques reposant sur le Q-space (DSI, QBI) ont été mises en œuvre. L'augmentation des temps d'acquisition ainsi que des valeurs de B nécessaires pour ce genre de techniques a limité leur utilisation à l'imagerie de cerveaux fixés [2]. Nous présentons ici une méthode d'acquisition et de traitement des données d'imagerie Q-ball (QBI) reposant sur des temps d'acquisition courts. Cette méthode est compatible avec l'étude *in vivo* de la maturation cérébrale par QBI d'un nombre important d'animaux, à des intervalles courts et sur une longue période la rendant attractive pour des études en cohorte.

Matériel et Méthode

Un rat wistar a été imposé à 7, 14, 21 et 28 jours sous anesthésie gazeuse (isoflurane air/O₂ 80/20).

Acquisitions d'images pondérées en diffusion selon 126 directions selon une demi sphère avec une séquence DWI-EPI segmenté: TR=3500ms ; TE=24ms ; FOV=32*32mm ; matrice= 128*128; valeur de B=2000 s/mm² ; nombre de segments=4 ; 20 coupes de 0.5mm. Images acquises à 7 Teslas avec des gradients d'intensité maximale de 364mT/m, l'excitation et la réception sont effectués par un couple d'antennes en quadrature activement découplées. La fluctuation des images, due à l'utilisation de fortes intensités de gradients et aux basculements rapides nécessaires à l'acquisition des images, est corrigée en utilisant la suite d'outils FSL (FMRIB Software Library v4.0). Les données sont ensuite traitées à l'aide du logiciel DSI STUDIO (dsi-studio.labsolver.org). Le fiber tracking est réalisé en sélectionnant des régions d'intérêt situées au niveau de diverses structures de la matière blanche : corpus callosum, fornix, capsule interne. Les paramètres pour le fiber tracking sont : angle maximum=30° ; longueur minimum = 5mm ; nombre d'itérations (seeds)=20000.

Résultats

Les différents ensembles de fibres calculés par fiber tracking nous ont permis de mettre en évidence la maturation cérébrale du rat nouveau-né. Leur morphologie ainsi que la longueur des fibres que les composent évoluent entre les différents temps d'étude. (Figure 1)

Conclusion

Notre méthode d'acquisition et de traitement d'images Q-ball s'avère efficace pour l'évaluation de la maturation des connections cérébrales du rat pendant son développement.

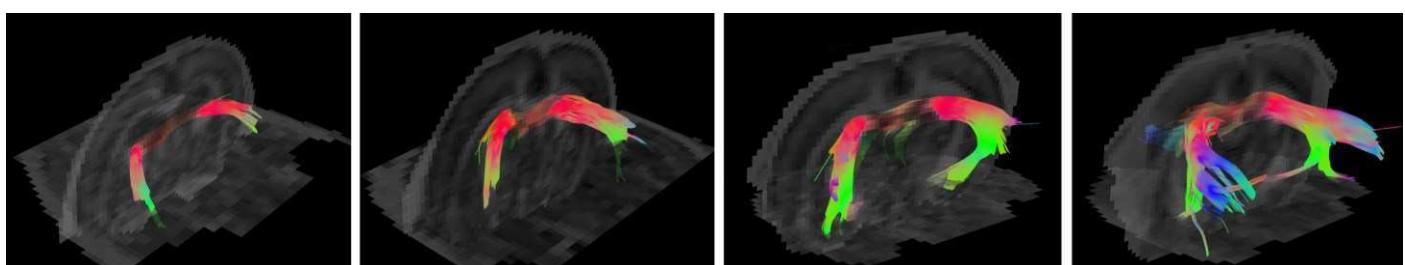


Figure 1 : Résultats de fiber tracking présentant l'évolution du Fornix chez le rat nouveau-né : 7, 14, 21 et 28 jours après la naissance.

Références

1. D'Arceuil et al. Developmental science, 262-275 2008
2. Takahashi et al. Neuroimage, 1231-1240 2010

Metabolic profiling of RG2 glioma using *in vivo* ^1H MRS and *ex vivo* HRMAS ^1H MRS

V Stupar^{1,2}, N Coquery^{2,3}, R Farion^{1,2}, S Maunoir-Regimbal⁴, E Barbier^{2,3}, C Remy^{2,3}, F Fauvette⁴

¹ Grenoble MRI Facility IRMaGe, Grenoble

² U836, INSERM, Grenoble

³ Université Joseph Fourier, Grenoble

⁴ IRBA antenne CRSSA, La Tronche

Introduction

In vivo ^1H MRS provides metabolic information regarding tumour growth and response to treatment. A wider range of metabolites can be obtained *ex vivo* in biopsies using ^1H HRMAS MRS. The aim of the study was to assess the ability of both approaches to discriminate tumour from normal tissue using multivariate pattern recognition methods in a rat glioma model.

Material and Method

Fischer rats ($n=7$) were orthotopically implanted with RG2 glioma cells at day 0. *In vivo* ^1H MRS was performed at day 14. At day 15, the tumour bulk and the contralateral striatum were rapidly isolated and frozen. *In-vivo* ^1H MRS was performed at 7 Tesla. Tumour and contralateral spectra were acquired in a $3 \times 3 \times 3 \text{ mm}^3$ voxel with a PRESS sequence (TE/TR=20/2500 ms, tAcq 17min). HRMAS ^1H MRS was performed at 9.4 Tesla, 4°C within 16 min using a CPMG pulse sequence [1]. The signals were processed using the “subtract-QUEST” algorithm [2] of the jMRUI-software. Simulated spectra of 20 metabolites were included in the basis set for HRMAS MRS and 10 metabolites for MRS. The total spectrum intensity was used for normalization.

Quantified data were loaded in the SIMCA-P software (Umetrics, Sweden) as variables and scaled to unit variance before Projection to Latent Structure-Discriminant Analysis (PLS-DA) [3]. Cross-validation led to a quality factor R2Y and a predictive factor Q2. A good Q2 (>0.5) allows the model to be used for prediction. The results were visualized by plotting the first two principal components of the analysis against each other.

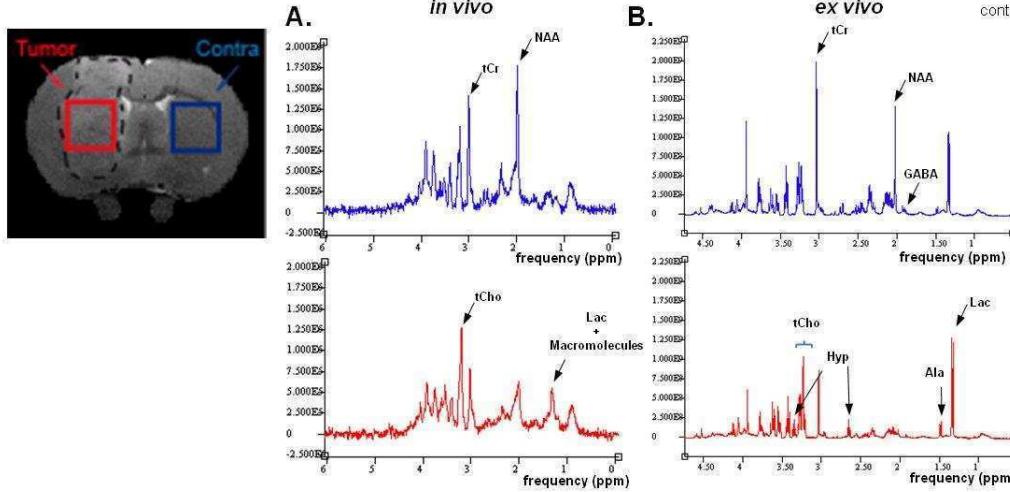
Results

In vivo and *ex vivo* spectra gave similar results in tumour with an increase of total Choline compounds (tCho) and a decrease of NAA, total Creatine compounds (tCr) (Fig. 1). HRMAS MRS provided additional information in tumour metabolism: an increase of Alanine and Glycine, a decrease of GABA, the identification of choline components (Cho, PC, GPC) and the emergence of Hypotaurine. Both analyses yielded robust statistical models with a clear separation between tumour and contralateral striatum (Fig. 2).

Figure1: T2W image with depict ROIs ($3 \times 3 \times 3 \text{ mm}^3$ voxel). Dotted line show tumor bulk

Figure2: Representative ^1H spectra obtained with (A) single voxel MRS and (B) HRMAS MRS. Tumor spectra are shown in red and contralateral spectra are shown in blue.

Figure3: Score plot of PLS-DA analysis based on (A) 10 metabolites for single voxel MRS or (B) 20 metabolites for HRMAS MRS. Tumor samples are represented in red and contralateral samples in blue.



Conclusion

Quantification with jMRUI is reliable since metabolic profiles from contralateral striatum are well grouped. The PLS-DA models are robust despite inter-individual variability and highly predictive (high Q2 values). Further studies are needed to validate this approach for evaluation of treatment efficiency of glioma in preclinical research.

Références – References

1. Wieruszewski et al., *JMR*, 152 : 95-102, 2001
2. Ratiney et al., *NMR biomed.*, 18 : 1-13, 2005....
3. Holmes et al., *NeuroRx*, 3 : 358-372, 2006

Acoustic shielding to avoid unwanted prefocal energy deposition during transcostal HIFU liver ablation

Rares Salomir^{1,2,3}, Lorena Petrusca¹, Vincent Auboironx¹, Arnaud Muller⁴, Maria-Isabel Vargas², Denis R. Morel⁵, Thomas Goget¹, Romain Breguet², Sylvain Terraz², Jerry Hopple⁶, Xavier Montet², Christoph D. Becker², Magalie Viallon^{2,4}

¹Faculty of Medicine, University of Geneva, Geneva, Switzerland; ²Department of Radiology, University Hospitals of Geneva, Geneva, Switzerland; ³Inserm, ADR 05 Rhône Alpes, Lyon, F-69003, France, ⁴CREATIS, Université de Lyon, Lyon, France;

⁵Department of Anesthesiology, University Hospitals of Geneva, Geneva, Switzerland; ⁶Siemens Therapeutic Ultrasound, Issaquah, WA.

Introduction

The treatment of liver cancer is a major public health issue as the liver is a frequent site for both primary and secondary tumors. Ribs heating during liver MRgHIFU represents a major obstacle for the application of this technology into a clinical tool. The aim of the study was to investigate the possibility to avoid unwanted pre-focal energy deposition inside or around acoustic obstacles in the pathway of the HIFU beam.

Material and Method

In vitro and *in vivo* (4 female sheep) experiments were performed for this study. MRgHIFU sonications were obtained using a randomized 256 element phased array transducer ($f \sim 1\text{MHz}$) and a 3T whole body clinical MR scanner. A physical mask is inserted in the pre-focal beam pathway to block the energy normally targeted on the ribs, the alignment of the protectors with the conic projections of the ribs being required and achieved using the embedded graphical tools of the MR scanner. Multi-planar real time MR thermometry (PRFS method) enables to visualize of the local temperature increase at the focal point and close to the ribs simultaneously, determining the efficacy of the proposed solution.

Results

The heat deposition was largely diminished at the ribs surface for both *in vitro* and *in vivo* experiments. The maximum temperature elevation at those locations was reduced by a factor of 4 while the spatial volume of thermal dose above the lethal threshold was diminished by several orders of magnitude. Therefore, hepatic parenchyma was safely ablated using this ribs sparing strategy. The illustrated case (Figure 1) shows the difference between a protected rib (**a,b**) and an unprotected rib (**c,d**), with identical sonication parameters.

Conclusion

A readily available, MR compatible, effective and cost competitive method for ribs protection in trans-costal MRgHIFU was validated in this study.

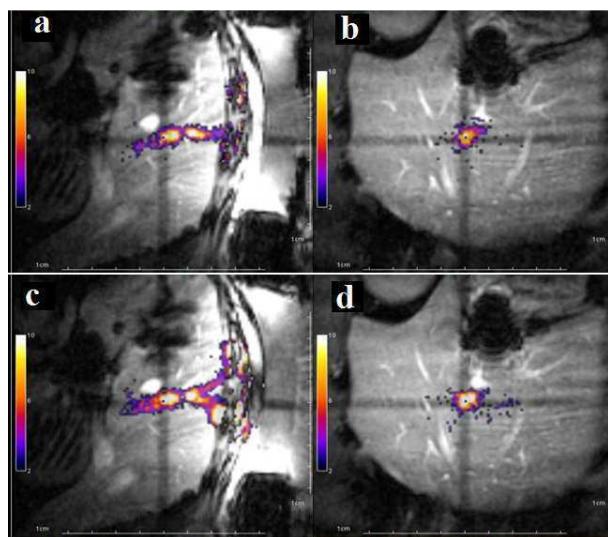


Figure 1. *In vivo* temperature maps in 2 orthogonal planes corresponding to a low dose experiment (no lethal dose) are shown at the end of the HIFU sonication when the protectors are in place (**a,b**) and removed (**c,d**) without moving the animal.

Références – References

1. Jung et al. Abdominal Imaging 36: 185-195, 2011
2. Botros et al, IEEE Trans Biomed Eng. 44:1039-1050, 1997
3. Civale et all. Ultrasound Med Biol 32:1753-1761, 2006
4. Quesson et al. Med. Phys 37:2533-2540, 2010.

Test-retest reliability of [¹¹C]Flumazenil data acquired using the Delforge partial saturation method

S. Bouvard^{1,2}, N. Costes², F. Bonnefoi², F. Lavenne², F. Mauguière³, P. Ryvlin¹, A. Hammers³

¹Translational and Integrative Group in Epilepsy Research, Lyon Neuroscience Research Center, Lyon, France

²CERMEP-Imagerie du vivant, Lyon, France

³Neurodis Foundation, Lyon, France

Introduction : [¹¹C]flumazenil (FMZ) PET images GABA_A receptors. Various methods of data analysis are used in the literature, including simple summed radioactivity images (SRI) and parametric images, obtained via compartmental modelling with or without an arterial input function, or via spectral analysis. The Delforge partial saturation method (1997) has been used extensively but no test-retest data on the reliability of the various possible output images has been available.

Material and Method : Ten healthy controls (22-47 years) were studied twice at one-week intervals. All had high resolution 1.5T MRI. After injection of a mixture of [¹¹C]FMZ unlabeled FMZ, 3D data were acquired on a Siemens/CTI ECAT HR+ over 55 minutes, corrected for attenuation and scatter, and rebinned into 12 time frames. SRIs were created over two published time intervals (10-20 minutes, SRI-10-20, and SRI-20-45). Both were also expressed as standardized uptake values (SUV; SUV-10-20; SUV-20-45). The partial saturation model, based on a Scatchard plot, was used for the calculation of parametric Bmax images, with pons as a reference and with Kd either variable per voxel (BmaxKdvar) or using the same Kd throughout (BmaxKdfix).

83 regions were sampled with a frequency-based brain atlas (Hammers et al., 2003) warped onto each individual's MRI scan using Statistical Parametric Mapping software (SPM5), thresholded at 50% grey matter probability, and then coregistered onto each individual PET. Image quality was assessed visually. Average percentage test-retest differences were calculated as the standard deviation of (test-retest)/mean (test+retest) for all grey matter containing regions except pallidum and those under ten times scanner resolution ($\sim 4.1^3 \text{ mm}^3$). Reliability was assessed per region via the intraclass correlation coefficient (ICC).

Results : Image quality was good for all types. The rank order of % test-retest differences (absolute values) was SUV-20-45>SRI-20-45>BmaxKdvar>SRI-10-20>SUV-10-20>BmaxKdfix (Table; top ranking types highlighted). The rank order of ICCs was similar (see Table).

Image type	ICC		Average % test-retest	
	Mean of regional ICCs \pm SD	Range	Mean of values per region \pm SD	Range
SRI-10-20	0.54 \pm 0.09	0.26-0.70	13.9 \pm 2.9 %	11-33 %
SUV-10-20	0.49 \pm 0.11	0.18-0.63	15.6 \pm 3.0 %	13-35 %
SRI-20-45	0.73\pm0.08	0.42-0.84	10.5\pm2.8 %	7-25 %
SUV-20-45	0.77\pm0.07	0.56-0.89	9.5\pm2.7 %	6-22 %
BmaxKdvar	0.30 \pm 0.22	-0.27-0.72	11.8 \pm 4.7 %	7-37 %
BmaxKdfix	0.04 \pm 0.17	-0.33-0.49	16.1 \pm 2.5 %	13-28 %

Conclusion : Considering left and right regions separately and including some regions with low binding (e.g. basal ganglia) may explain somewhat worse values than in other test-retest studies. Bmax is in theory an attractive parameter to quantify, being directly related to receptor concentration. However, in our hands Bmax parametric maps had relatively high test-retest variability and low reliability, with hardly any regions achieving ICCs considered as good, i.e. >0.70 . We did, however, not test the reliability of measures of Bmax derived directly from less noisy time-activity curves at the ROI level. SRI and SUV images obtained between 20 and 45 minutes post injection performed best, with good ICCs despite relatively high average test-retest variability ($\sim 10\%$). SRI-10-20 and SUV-10-20 images had intermediate values, unlikely to be sufficient for most studies (compare e.g. Hammers et al. 2008).

References

1. Delforge et al. J Cereb Blood Flow Metab., 17(3):343-355, 1997
2. Hammers et al. Hum Brain Mapp, 19(4):224-247, 2003
3. Hammers et al. J Cereb Blood Flow Metab., 28(1):207-216, 2008

Intérêt de la prise en compte des inhomogénéités de B_1 sur le foie à 3.0 T pour l'estimation des temps de relaxation T_1 à partir de séquences FLASH multi-angles

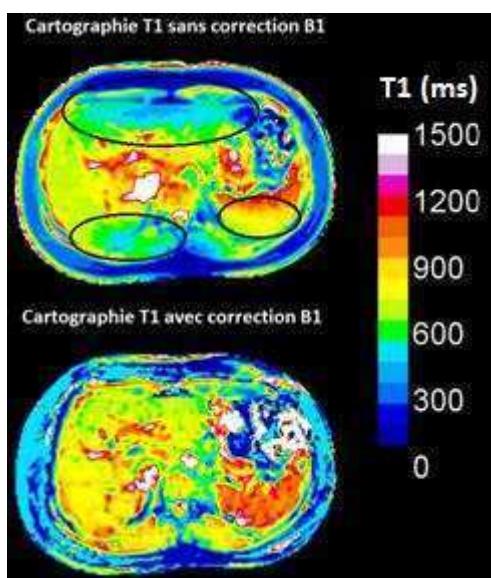
B.Leporq¹, H.Saint-Jalme^{2,3}, F.Pilleul^{1,4,5} et O.Beuf¹

¹Université de Lyon; CREATIS; CNRS UMR 5220; Inserm U1044; INSA-Lyon; Université Lyon 1; Villeurbanne, France ; ²LTSI; Inserm U1099; Université Rennes 1, Rennes, France ; ³CRLCC; Centre Eugène Marquis, Rennes, France ; ⁴Hospices Civils de Lyon; Département d'imagerie digestive; CHU Edouard Herriot; Lyon, France ; ⁵Centre Léon Bérard – Centre de lutte contre le Cancer; Lyon, France

Introduction: En imagerie hépatique, de nombreux travaux ont utilisés la mesure du T_1 pour étudier les variations en fonction d'une pathologie. Des méthodes d'imagerie fonctionnelle hépatique comme l'imagerie de perfusion dynamique avec injection d'agent de contraste ou bien certaines méthodes de quantification de la graisse peuvent nécessiter une mesure préalable des temps de relaxation T_1 . Les séquences spin-écho dédiées à la mesure du T_1 sont difficilement utilisables sur le foie en raison de leur incompatibilité avec l'apnée. Pour ces raisons, les séquences de type FLASH multi-angles, sont attractives. Néanmoins, ces dernières sont sensibles aux inhomogénéités du champ radiofréquence B_1 qui sont notables en particulier sur le foie à 3.0T. L'objectif de ce travail est de proposer une méthode de correction des inhomogénéités B_1 , compatible avec les contraintes de l'imagerie hépatique pour la mesure des temps de relaxation T_1 à partir de séquences FLASH multi-angles.

Méthode: Cette méthode reprend celle de Balezeau *et al.*(1) mais la séquence de type FLASH utilisée par ces auteurs a été substituée par une séquence d'écho de gradient EPI segmentée pour permettre l'apnée. Afin d'obtenir une pondération uniquement dépendante de l'angle, un TR long (3000 ms) et un TE court (5 ms) ont été utilisés avec les paramètres suivants : 15 coupes axiales de 10 mm ; matrice de 128^2 ; FOV de 410^2 mm 2 . Une acquisition avec un angle de bascule à 90° a été utilisée comme référence, valeur pour laquelle une erreur de l'angle sur l'intensité du signal est minimisée. Puis l'acquisition a été répétée avec d'autres angles de bascule (α) afin de réaliser une cartographie selon: $\alpha = \sin^{-1}(\frac{S_\alpha}{S_{90}})$. La mesure du T_1 était réalisée à partir d'acquisition utilisant une séquence de type FLASH 2D multi-angles (5, 15, 30 et 45°) avec un TR fixe de 100 ms. La validation était réalisée sur 14 volontaires sains, sans présence de graisse intra-hépatique. Des cartographies T_1 ont été réalisées à partir des cartographies d'angles de bascule mesurés puis à partir des valeurs d'angles prescrites. Sur chaque cartographie, le foie a été segmenté manuellement pour mesurer le T_1 moyen, l'angle moyen ainsi que les écart-type respectifs afin de calculer le coefficient de variation intra-individu.

Résultats: Les valeurs moyennes (sur tous les sujets) des angles mesurés dans le foie sont respectivement $5,2 \pm 0,2^\circ$; $15,1 \pm 0,5^\circ$; $30,3 \pm 1,5^\circ$ et $44,5 \pm 1,6^\circ$ pour des valeurs prescrites à 5, 15, 30 et 45° . Les coefficients de variations moyens associés sont respectivement $13,3 \pm 2,2\%$; $13,5 \pm 5,2\%$; $16,3 \pm 7,4\%$ et $14,9 \pm 5,2\%$. Concernant les valeurs de T_1 , les erreurs relatives intra-individu obtenues à partir des mesures de T_1 réalisées avec et sans correction sont comprises entre 1,1 et 21,8 % (moyenne: 7,4 %). Les valeurs moyennes de T_1 mesurées sur le foie sans et avec correction B_1 sont proches avec respectivement 728 ± 70 ms et 725 ± 75 ms. Le coefficient de variation moyen intra-individu, associé à la mesure du T_1 sur le foie, diminue lorsque les cartographies de B_1 sont prises en compte ($17,1 \pm 4,6\%$ contre $22,3 \pm 3,5\%$).



Discussion: Les inhomogénéités du champ magnétique radiofréquence B_1 sont présentes sur le foie à 3.0T (cf.Fig) comme l'illustre les valeurs non négligeables des coefficients de variation mesurées sur les cartographies d'angle (entre 13 et 16 %). Néanmoins, l'effet est en moyenne compensé spatialement comme en témoigne les similitudes entre les moyennes mesurées sur les cartographies d'angle et les valeurs prescrites. Malgré cela, les inhomogénéités du champ B_1 peuvent engendrer une erreur non négligeable sur la mesure du T_1 , comme l'indique les erreurs relatives intra-individus observées avec et sans correction. Avec correction B_1 , les valeurs des coefficients de variations associées à la mesure du T_1 diminuent, indiquant l'intérêt de la correction. Cette méthode simple et compatible avec les contraintes liées à l'imagerie hépatique permet de corriger les effets des inhomogénéités B_1 et permettrait d'augmenter la précision de la mesure de T_1 réalisée avec une séquence multi-angle, notamment lorsque cette mesure est locale.

Reference : [1] Balezeau *et al.* Phys Med Biol. 2011;56:6635-6647.

Evaluation of EM simulations of RF heating using thermal simulations

M. Bouldi¹, J. Warnking¹

¹ Grenoble Institut des Neurosciences , U836, UJF, Grenoble, France

Introduction

Understanding the risks of overheating due to the presence of active implants requires a rigorous simulation of experimental conditions. As a first step towards such simulations, we sought to build and validate a model of the whole-body transmit coil in a Philips Achieva TX system. The model was tuned to set the resonance near the Larmor frequency of protons at 3T. To validate the model, we compared simulated and measured local variations of temperature during RF heating.

Material and Methods

Experimental set-up : A phantom, previously built according to ASTM F2182-09 [1], was filled with a medium consisting of sodium chloride (1 g/L) and hydroxyethyl-cellulose (25 g/L) in water, with a low frequency conductivity of 0,434 S/m (Conductimeter Mettler Toledo FG3). Three fiber-optic temperature sensors (Photon Control) were placed in the gel, near the lateral borders of the container. The phantom was centered in a 3T Philips Achieva TX MR system. The system body coil was used for RF transmission. A series of MR sequences were acquired, including a multi-slice multi-echo sequence set for maximal heating (RMS B_1 of 2,29 μ T). The precise timing and RMS B_1 of all sequences was recorded to replicate the experiment in the thermal simulation.

Electromagnetic and thermal numerical simulation : Simulations were performed using a commercial FDTD software (SEMCAD X, version 14.8, SPEAG, Zurich). We aimed to implement a numerical model of the RF transmit resonator resembling the actual resonator as closely as possible. The actual resonator in our system is slightly elliptical. However, we were not able to obtain a satisfactory elliptical model. The structure chosen for the RF coil was a circular 16-leg band-pass birdcage coil, with a sinusoidal excitation (16 sources, situated in the center of each leg, shifted 1/16 in period). A thermally insulated phantom structure was created, and defined at the correct physical features using literature. We adjusted the capacitance in legs and end-rings to tune the birdcage at 121 MHz, loaded with the phantom model. Three thermal sensors were placed at the same position as in the experimental set-up, and we calculated the temperature increase distribution according to the Pennes' heating equations.

Results

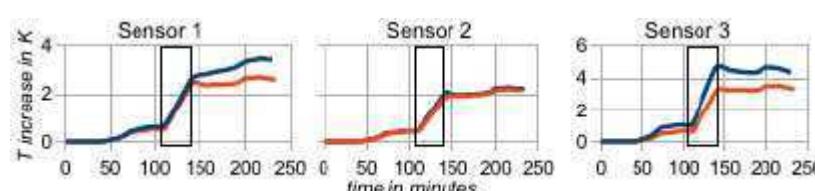


Fig 1: Temperature increase during sequences : simulation (blue) vs experiment (red)

Heating periods (dark rectangle in Fig. 1) are well simulated, with significant heating. Furthermore, the simulated heating has the same order of magnitude that the measured one. Temperature variations, before and during the RF heating, which started at 112 minutes, are similar ; but appreciable changes occur after the heating (sensors 2 and 3).

Conclusion

The comparison between electromagnetic simulation and experiment based on thermal effects shows qualitative agreement. Discrepancies remain. The increasing temperature post-heating at sensor 1 indicates the presence of a nearby hot spot in the simulation, which seems to be absent in the experiment. Due to severe image distortions in our phantom experiment at the border of the FOV (width of the container : 51cm), acquired temperature maps did not permit comparison with simulated maps. A more complete comparison using B_1 -maps and T-maps may permit to improve the resonator model.

Reference

1. Standard Test Method for Measurement of Radio Frequency Induced Heating On or Near Passive Implants During Magnetic Resonance Imaging, ASTM, F2182-09.

This work is supported by a grant of the Région Rhône-Alpes.

Utilisation d'une carte d'inhomogénéités du champ statique B0 comme connaissance *a priori* en Spectroscopie de Résonance Magnétique quantitative bidimensionnelle

D Martel¹, T Roussel¹, D Friboulet¹, D Grenier¹, H Ratiney¹

¹ CNRS UMR 5220 – INSERM U1044 – Université Lyon 1 – INSA Lyon

Introduction

La spectroscopie par résonance magnétique 2D (SRM2D) présente un grand intérêt pour accroître la précision de l'estimation des concentrations de métabolites^{1,2}. Cependant, l'ajout d'une dimension indirecte augmente le nombre de paramètres à estimer. Nous étudions à partir d'acquisitions sur un fantôme la mesure de T_{2inh} (lié aux inhomogénéités de B0) et son apport, en tant que connaissance *a priori*, sur l'estimation de la concentration des métabolites en SRM 2D quantitative via la théorie des bornes de Cramer-Rao (CRBs).

Matériel et Méthode

Deux séquences différentes ont été implantées sur un imageur BioSpec Bruker BioSpin de 4,7T : LCTCOSY³ (fig1.a) et JPRESS⁴ (fig 1.b). Trois mesures des spectres ont été réalisées, pour chacune des séquences, dans un voxel de 5x5x5 mm³ sur un fantôme contenant 9 métabolites dans un gel d'agarose à 2%, placé au centre du spectromètre. Une carte des inhomogénéités du champ B0 (méthode FieldMap de Bruker) a été utilisée pour corriger les inhomogénéités et pour mesurer le T_{2inh} dans le voxel.

Résultats

Le tableau 1 résume les mesures de T_{2inh} effectuées pour les deux séquences sur la Choline (Cho), la Creatine (Cr) et le N-Acetyl Aspartate (NAA) et comparées à la mesure par carte de champ. La concordance des résultats valide les modèles de relaxations adoptés. Les bornes de Cramèr-Rao sur la concentration ont été calculées pour la séquence JPRESS à partir de signaux simulés à des concentrations *in vivo* typiques avec ou sans la prise en compte de T_{2inh} comme connaissance *a priori* (fig 2).

Conclusion

L'obtention d'une carte d'inhomogénéités de B0 est généralement réalisée lors d'un protocole de SRM *in vivo*. Elle pourra également permettre la prise en compte, comme connaissance *a priori*, des inhomogénéités en SRM 2D quantitative pour réduire l'erreur d'estimation des concentrations des métabolites *in vivo*.

Références

1. Gonenc A, et al., 2010, Magn.Reson.Med, 64(3) :623-8
2. Schulte RF, et al., 2006, NMR Biomed, 19(2) :255-63
3. Girvin ME, et al., 1994, J.Magn.Reson. Ser. A, 108:99-102
4. Ryner LN, et al., 1995, Magn.Reson.Imag, 13:853-869

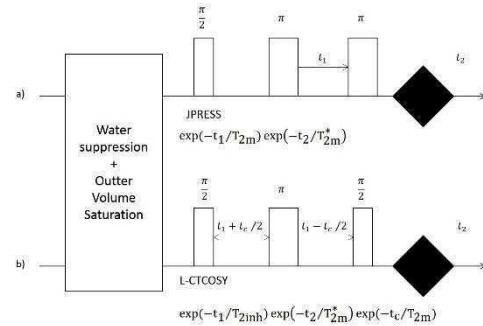


Figure 1 : Séquences (les gradients de sélections n'étant pas représentés) de la JPRESS (a) et LCTCOSY (b) utilisées et leurs fonctions de pondération

	JPRESS		CT COSY	FieldMAP
T_{2inh}	Exp I	239,9	$\pm 9,7\%$	243,38
	Exp II	225,68	$\pm 4,3\%$	212,43
	Exp III	305,34	$\pm 9,2\%$	301,49
T_{2est}	NAA	65,6	$\pm 13,9\%$	66,62
	Cre	71,8	$\pm 3,4\%$	69,25
	Cho	147,46	$\pm 3,4\%$	145,44

Tableau 1 : Résultats des mesures (moyenne \pm CV) pour les différents temps de la relaxation. En fond clair : valeurs déduites (via $1/T_2^* = 1/T_{2inh} + 1/T_2$) et en foncé : valeurs mesurées soit par ajustement dans le domaine temporel (selon les deux dimensions) de la fonction de pondération soit par intégration sur le voxel de la carte de champ.

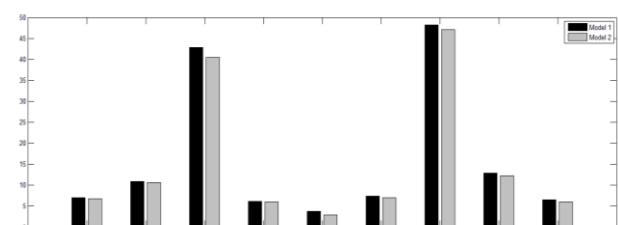


Figure 2 : CRBs calculées pour des conditions *in vivo* typiques en tenant en compte (en gris) ou non (en noir), de la connaissance *a priori*. Une diminution théorique d'intérêt apparaît pour le Lac, le NAA et le GABA.

Quantification de la fraction volumique de graisse avec estimation séparée des temps de relaxations de l'eau et de la graisse à 1.5 et 3.0T chez des patients porteurs d'hépatopathies chroniques

B.Leporq¹, F.Pilleul^{1,2,3} et O.Beuf¹

¹Université de Lyon; CREATIS; CNRS UMR 5220; Inserm U1044; INSA-Lyon; Université Lyon 1; Villeurbanne, France

²Hospices Civils de Lyon; Département d'imagerie digestive; CHU Edouard Herriot; Lyon, France

³Centre Léon Bérard – Centre de lutte contre le Cancer; Lyon, France

INTRODUCTION : Avec l'augmentation de l'incidence de l'obésité, des troubles du métabolisme ainsi que du diabète de type 2, l'incidence des maladies non-alcoolique du foie (NAFLD) s'est accrue et sa prévalence est à l'heure actuelle élevée dans les pays occidentaux (34 % de la population nord-américaine et 25 % de la population européenne) [1]. Dans 50 % des cas, les NAFLDs évoluent sous une forme invasive, la NASH où la surcharge graisseuse est accompagnée d'inflammation, de nécrose et de fibrose [2]. En l'absence de prise en charge, l'évolution se fait alors vers la cirrhose, dont les complications sont une cause importante de morbi-mortalité. Le gold standard actuel pour le diagnostic, la ponction biopsie hépatique (PBH), demeure imparfait en raison de son caractère invasif, des erreurs d'échantillonnage, de son importante variabilité inter et intra-observateur ainsi que de son coût élevé. La PBH ne permet ni les dépistages systématiques chez les sujets à risque ni le suivi clinique des patients. Pour cela, un besoin clinique important réside dans le développement de méthodes non-invasives permettant le diagnostic et le suivi des NAFLDs. L'objectif de ce travail est de proposer une méthode permettant la quantification de la fraction volumique de graisse (FVG) en IRM.

METHODES: L'imagerie a été réalisée à 1.5 et 3.0T, en apnée, à partir d'une séquence de type FLASH 2D multi-écho et multi angle. A 1.5T, 12 échos multiples de 2.38 ms, 2 angles de bascule (15 et 70°) et un TR de 219 ms ont été acquis. 7 coupes axiales de 8 mm étaient acquises avec une matrice de 208 × 256 pour un FOV de 244 × 400 mm², une seule accumulation et une bande passante de 500 Hz.pixel⁻¹. A 3.0T, 4 échos (1.10, 2.33, 3.55 et 4.78 ms), 4 angles de bascule (5, 15, 30 et 45°) ont été acquis avec les paramètres suivants : TR de 100 ms, 15 coupes axiales de 10 mm, matrice d'acquisition 128² (reconstruite 256²), FOV de 410² mm², une seule accumulation et une bande passante de 977 Hz.pixel⁻¹. Un algorithme dédié a été développé pour quantifier la FVG avec correction des effets des temps de relaxation par estimation séparée des valeurs T₁ et T₂* de l'eau et de la graisse, avec prise en compte des 5 composantes spectrales principales des lipides par précalibration et levée de l'ambiguité de composante dominante pour une quantification s'étalant de 0 à 100 %. La validation de cette méthode a été réalisée avec une étude prospective comparative avec la PBH sur une cohorte de 28 patients porteurs d'hépatopathies chroniques.

RESULTATS: La FVG est fortement corrélée avec la stéatose quantifiée histologiquement ($\rho = 0,96$). L'analyse ROC montre que la FVG permet de quantifier une stéatose débutante (seuil = 5,5 %) et une stéatose modérée (seuil = 15,2 %) avec une sensibilité/spécificité de 100 %. En l'absence de correction T₁, la spécificité diminue. Les temps de relaxation T₂* et T₁ de l'eau sont significativement réduits chez les patients ayant une surcharge ferrique ($p < 0,01$) alors qu'ils sont significativement augmentés chez les patients cirrhotiques ($p < 0,01$).

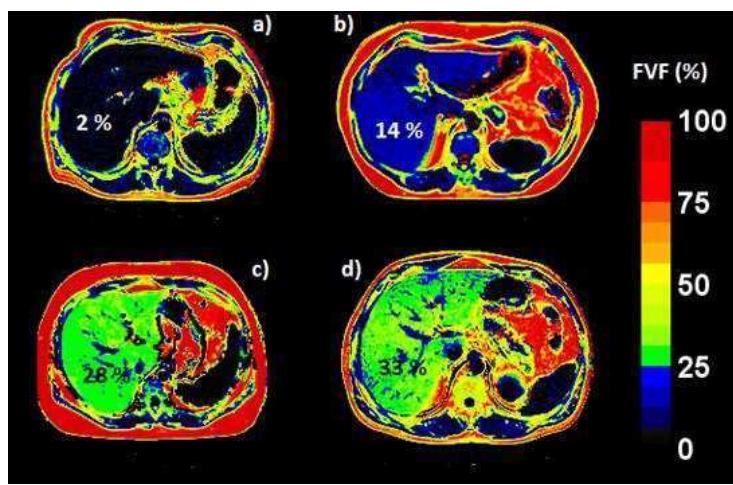


Fig.1: Cartographies de FVG chez des patients sans stéatose (a), avec stéatose débutante (b), avec stéatose modérée (c) et stéatose sévère (d).

DISCUSSION: La méthode proposée peut être appliquée aussi bien à 1.5 qu'à 3.0T sur toutes les plateformes cliniques actuelles. Elle permet de quantifier précisément la FVG qui pourrait être un bio-marqueur pertinent pour le dépistage des NAFLD et le suivi des patients, mais aussi pour la détection d'une stéatose dans tout le spectre des hépatopathies chroniques. De manière intéressante, l'estimation séparée des temps de relaxation de l'eau et de la graisse peuvent permettre la détection d'une surcharge ferrique associée à la stéatose.

[1] Szczepaniak L et al. Am J Physiol Endocrinol Metab. 2005;288:462-468.

[2] Bernsmeier C et al. Forum Med Suisse. 2011;11:53-57

Comparison of the performance of the photon counting hybrid pixel camera XPAD3 versus the CCD camera DALSA XR-4 for cone-beam micro-CT

H. Ouamara¹, F. Cassol Brunner¹, A. Bonissent¹, Y. Boursier¹, C. Kronland-Martinet^{1,2}, J.-C. Clémens¹, M. Dupont¹, F. Debarbieux^{1,2}, C. Morel¹

¹CPPM, Aix-Marseille University and CNRS/IN2P3, Marseille, France

²IBDML, Aix-Marseille Université and CNRS, Marseille, France

Introduction

Hybrid pixel detectors represent a new generation of digital X-ray camera working in a photon counting mode that can replace conventional charge integration in 2D detectors. This novel approach involves several advantages [1], such as the absence of dark noise, a high dynamic range and photon energy discrimination. This suggests that hybrid pixels could represent optimal digital X-ray detectors of low energy X-ray beams as used in small animal computed tomography (CT). We investigate the capability to perform cone-beam CT using either the hybrid pixel camera XPAD3 [2] or the CCD camera DALSA XR-4 within the micro-CT irradiation setup PIXSCAN developed at CPPM.

Materials and methods

The study was performed on the newly developed micro-CT irradiation setup PIXSCAN comprising a Mo target X-ray tube, a rotating object support and a detector holder. The 3D image is reconstructed using the FDK algorithm. The camera XPAD3 consists of XPA3 circuits [3] bump bonded to 500 μm thick silicon sensors to form horizontal modules: 8 modules of 7 chips are tiled vertically to obtain a detector of $11 \times 8 \text{ cm}^2$ composed of more than 500,000 pixels of $130 \times 130 \mu\text{m}^2$. The camera surface allows for performing whole-body mouse imaging at once, without requesting any detector translations. The CCD camera has 2080×4160 pixels of $36 \times 36 \mu\text{m}^2$. For a fair comparison, the pixels of the CCD camera are grouped 4×4 close to the size of the XPA3 pixels.

Results

For the comparisons, we have considered a range of exposure doses from 33 to 670 μGy . The results we obtained confirmed the absence of external noise sources (*e.g.* dark current) for the hybrid pixel photon counting camera XPA3. The linearity of the CT value is demonstrated for both cameras; the achieved contrast is higher with the hybrid pixel camera than with the CCD camera (Fig. 1). Detector stability, image uniformity, spatial resolution, noise power spectrum, and detectability at low contrast (Fig. 2) were also studied for the two cameras.

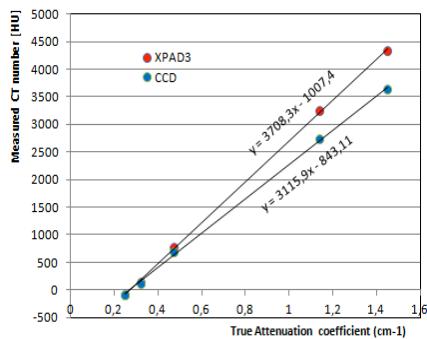


Figure 1: Comparison of the CT values determined in HU with both the hybrid pixel camera XPA3 and the CCD camera versus the vendor attenuation coefficient values.

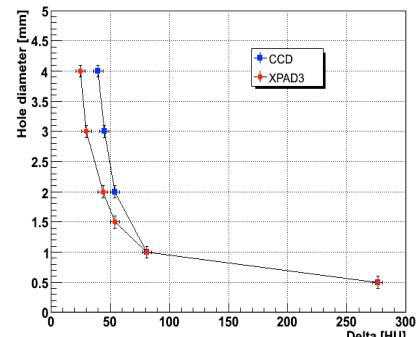


Figure 2: Comparison of the detectability determined as a function of the contrast difference between rods and background. The contrast limit determined with the camera XPA3 is ~ 25 HU, whereas it is ~ 40 HU with the CCD camera.

Conclusion

As a summary, in standard conditions the two detectors are virtually equivalent. Nonetheless, we observed that the photon counting camera XPA3 outperforms the CCD camera with regards to the detectability at low contrast and spatial resolution.

References

1. J. Yorkston. Nucl. Instrum. Meth. A 580:974-985, 2007
2. P. Delpierre *et al.* Nucl. Instrum. Meth. A 572:250-254, 2007
3. P. Pangaud *et al.* Nucl. Instrum. Meth. A 571:321-324, 2007

Imagerie spectrale basée sur la caméra à pixels hybrides XPAD3

M. Dupont¹, Y. Boursier¹, F. Cassol Brunner¹, A. Bonissent¹, H. Ouamara¹, C. Morel¹

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

Introduction

Après son atténuation dans la matière, un spectre polychromatique de rayons X contient d'importantes informations sur la composition de la cette matière. Le but de l'imagerie spectrale est d'extraire cette information pour établir une carte des composants de la matière. Nous explorons la possibilité de mettre en œuvre ce type d'imagerie avec le tomodensitomètre PIXSCAN utilisant la caméra à pixels hybrides XPAD3.

Matériel et Méthode

La caméra à pixels hybrides XPAD3, développée au CPPM, est un détecteur à comptage de photons pixellisé où chaque pixel est constitué d'un semi-conducteur polarisé (actuellement de Silicium) associé à une électronique de lecture indépendante. Chaque pixel peut compter indépendamment des autres pixels les photons reçus au delà d'un certain seuil de déclenchement en énergie défini par l'utilisateur et ainsi discriminer les photons arrivant sur le détecteur en fonction de leur énergie. Ce seuil en énergie est propre à chaque pixel. A cet effet, le dispositif d'irradiation pour la tomodensitométrie par faisceau conique PIXSCAN développé au CPPM permet de moduler facilement le spectre émis par la source en variant la tension d'alimentation et à l'aide de filtres.

Résultats

Nous avons déjà montré qu'il est possible, par combinaison d'acquisitions de données obtenues avec différents seuils pour chaque pixel de faire de l'imagerie «K-edge», c'est-à-dire d'identifier et de localiser des agents de contraste à base d'Iode et d'Argent en exploitant la discontinuité d'absorption de ces matériaux [1, 2]. L'étude en cours consiste désormais à séparer les interactions physiques principalement mises en jeu en tomodensitométrie afin d'obtenir une carte de ces interactions dans l'objet imité en appliquant une approche proposée par Roessl et Proksa [3]. Nous avons validé cette approche par un travail sur des simulations analytiques. Celles-ci nous montrent que l'imagerie spectrale est capable de fournir une véritable signature de la matière traversée tout en rehaussant le contraste sans avoir besoin de se focaliser sur un agent de contraste avec discontinuité d'absorption (Fig. 1).



Figure 1: Reconstructions spectrales des contributions photoélectrique et Compton à partir de simulations analytiques d'un fantôme rempli d'eau comportant 4 sphères constituées d'adipose, de poumon, de sang et d'os.

Conclusion

Les premiers résultats obtenus sur données simulées sont encourageants et soulignent l'intérêt d'une telle approche. L'application de cet algorithme sur des données réelles acquises avec le détecteur XPA3 est en cours et présente des résultats encourageants. Cette analyse spectrale devrait permettre à terme de mieux caractériser la matière traversée et de fournir des images avec des contrastes plus élevés.

Références

1. F. Cassol Brunner *et al.* in Conf. Rec. IEEE NSS/MIC pp. 3454-3458, 2011
2. F. Cassol Brunner *et al.* In Press in IEEE Trans. Nucl. Sci., 2012
3. E. Roessl and R. Proksa. Phys. Med. Biol. 52:4679–4696, 2007

Cellular response to heat shock studied by multi confocal Fluorescence Correlation Spectroscopy

M. Kloster-Landsberg¹, G. Herbomel², I. Wang¹, J. Derouard¹, C. Vourc'h¹, Y. Usson³, C. Souchier², A. Delon¹,

¹University of Grenoble I/Centre National de la Recherche Scientifique, Laboratoire Interdisciplinaire de Physique, Grenoble, France

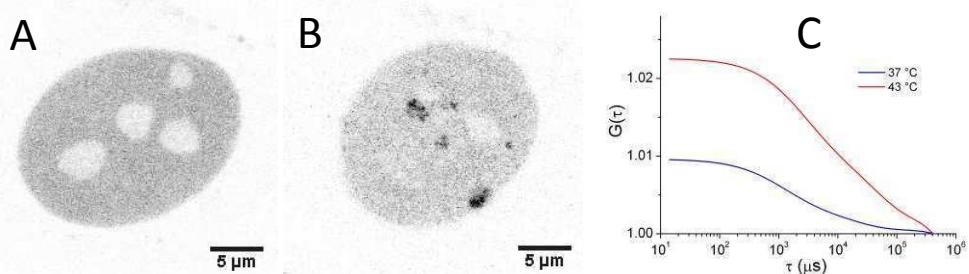
²University of Grenoble I/Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale, Institut Albert Bonniot, U823 team 10, Grenoble, France

³University of Grenoble I/Centre National de la Recherche Scientifique, Laboratoire TIMC-IMAG, Grenoble, France

Introduction

The exposure of a cell to a stress, such as a heat-shock, induces a transient and ubiquitous response, called the "heat shock response", which function is to protect the cells against deleterious effects potentially induced by stressful conditions. This response is associated with important changes in gene expression. The expression of hsp (heat shock protein) genes during stress is controlled by a transcription factor called HSF1 (Heat Shock Factor 1). During stress, HSF1 binds to the promoters of hsps but also accumulates to highly dynamic nuclear structures called Nuclear Stress Bodies (nSBs) that are highly dynamics (Fig.1, A and B). Analysis of the transcription factors and the location of their interaction sites is a fundamental issue for understanding gene regulation.

Fig.1: Fluorescence images of a cell before (A) and after heat-shock (B). The features that appear after stress are nuclear stress bodies (nSBs). FCS curves (C) clearly demonstrate a slowing down of the dynamics of HSF1 molecules and of their number.



Material and Method

The FCS (Fluorescence Correlation Spectroscopy) and FRAP (Fluorescence Recovery After Photobleaching) techniques make it possible to quantify molecular dynamics, by providing statistical information. However, in its usual implementation, when performing FCS measurements at a series of points, it is necessary to successively span these points. Therefore, we developed a multiconfocal FCS (or mFCS) set-up¹, the principle of which is to simultaneously collect the signals from different points of the cell and to analyze the fluorescence correlation curves to get molecular information at these points. Instrumental developments have been made around a SLM (Spatial Light Modulator), combined with an EM-CCD camera (Electron Multiplied CCD). A SLM is a programmable diffractive optical system that can be used to create, from a single incident beam, several laser spots.

Results

Autocorrelations curves, with a temporal resolution of 14 μs, have been analyzed, before and after heat shock on eGFP and HSF1-eGFP expressing cells². The dynamic parameters of a diffusion and binding model have been evaluated and showed a slower HSF1 diffusion after heat shock (Fig.1 C). We also observed that the dissociation rate decreases after heat shock, while the association one is not affected. In addition, thanks to the mFCS system, up to five spots could be simultaneously located in each cell nucleus. This made it possible to quantify the intracellular variability of the diffusion constant of HSF1, which is higher than that of inert eGFP molecules and which increases after heat shock.

Conclusion

Our mFCS experiments reveals the existence of two types of HSF1 DNA binding sites: numerous, low affinity binding sites displaying an homogeneous distribution and, in addition, less numerous, highly specific binding sites, displaying a more heterogeneous intranuclear distribution.

References

1. R. Galland et al. Front. Biosci., 3:476-488 (2011)
2. M. Kloster-Landsberg et al. Biophys. J., 103:1110-1119 (2012)

Normalisation of the PET data acquired with the hybrid PET/CT prototype ClearPET/XPAD

M. Hamonet¹, T. Fabiani¹, C. Kronland-Martinet^{1,2}, F. Debarbieux^{1,2}, F. Cassol¹ and C. Morel¹

¹CPPM, Aix-Marseille University and CNRS/IN2P3, Marseille, France

²IBDML, Aix-Marseille Université and CNRS, Marseille, France

Introduction

We develop a small animal hybrid PET/CT scanner prototype for simultaneous X and gamma ray scans of a common field-of-view (FOV). This prototype is using ClearPET detector modules developed by the Crystal Clear Collaboration [1] and the prototype X-ray hybrid pixel detector XPAD3 developed at CPPM. We present an ad hoc normalisation approach of the data acquired with the PET detectors.

Material and Method

Starting from the ClearPET prototype built at EPFL [2], the partial ring geometry was redesigned in order to manage space for installing an X-ray detector and an Mo target X-ray tube from RTW [3]. This new sampling geometry consists of 3 rings of 7 detector modules as shown in Fig. 1. This geometry suppresses axial gaps between rings of pixels and is suitable to build a complete set of 3D sinograms for a FOV 55 mm (axial) x 112 mm (transverse). In contrary to [4], where we demonstrated the feasibility of simultaneous PET/CT data acquisition, all components of the hybrid imaging system, including data acquisition PCs, are now mounted on a gantry that rotates continuously round the FOV at a speed of 1 RPM. Only singles are stored during acquisition and coincidences are associated offline. Despite the rotation of the detectors, the sampling heterogeneity resulting from the partial ring geometry must be corrected for by an ad hoc normalisation approach. For this, delayed coincidences are associated off line from singles detected with a Ge-68 uniform phantom centred in the FOV, so that each detector integrates approximately the same activity distribution at any time during scanner rotation. Delayed coincidence are obtained from this data set by adding increasing delays of 150 ns every sector, so that resulting coincidences can only be randoms. The resulting randoms are processed to produce a set of 3D sinograms, which is then used to normalise sinograms of true coincidences.

Results

A mini-Derenzo phantom filled with [¹⁸F]FDG was scanned for 12 min. About 5.8 million coincidences were obtained using a 10 ns coincidence window and a set of 3D sinograms was constructed. Using about 50 million delayed coincidences obtained from an 80 min scan of a uniform phantom of 66 mm (diameter) x 111 mm (length) centred in the FOV, data of the mini-Derenzo phantom were normalised prior to 3D reconstruction. Figure 2 shows a transverse slice located in the centre of the scanner reconstructed without (left) and with (right) applying this normalisation procedure prior to reconstruction.

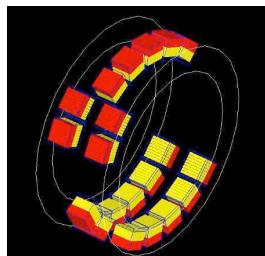


Figure 1: Partial ring sampling geometry used for the ClearPET/XPAD prototype.

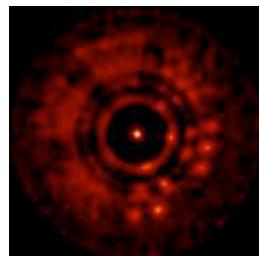


Figure 2: Transverse slice of the mini-Derenzo phantom reconstructed without (left) and with (right) applying normalisation prior to reconstruction.

Conclusion

We present an ad hoc normalisation approach of PET data acquired with the hybrid PET/CT prototype ClearPET/XPAD. Further investigations are currently being carried on to understand the limitations of this approach and to propose a comprehensive mathematical description of this normalisation process based on randoms.

References

1. J.-B. Mosset *et al.* IEEE Trans. Nucl. Sci. 53:25-29, 2006
2. M. Rey *et al.* Nucl. Instrum. Meth. A 571:207-210, 2007
3. M. Khodaverdi *et al.* in Conf. Rec. IEEE NSS/MIC pp. 4300-4302, 2007
4. S. Nicol *et al.* in Conf. Rec. IEEE NSS/MIC pp. 3311-3314, 2009

Capteur RF à 4 canaux pour la détection de signaux BOLD par IRMf de réponses olfactives chez le rat à 7T

A-L Perrier¹, D Grenier¹, N Ravel², P Litaudon² et O Beuf¹

¹ Université de Lyon, Creatis, CNRS UMR 5220, Inserm U1044, INSA-Lyon, Université Lyon1

² Centre de Recherche en Neurosciences de Lyon, CNRS UMR 5292, INSERM U1028, Université Lyon 1

Introduction

Les cadteurs RMN multiéléments ont été introduits en 1990 pour augmenter la sensibilité en réduisant le diamètre des boucles tout en gardant un large volume d'exploration [1] en juxtaposant plusieurs bobines simples. Ces bobines doivent être découplées entre elles pour acquérir simultanément et indépendamment les signaux. Le moyen de découplage le plus utilisé est le découplage géométrique combiné à l'utilisation de préamplificateurs faible bruit à basse impédance d'entrée. Une technique alternative consistant à joindre les bobines par un conducteur commun a permis de réaliser une bobine constituée de deux-canaux sans utilisation de préamplificateurs et avec un découplage approprié entre les canaux [2]. Le principe du découplage était fondé sur la transformation d'impédance [3]. Dans ce travail nous présentons la réalisation d'un capteur constitué de quatre canaux et basée sur ce même principe de découplage. Ce capteur est dédié à la détection de signaux BOLD (blood oxygen level-dependent) par IRMf dans le cerveau du rat. Une expérience d'activation des zones olfactives du rat a été réalisée sur un système Bruker à 7T. Nous présentons les premiers résultats d'activation observée dans le bulbe olfactif (BO) et dans le cortex piriforme (CP) pour lesquels la géométrie du capteur a été optimisée.

Matériel et Méthode

La figure 1 présente le capteur de réception à quatre canaux conçu pour s'adapter à la morphologie du rat et pour imager les régions d'activation visées. Ce capteur est constitué de quatre boucles rectangulaires de $20 \times 24 \text{ mm}^2$ intérieur avec des pistes de cuivre de 4 mm de large. Il est collé sur un cylindre de 35 mm de diamètre extérieur permettant de couvrir de la tête de l'animal. Des diodes PIN placées sur chacune des boucles assurent le découplage actif avec la bobine d'émission. Le découplage entre les canaux est obtenu par un report du plan de masse à l'intersection de deux canaux voisins, à la fréquence de résonance. Ce découplage est réalisé lors de la construction par l'ajustement des capacités constituant les boucles. Une capacité supplémentaire, annulant la partie imaginaire de l'inductance parasite du plan de masse assure le découplage entre les deux canaux extérieurs. L'adaptation des 4 canaux à 50Ω pour une fréquence de 300 MHz est réalisé avec un boîtier qui a été conçu pour s'interfacer avec le système Bruker avance I et II. Un masque permet de délivrer aux rats anesthésiés une odeur de façon synchronisée avec la séquence d'imagerie (séquence EPI, TR/TE=1000/19ms, FOV 2.5x2.5 cm, 128x128 pixels) de manière à détecter la réponse à ces stimulations olfactives.

Résultats

La mesure des paramètres S du capteur est présentée sur la figure 2. Cette mesure, réalisée à l'aide d'un analyseur de réseau vectoriel 4 ports, montre l'adaptation de chacun des canaux et un couplage entre eux inférieur à -20 dB. Le rapport signal sur bruit du capteur réalisé est environ 2 fois plus élevé dans la zone du cortex piriforme que celui d'une antenne quatre canaux Rapid Biomed pur le cerveau de rat. La figure 3 montre un premier résultat d'activation BOLD par IRMf obtenu dans le bulbe olfactif et dans le cortex piriforme d'un rat pendant une stimulation olfactive (extrait de verveine).

Conclusion

Le principe de découplage par conducteur commun a été montré sur un capteur quatre-canaux. Les performances de ce capteur ont été validées par la mesure des paramètres S et par des résultats d'activation BOLD en IRMf du cerveau de rat.

Remerciement : Ce travail est financé par une ANR (#ANR-07-NEURO-030) et par l'Institut Fédératif des Neurosciences de Lyon.

Références

1. Roemer et al. Magn. Reson. Med. 16 ::192-225, 1990 ; 2. Gareis et al. Concepts Magn Reson Part B, Magn Reson Eng. 29B ::736-741, 2006 ; 3. Perrier et al. IEEE Sensors Journal, 12::1801-1808, 2012



Fig. 1 : Photographie du capteur quatre canaux.

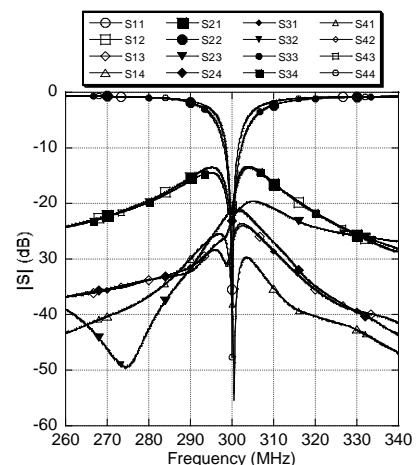


Fig. 2 : Mesure des paramètres S.

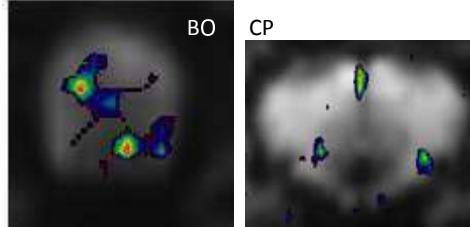


Fig. 3 : Résultats d'IRMf dans le BO et le CP

Capteur RF endoluminal incorporant un circuit de découplage actif optique

Reina Ayde¹, Anne-Laure Perrier¹, Raphael Sablong¹, Lionel Duvillaret³, Gwénael Gaborit^{2,3}, Olivier Beuf¹

¹Université de Lyon ; CREATIS; CNRS UMR 5220; Inserm U1044; INSA-Lyon; Université Lyon 1, Villeurbanne, France,

²IMEP-LAHC, UMR CNRS 5130, Université de Savoie, Campus Scientifique, 73376 Le Bourget du Lac Cedex, France,

³Kapteos, Savoie Technolac 73376 Le Bourget du Lac Cedex, France

Introduction

En IRM, lors de l'émission du champ magnétique Radio Fréquence (RF) B1, le capteur de réception du signal est mis hors résonance pour éviter une concentration du champ magnétique RF d'émission créant ainsi une excitation non uniforme de l'échantillon. Pour contrer ce problème, les capteurs de réception sont généralement munis d'un circuit de découplage actif dont le composant principal est une diode PIN. La console IRM fournit un courant continu à la diode PIN pour décaler la fréquence de résonance du capteur et empêcher ainsi la perturbation du champ B1 d'émission. Pour palier les problèmes de sécurité du patient lors de l'utilisation de capteurs endoluminaux ayant une connexion galvanique avec le système d'imagerie, notre objectif est de développer un circuit de découplage avec une liaison optique entre le capteur et la console d'imagerie. A partir des travaux de Korn et al. [1], nous avons réalisé un découplage optique avec un circuit modifié et des composants différents. Dans ce travail, nous comparons les performances d'un capteur à découplage galvanique classique à celles d'un capteur à découplage optique sur la base d'images RM et en comparant leurs Rapports Signal sur Bruit (RSB).

Matériel et Méthode

Les acquisitions IRM ont été réalisées sur un système 3.0T GE Discovery MR750. Les schémas des circuits équivalents du capteur de référence et du capteur à découplage optique sont présentés sur les figures 1a) et 1b) respectivement. Le capteur est un circuit RLC accordé à 127 MHz et adapté à 50Ω par des capacités ATC100A. Le capteur « optique » intègre un découplage actif implémenté par une diode PIN DH 80106. Cette dernière est commandée par 2 photodiodes BPW placées en série et assurant un courant suffisant pour un fonctionnement en directe de la diode PIN. Les photodiodes sont isolées du reste du circuit par des inductances de choc ($1.8 \mu\text{H}$). Le schéma du montage de l'expérience est présenté sur la figure 2. Chacune des deux photodiodes est commandée par un laser (632 nm). La tension de modulation du laser est pilotée à l'intérieur d'un boîtier de commande. Le boîtier réalisé convertit le courant de 0-100 mA fourni par la console IRM en une tension de 0-5 V. Le capteur est introduit dans un tube de 10 mm de diamètre, celui-ci étant placé dans un fantôme cylindrique rempli d'eau salée. Les images obtenues avec une séquence Echo Gradient sont présentées sur la figure 3.

Résultats

Les images montrent que le RSB à 2 mm du tube est de l'ordre de 100 pour le capteur de référence alors qu'il est de l'ordre de 70 pour le capteur incorporant le circuit de découplage optique.

Conclusion

Un capteur à découplage optique a été réalisé et comparé à un capteur de référence par l'acquisition d'images RM. Les résultats montrent que le découplage optique dégrade le RSB d'une image RM. Cela est dû au temps de réponse relativement long de la photodiode. L'amélioration se fait en utilisant des photodiodes de meilleures qualités.

Remerciement : Les auteurs remercient la région Rhône-Alpes (ADR, projet CIBLE) et la DGA (projet RAPID SNIFER) pour le soutien financier.

Références

- [1] “Optically Detunable, Inductively Coupled Coil for Self-Gating in Small Animal Magnetic Resonance Imaging”. M. Korn, R. Umathum, J.Schulz, W. Semmler, et M. Bock. Magnetic Resonance in Medicine, Volume 65, page 882–888 (2011)

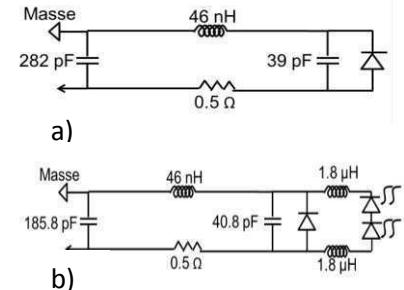


Figure 1 : Circuit équivalent de a) capteur référence galvanique, b) capteur à découplage optique

Machine IRM 3T
Antenne d'émission RF
Console
Sonde de réception endoluminale
Boîte de commande Laser
Laser

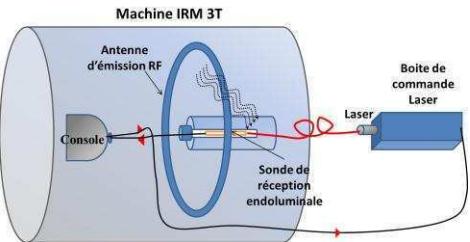


Figure 2 : Schéma du montage de l'imagerie par capteur à découplage optique

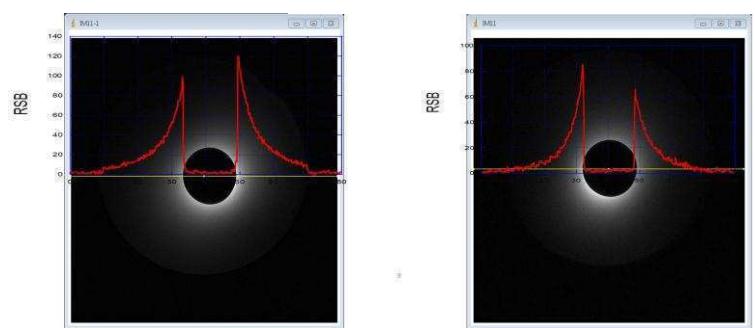


Figure 3 : Image et RSB correspondant en fonction de la distance obtenue par a) un capteur référence à découplage galvanique b) une capteur à découplage optique

Détection de gradient de conductivité électrique par ultrasons

P Grasland-Mongrain, J-M Mari, C Lafon

Inserm, U1032, LabTau, Lyon, F-69003, France ; Université de Lyon, Lyon, F-69003, France

Introduction

La conductivité électrique est une caractéristique des tissus biologiques difficilement mesurée de façon non-invasive à ce jour. Cependant elle peut être mesurée grâce à un transducteur ultrasonore et un aimant : les ultrasons font vibrer dans leur zone focale l'échantillon, lui-même placé dans un champ magnétique, ce qui induit un courant électrique faible mais mesurable. Ce courant électrique, recueilli par des électrodes, est en première approximation proportionnel à la pression ultrasonore, au champ magnétique, et au gradient de conductivité électrique le long de l'axe acoustique. Ce gradient informe sur les variations de conductivité dans les tissus. L'objectif de cette étude est de déterminer si des images du gradient de conductivité peuvent être établies *in vitro* malgré les difficultés inhérentes à la méthode de mesure.

Matériel et Méthode

Un transducteur de fréquence centrale 500 kHz focalisé à 20 cm émet des ultrasons sur un fantôme de gélatine puis sur un échantillon de muscle bovin présentant des couches de graisses placé dans l'entrefer d'un aimant créant un champ magnétique de 300 mT. Une paire d'électrodes situées de part et d'autre de l'échantillon recueille le courant électrique induit par force de Lorentz. Ce signal est amplifié, filtré et mesuré avec un oscilloscope, ce qui donne, pour une ligne de tir acoustique, une ligne de gradient de conductivité électrique. Le transducteur est ensuite déplacé verticalement par pas de 2 mm pour former une image complète des gradients de conductivité électrique.

Résultats

Bien que la résolution spatiale et la sensibilité de la méthode soient pour l'instant faibles, certaines interfaces sont visibles sur l'image finale, et une bonne corrélation est observée entre l'image de conductivité électrique et l'image ultrasonore.

Conclusion

La méthode présentée permet de mesurer les gradients de conductivité électrique de tissus biologiques *in vitro* et de former des images. Cependant une fréquence ultrasonore plus élevée et un champ magnétique plus intense pourrait améliorer la qualité des images obtenues. A terme, on peut envisager de combiner cette méthode avec des échographies conventionnelles pour faire apparaître des pathologies invisibles autrement.

Références

1. H. Wen et al., IEEE Transactions on Biomedical Engineering, 45 (1), pp 119-124, 1998
2. A. Montalibet et al., Ultrasonic Imaging, 23(2), pp 117-32, 2001
3. B. Roth, Experimental Biology and Medicine, 236 (2), pp 132-137, 2011

Démonstrateur d'endoscope hyperspectral en vue d'applications de diagnostic de pathologies du tube digestif

L. Mahieu-William¹, A. Ramgolam¹, R. Sablong¹,

¹Université de Lyon ; CREATIS; CNRS UMR 5220; Inserm U1044; INSA-Lyon; Université Lyon 1, Villeurbanne, France,

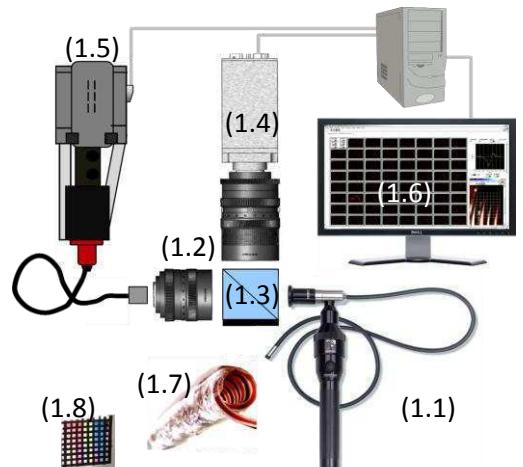
Introduction

L'imagerie hyperspectrale optique est une technique en plein essor, notamment dans le domaine de la télédétection satellitaire^[1] qui consiste à recueillir en chaque pixel de l'image (ou pour un regroupement de pixels) un spectre optique complet plutôt qu'un simple (ou triple dans le cas de l'imagerie « 3 couleurs ») niveau de signal relatif à l'éclairage du capteur. Par ailleurs, une sonde endoscopique dédiée a récemment été proposée, permettant le balayage par un faisceau blanc de la paroi œsophagienne et la reconstruction d'une image multispectrale^[2]. En parallèle, des systèmes d'imagerie plein champ basés sur des sources à longueurs d'ondes accordables sur toute la gamme du visible (balayage spectral) permettent d'effectuer de l'imagerie hyperspectrale pour des applications de diagnostic per-opératoire, au prix certes d'une cadence d'image relativement lente^[3]. Nous proposons ici un dispositif « temps réel » permettant simultanément l'obtention d'une image couleur conventionnelle et l'acquisition d'une matrice de 64 spectres sur une portion choisie de l'image plein champ. Le montage proposé au titre de preuve de concept a suivi une première étape de validation sur fantômes.

Matériel et Méthode

Le démonstrateur (cf. Figure1) que nous avons mis au point comprend notamment un endoscope industriel standard (1.1), des objectifs photographiques(1.2) avec zoom intégré, un cube séparateur(1.3), une camera numérique(1.4) couleur à cadence video et un spectromètre imageur fibré(1.5) à 64 voies optiques parallèles, couplé à une camera EMCCD. Une interface Labview® dédiée a été développée(1.6) pour permettre la visualisation pour les deux modalités. Pour l'étape de validation du banc expérimental, ont été utilisés un premier fantôme(1.7) constitué par un enroulement de deux cathéters remplis de solutions colorées distinctes et calibrées ainsi qu'un second(1.8) présentant une matrice de nuancé de couleurs standardisées.

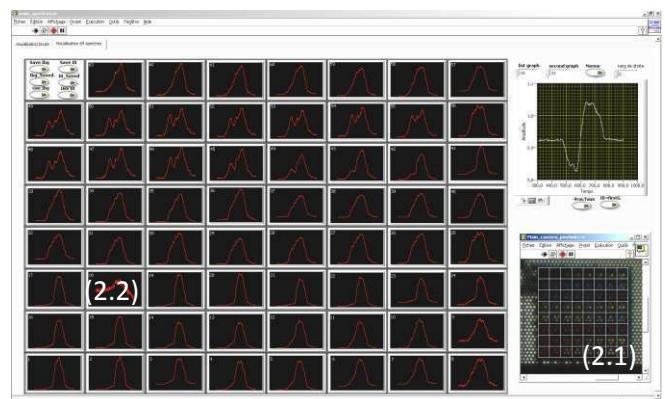
Figure 1 : Schéma du démonstrateur d'endoscope hyperspectral avec fantômes associés



Résultats

Le logiciel (cf. Figure2) développé permet l'affichage des données d'imagerie(2.1) et de spectroscopie multiple(2.2), l'étalonnage préalable des composants optiques (alignement, focalisation, etc.) et le contrôle des paramètres de détection (cadence d'acquisition, zonage relatif, etc.). L'obtention de vidéos des faces internes du fantôme cavitaire(1.7) et de matrices de spectres discriminants sur le fantôme à nuances de teintes(1.8) valident le principe du dispositif élaboré ici.

Figure2 : Exemple de tableau de visualisation correspondant à l'acquisition simultanée de l'image tricolore et d'une matrice spectrale d'un fantôme(1,7) →



Conclusion

Le prototype d'endoscope hyperspectral temps réel réalisé ici a montré ses capacités d'imagerie couleur et d'analyse multispectrale zonale simultanées, sur des objets cavitaires et présentant des nuances de teintes délicates à discriminer à l'œil nu. Ce principe reste à transposer vers un endoscope d'usage clinique afin d'évaluer l'apport de cette technique au domaine du diagnostic des pathologies du tube digestif notamment.

Références

1. Fisher J et al. Proc. SPIE 6206, 62062R, 2006.
 2. Qiu L et al. Nat Med. 16(5): 603–606, 2010.
 3. Gebhart SC et al. Appl. Opt. 46(10):1896–910, 2007.

Assessment of RF heating reduction devices for endoluminal MR imaging at 3T

JM. Verret^{1,2}, C. Rabrait², F. Pilleul^{1,3} and O. Beuf¹

¹Université de Lyon; CREATIS; CNRS UMR 5220; Inserm U1044; INSA-Lyon; Université Lyon 1; Villeurbanne, France.

²Clinical Science Development Group, Buc, GE Healthcare.

³Hospices Civils de Lyon; Département d'imagerie digestive Lyon, France.

Introduction

MR endoluminal coils increase locally the Signal-to-Noise Ratio (SNR), allowing better distinction of the layers of the bowel: a crucial criterion for diagnosis of bowel diseases [1]. Endoluminal coils present however a risk of burn for the patient. RF pulses induce an electric field, inducing spurious currents in reception cable ground; which generate an additional electric field that can be responsible for local heating. In this paper, the efficiency of passive RF traps toward heating suppression was assessed to enable safe endoluminal imaging of the colon wall. Experiments were setup to be in the worst case scenario.

Material and Method

Experiments were performed on a GE DVMR750 3T system (General Electric Medical Systems) with a double loop endoluminal coil (60 mm length, 6 mm width) developed at CREATIS (cf patent [2]).

Maximization of RF heating: A FIESTA (equivalent to True-FISP) sequence was performed with 1min36 acquisition time, 35° flip angle, 48x48 cm²FOV, 128x128 matrix, 250 kHz bandwidth, TE/TR: 0.99/2.7ms (short TR enable high average electric field). Due to quadratic dependence of temperature increase with flip angle, it is preferable to increase flip angle to maximize RF heating compared to TR. The receiver cable was an RG 58 coaxial cable whose length remained constant at 225cm ($\cong \lambda_{air} = 234\text{cm}$) and which incorporated between 0 and 5 RF traps. Inside the MRI bore, the receiver cable path passed through one of the maxima of the electric field. This maximum was located with an electric dipole associated to a LED (Agilent HLMP 4015).

Temperature measurement at warmest points: The endoluminal coil was placed in a 1.5 % agar gel phantom (whose electrical conductivity was doped with salt at 9g /L), an adequate medium for heat propagation. Four optic fiber probes were taped on the endoluminal coil: 3 at the distal extremity and 1 at the proximal base and connected to a temperature measurement device (OpsensTempsens: 0.1 °C resolution, 0.4Hz sampling rate). Their position was adjusted during the acquisition to find the warmest points.

Results

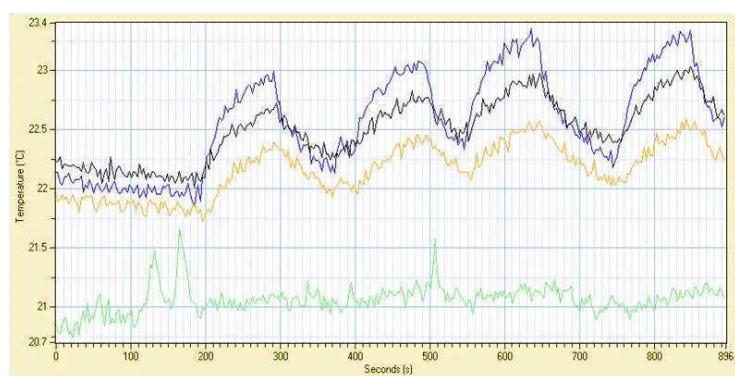
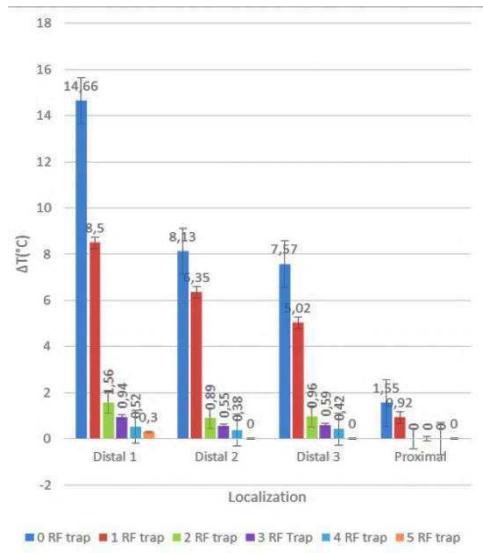


Fig 1: Temperature measurements with 3 RF traps. The 4 curves correspond to the temperatures respectively measured at the tip of the 4 optic fiber probes.

Fig 2: Maximum Temperature rise ΔT in function of the number of RF traps (based on 5 measurements). ΔT is the difference between final temperature, at the end of the FIESTA sequence, and initial temperature, at the start of the FIESTA sequence.

Conclusion

RF heating is a local phenomenon which occurs mostly at distal extremity (as predicted for a cable length close to λ_{air} [3]). Without RF traps, maximum observed temperature increase was $14.66 \pm 1^\circ\text{C}$ which would necrose human cells. In the worst case scenario, 5 RF traps efficiently suppressed heating for a cable length of 225 cm.

References

1. Pilleul F et al. 2006., Radiology, 241(3): p. 796-801
2. Beuf O et al. 2007, Brevet N. 0759652 - Français. Extension PCT/FR2008/052248. Sonde endocavitaire pour l'imagerie et/ou la spectrométrie par résonance magnétique nucléaire
3. Armenean C et al. 2004, MagnReson Med 1200-1206

New tools for Magnetic Resonance Imaging and Magnetic Resonance Spectroscopy of *Drosophila*

N. Joudiou¹, S. Même¹, M. Decoville¹, F. Louat¹, F. Szeremeta¹, V. Sarou-Kanian², J-C. Beloeil¹.

¹Centre de Biophysique Moléculaire (CBM), UPR4301, rue Charles Sadron, 45000 Orléans la Source;

²Condition Extrême et Matériaux : Haute Température et Ionisation (CEMHTI), UPR 3079, CNRS, 45000 Orléans la Source

Introduction

Animal models are commonly used to study biological processes and human diseases. Among them, the fruit fly, *drosophila melanogaster*, is a model of choice. Over 75% of the genes known to be involved in human diseases have a counterpart in *drosophila*. Here we present a method of Magnetic Resonance Imaging (MRI) allowing *in vivo* imaging and a method of High Resolution Magic Angle Spinning (HRMAS) which also allows *in vivo* spectroscopy of the *drosophila*.

Material and Method

MRI of drosophila at 9.4T:

MRI studies were made on a 9.4T Bruker Biospec using Topspin 2.1 and Paravision 5.0. We have developed a specific probe using a coil dedicated to *drosophila* study which is a scroll coil (a conductive strip wound several times on itself) with an inside diameter of 2.1mm. The *drosophila* is placed in a glass cylinder of 1.5mm inner diameter, and 2mm outer diameter. For anesthesia we used CO₂ gas which permits to anesthetize the *drosophila* during 2h if it is exposed continuously to the gas.

HRMAS of drosophila at 17.6T:

We have access to a special device that is implemented on a Bruker Avance 750MHz spectrometer, which allows to combine HRMAS and imaging (synchronized gradients) with spinning of *drosophila* with simultaneous anesthesia. *Drosophila* is placed in an insert that is put in an HRMAS rotor (3.2mm diameter). In that case, the anesthesia is provided by the decrease of the temperature (between 2 and 4°C). The spinning rate was fixed to 2630Hz, which guaranteed the survival of the *drosophila* (100% of survival for 30min of spinning) and no artifact on spectra on the area of interest.

Results

MRI of drosophila at 9.4T (Fig. 1) [1]:

Imaging acquisition can be run *in vivo* or *in vitro*. The *in vivo* method offers the possibility to study the same *drosophila* during several days but this method is sensitive to magnetic susceptibility variations at the interface between *drosophila* and air. The *in vitro* method is performed with oil in the capillary that adapts the magnetic susceptibility at the interface. One study has been carried out on a pathology that affects muscles of *drosophila*. MRI permits to observe necrosis of muscles on live *drosophila*.

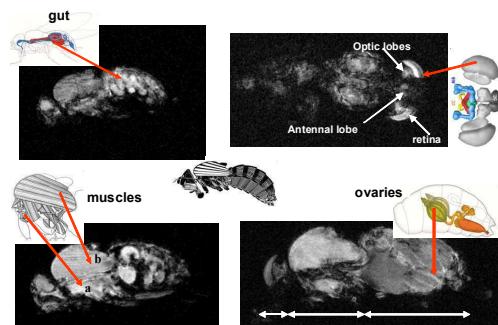


Figure 1 : MRI images of *drosophila* with identification of several organs

HRMAS of drosophila at 17.6T:

HR MAS with synchronized gradient pulses allows us to run MRI experiments with decreased magnetic susceptibility effects. With the aid of this high magnetic field we have performed *in vivo* 1D and 2D MRS spectra of metabolites. We have found a quantitative difference between β-alanine in wild type *drosophila* and the muscle pathology model.

Conclusion

In vivo MRI and MRS of the *drosophila* seemed to be highly difficult, because of the very small size of this insect. We have shown that MRI is possible at 9.4T (with a specialized probe) and that MRI and MRS (even 2D) are feasible at reasonable HR MAS rotating speed at 17.6T. We think that the important potential of *drosophila* for genetic studies is now attainable by MRI and MRS. We planned new experiments on genetically modified *drosophila* that will permit to selectively demonstrate the action of an enzyme.

References

1. Même et al., Magnetic Resonance imaging, *in press*, 2012

A coil for magnetic resonance microimaging of *drosophila* at 9.4T

F. Szeremeta¹, N. Joudiou¹, S. Même¹, J. Mispelter², F. Louat¹, M. Decoville¹, D. Locker¹, J.-Cl. Beloeil¹

¹Centre de Biophysique Moléculaire, CNRS UPR4301, Orléans, France

²Institut Curie, INSERM U759, Orsay, France

Introduction

In preclinical research, genetic studies have made considerable progress as a result of the development of transgenic animal models of human diseases. Consequently, there is now a need of higher resolution MRI to provide finer details for studies of animals or even insects. The fruit fly *drosophila melanogaster* is one of favorite experimental model for geneticists. The wide spread use of these flies by geneticists has led to the generation of a large number of mutants.

In our study, we developed, *in vitro* and *in vivo*, non-invasive protocols (from coil construction to image generation) for MR microimaging of very small insects (*drosophila*) using a 9.4T spectrometer dedicated to small animals (rabbit, rat and mouse). This protocol was first optimized *in vitro* prior to *in vivo* studies with live *drosophila*.

Material and Method

We designed two coils with 2mm internal diameter and both 3.6mm long to get a homogeneous volume about 2mm long : a solenoid, often used for microimaging, having seven turns with a mean spacing of 0.30mm, and a scroll coil (1), supposed to be more suitable for *in vivo* imaging as it creates less heating due to lower electric field, having 4 turns made of flexible circuit wound on itself. We simulated the distribution of their B_1 field to obtain the best configuration, giving the most intense and homogeneous B_1 in a region of interest (ROI) of 1.6mm x 0.8mm having *drosophila* size.

MR experiments were performed on an imaging spectrometer equipped with a 9.4T horizontal shielded magnet (94/20 USR Bruker Biospec). We evaluated each coil using a homogeneous phantom (2mm capillary filled with physiological saline solution) : quality factor, power to generate a 90° pulse (P_{90}), SNR, experimental B_1 map, *in vitro* and *in vivo* image acquisition.

Sample temperature was studied using a 20mM solution of lanthanide complex TmDOTP⁵⁻. ¹H spectra were acquired with localized spectroscopic sequence (PRESS) before and after the optimized *drosophila* MRI sequence. For *in vivo* imaging, *drosophila* was put in the same capillary and anesthetized with a controlled flow of CO₂.

Results

Simulations show an inductance of 61nH for the solenoid and 19nH for the scroll coil. Quality factor measurements on a spectrum analyzer show scroll coil's quality factor (104) 1.3 times higher than solenoid's one (78), charged with an homogeneous phantom. The solenoid and the scroll coil needs the same power (100mW) to achieve the P_{90} pulse for a 1ms Hermitian pulse. But scroll coil exhibits better homogeneity and higher SNR in the ROI. SNR values are similar in the coronal plane, 190 for the solenoid and 195 for the scroll coil, but not in the axial plane (perpendicular to magnet axis) 123 and 192 respectively.

With a flow of 0.5 NI/h of CO₂, *drosophila* can be anesthetized during 2h. This is enough to image *drosophila* with a 1h30 long 2D morphological T1-weighted FLASH sequence (resolution 10x10x80µm, TE/TR = 9/230ms). Sample temperature was 21°C before the 1h30 FLASH sequence, it increased by 4.5°C in the scroll coil and 7°C in the solenoid.

As the scroll coil heats less, it is more suitable for *in vivo* MR experiments than the solenoid, moreover the electric characteristics are also better.

Conclusion

These results demonstrate that imaging of a live *drosophila* with good resolution can be achieved using a 9.4T spectrometer dedicated to small animals without the use of a contrast agent. This was challenging due to *drosophila* size (1.5mm long). The 10x10x80 µm resolution allows visualization of whole *drosophila* and internal organs. Our protocol open ways for new applications of structural genetic modification studies using MR microimaging.

References

1. Même S. et al. Magn Reson Imaging. 2012 Aug 13. [Epub ahead of print].

Développement d'un système de Tomographie Optique Diffuse hyperspectrale résolue en temps de vol du photon de l'activité cérébrale humaine

F. Lange¹, B. Montcel¹, S. Mottin²

¹ CREATIS ; Université Lyon 1 ; CNRS UMR5220 ; INSERM U1044 ; INSA Lyon

² Lab. Curien ; CNRS UMR5516, UJM, PRES Univ. Lyon, 18 rue du Pr. Benoît Lauras, Saint Etienne

Introduction

La spectroscopie proche infrarouge (SPIR) est un outil puissant d'exploration non invasive de l'activité cérébrale chez l'homme. Pourtant l'utilisation de la SPIR est encore très restreinte par 2 verrous principaux. Le premier verrou est lié à la forte diffusion des photons PIR par les tissus biologiques, prépondérante devant l'absorption. Ceci rend la localisation spatiale des variations du contraste optique induites par l'activité cérébrale très difficile. Ce verrou est partiellement levé par les techniques résolues en temps de vol du photon qui permettent notamment d'amener des informations sur la profondeur^{1,3,6}. Le deuxième verrou est l'interprétation du contraste SPIR du signal cérébral en termes de paramètres neurophysiologiques. En effet les contributions sont nombreuses, fortement intriquées et sur plusieurs échelles spatiales et temporelles : hémodynamique (oxygénation tissulaire), potentiels d'action neuronales (Events Related Optical Signal EROS), métabolisme cellulaire (cytochrome-c-oxidase). La détection spectroscopique du signal PIR sur une large bande spectrale permet d'explorer cet aspect grâce aux signatures spectrales de chacune des contributions⁶. De plus la combinaison de cette mesure spectrale à une mesure spatiale permet une investigation très puissante de l'activité cérébrale chez le petit animal^{2,3}. La force de notre système expérimental est de permettre de mesurer le signal SPIR à fréquence d'acquisition rapide et selon les dimensions spatiale, spectrale et résolue en temps de vol du photon de façon simultanée, et ce à l'aide d'un dispositif compact et facilement transportable, adapté à un environnement clinique.

Matériel et Méthode

Adapté à l'humain, le système en développement (Fig. 1) est constitué d'un laser blanc femto/picoseconde⁶ synchronisé avec une caméra ICCD (Intensified CCD camera qui exploite les nouveaux chips CCD & les techniques d'intensification avec porte temporelle et comptage de photon). Le tout est contrôlé via un ordinateur-maitre, qui permet également de suivre les paramètres physiologiques du sujet. L'ICCD est équipée d'un spectromètre imageur, ainsi une des dimensions de la CCD est utilisée pour l'information spectrale, l'autre est utilisée pour l'information spatiale. Le système permet de mesurer le signal sur l'ensemble de la bande spectrale pertinente dans le Proche Infra-Rouge (600 à 900nm). La largeur de la porte temporelle est actuellement de 200ps et la résolution temporelle macroscopique est supérieure à 100Hz (10ms/mesure). Le couplage du système avec la tête du sujet est réalisé via un réseau de fibres optiques qui sont optiquement conjuguées au système de détection le long de la fente d'entrée du spectromètre imageur.

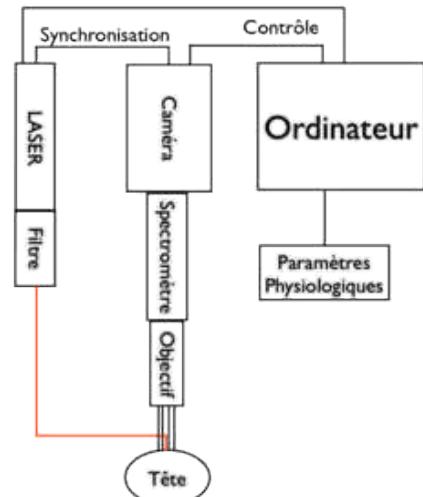


Figure 1 : schéma du système

Conclusion

Le système dont nous décrivons la réalisation permet de mesurer de façon simultanée l'ensemble des paramètres pertinents pour la compréhension du contraste SPIR en termes neurophysiologiques. Il ouvre les portes à de nombreuses applications tant dans le domaine clinique qu'en recherche. En effet, dans le domaine clinique, ce système compact permet notamment un examen au lit du patient, plus pratique et rapide pour les études préopératoires que les examens classiques, comme l'IRM. Dans le domaine de la recherche, ce système permettrait l'investigation du signal EROS, qui est extrêmement pertinent, notamment dans l'étude du couplage neurovasculaire, mais qui reste encore controversé à l'heure actuel^{4,5}.

Références

1. B. Montcel *et al.* Optics Express, 14(25) : 12271-12287, 2006.
2. S. Mottin *et al.* Journal of Cerebral Blood Flow and Metabolism, 31 : 1170, 2011^a.
3. S. Mottin *et al.* Journal of Cerebral Blood Flow and Metabolism, 31 : 393-400, 2011^b.
4. H. Radhakrishnan *et al.* NeuroImage, 45 : 410-419, 2009.
5. J. Steinbrink *et al.* NeuroImage, 26 : 996-1008, 2005.
6. C. Vignal *et al.* Physics in Medicine and Biology, 53 : 2457-2470, 2008.

Study of the effect of a tumor Vascular Disrupting Agent (DMXAA)-on U86-MG glioma models in mice using ^1H - ^{13}C filtered MRI using [U - ^{13}C]-glucose.

N. Joudiou ¹, S. Même ¹, W. Même ¹, F. Szeremeta ¹, L. Lemaire ², J-C. Beloeil ¹

¹Centre de Biophysique Moléculaire (CBM), UPR4301, rue Charles Sadron, 45000 Orléans la Source;

²Micro et nanomédecines biomimétiques INSERM U1066, 4 rue Larrey, 49933 Angers Cedex 9

Introduction

Magnetic resonance spectroscopy of ^{13}C -labelled glucose is a well-known method for investigation of cerebral metabolism [1]. The direct ^{13}C MRS is not usable, because of the low sensitivity of the ^{13}C spectroscopy. We previously have developed a technique based on POCE-PRESS pulse sequence that uses the detection of ^1H directly bonded to ^{13}C (1). The technique is very efficient on rats. We recently develop probe and protocol for the study of brain metabolism on mice using this method. We perform the study of the effect of DMXAA, a tumor –Vascular Disrupting Agent (VDA) (2), on U86-MG glioma models on nude mice. This tumor-VDA is known to have rapid effect (within 24h) on the existing vascular structure of tumors and have shown effects on the rate of survival [2]. Here we study the effect of this tumor-VDA on the metabolism of the tumor.

Material and Method

All studies were made on a Bruker Biospec 9.4 Teslas, using Paravision 5.1. 12 swiss nude female mice, 7 weeks old, divided in two groups, one with DMXAA treatment and the second without treatment were enrolled in this study.

Animal preparation:

Under ketamine/xylazine anesthesia, mice were fixed in a stereotactic frame. 50000 U87-MG cells dispersed in 5 μL of DMEN medium were inoculated in the right striatum at a rate of 1 $\mu\text{L}/\text{min}$.

The DMXAA was used as a single intra-peritoneal injection of 27.5mg. kg^{-1} 48h before MRS acquisition, observation was made at 22 days after cells injection.

MRS acquisitions protocol:

For ^1H - ^{13}C filtered pulse sequence we used a POCE-PRESS (Proton Observed Carbon Edited Point RESolved Spectroscopy) which is an homemade pulse sequence (number of averages =256, voxel size = 2.5mm 3 , TR =4s, acquisition time = 34min per scan). An intravenous line was implanted for injection of ^{13}C -labelled glucose (3M). We first proceeded to a bolus followed by constant infusion during all of the MRS experiment. During MRS acquisition animals were anesthetized with isoflurane (1 %) and a mixture of O₂/air (0.3 L.min $^{-1}$ / 0.3 L.min $^{-1}$).

The complete protocol includes: imaging for localization of tumor and positioning of the voxel for MRS: a PRESS acquisition, 5 POCE-PRESS experiments with constant injection of ^{13}C -labelled glucose and 1 POCE-PRESS experiment after the end of injection.

All spectra were treated with JMRUI 4.0.

Results

We used the signal from creatine /Phospho-creatine (Cr/P-Cr) for normalization of the 1H-13C spectra. The quantified metabolites are principally lactate, alanine, glutamate and glutamine. We also quantify the ^{13}C -labelled glucose. Concerning data normalized by Cr/P-Cr differences were observed between treated mice and non-treated ones on glucose, glutamate, alanine and glutamine. Signal from lactate seems to be the same. Data normalized by glucose signal gives information about glucose consumption.

Conclusion

In this study, we have proceeded to the observation of the effect of a tumor-VDA, DMXAA, on the metabolism of tumor. For the first time, localized spectroscopy coupled with a ^1H - ^{13}C filtered method is used for this kind of study on mice. With this work, we demonstrate the efficiency of the technique despite of the size of the voxel on such small animals as mice (compared to rats). The next step will be to develop a simultaneous two voxels acquisition.

References

1. Doan *et al.*, Journal of magnetic Resonance, 198(1):94-104, 2009.
2. Seshadri and Ciesielski, Journal of Cerebral Flow & Metabolism, 29:1373-1382, 2009

Respiratory gating of MRgHIFU treatments *in vivo* using in-bore optical tracking system

V. Auboironx¹, L. Petrusca¹, M. Viallon^{2,3}, D. Morel⁴, A. Muller³, T. Goget¹, J. Roland⁵, S. Terraz², C. D. Becker² and R. Salomir^{1,2,6}

¹Faculty of Medicine, University of Geneva, Geneva, Switzerland

²Radiology department, Geneva University Hospital, Geneva, Switzerland

³CREATIS, Unité RMN CHU Lyon sud, Lyon, France

⁴Anesthesiology department, Geneva University Hospital, Geneva, Switzerland

⁵Siemens Healthcare, Erlangen, Germany

⁶Inserm, ADR 05 Rhône Alpes, Lyon, France

Introduction. The use of external optical system has been demonstrated for the prospective and retrospective correction of rigid displacement of the anatomy during MR acquisition [1]. The purpose here was to use in-bore digital camera for monitoring in real time fiducial markers attached to the skin as direct estimators of the respiratory phase, in the context of interventional MRI for moving organs. Contrarily to conventional mechanical sensors (abdominal belt or pressure cushion) that are indirect predictors of organ motion [2], are operated user-dependent and may complicate the abdominal interventional procedures, our approach is versatile, user-independent and enables a large field of view for the motion estimation. We employed the in-bore optical tracking system for the detection of the quiet-phase of exhalation, this information being used for MRgHIFU treatment preparation and execution in sheep kidney and liver *in vivo*.

Material and method. A USB-driven digital camera was adapted in order to ensure its MR-compatibility (magnetic parts were removed and RF-shielding was added). Additional source of light was added (high power white LEDs) to improve image quality. In-house written C++ application based on OpenCV libraries was used to generate the triggers via a conventional DAC interface. Landmarks were automatically set on sharp edge-features in the optical ROI and their displacement was followed using a calculation of the optical flow based on iterative Lucas-Kanade method in pyramids [3].

An RF-spoiled segmented EPI gradient echo sequence was used for PRFS-based MR-thermometry (MRT) and acoustic radiation force (MR-ARFI) acquisitions. The MR-ARFI sequence included an additional symmetric bipolar motion encoding gradient (MEG) in the slice-select direction (max amplitude = 38 mT/m, slew rate = 100 T/m/s, duration = 4 ms) between the RF excitation pulse and the EPI readout. The main imaging parameters were: FOV = 128x128 mm, voxel = 1x1x5 mm, TE(ARFI) = 16 ms, TE(MRT) = 9 ms, echo spacing = 1.58 ms, HIFU-dedicated 3 channel interventional matrix coil, acquisition time 1.05 s/slice.

The MRgHIFU system consisted of a 256 multi-element transducer with a maximum acoustic power of 260 W, emitting 5.5 ms-long bursts for ARFI acquisitions and CW inside the gating window for ablative sonications. MR-guided HIFU *in vivo* liver (trans-costal) and kidney experiments were performed in sheep under general anesthesia and mechanical ventilation. For MR-ARFI acquisitions, twin successive acquisitions with alternating MEG polarity inside the same quite phase of respiration were used to encode the HIFU-induced tissue-displacement [4,5]. The repeatability of organs position was studied by measuring the in-plane position of their edges on magnitude images.

Results. The detection of the quiet-phase of exhalation based on in-bore optical acquisition allowed robust triggering of MR acquisitions and yield accurate ARFI and thermal maps (respective standard deviation of 0.3 μ m and 0.3 $^{\circ}$ C), without measurable motion-induced artifacts (e.g. no ghosting). The overall latency of the tracking system was found less or equal to 60 ms (maximum 35 ms for image reconstruction and external sender plus maximum 25 ms for optical flow calculation). The respiratory intra-cycle drift during the exhalation induced average kidney shift of 230 μ m between the twin MR-ARFI measurements, while the peristaltic drift-corrected standard deviation of respiratory inter-cycle organ position was found to be in average 70 μ m.

Conclusion. The use of in-bore optical tracking of the patient skin for the respiratory triggering/gating of MR-ARFI, MR-thermometry and HIFU sonication was demonstrated *in vivo* in sheep kidney and liver. This modality is “no touch” and keeps free of any external acoustic obstacle the HIFU beam entry window.

Références. **1.** Zaitsev *et al.* Neuroimage, 31(3):1038-50, 2006. **2.** Odille *et al.* MRM, 59(6):1401-11, 2008. **3.** Bouquet. OpenCV documentation, 2000. **4.** Plewes *et al.* JMRI, 5(6):733-8, 1995. **5.** Le *et al.* MRM, 55:700–705, 2006.

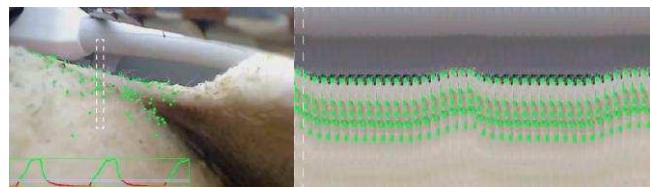


Figure 1. Optical camera-based tracking of landmarks on a sheep skin inside the 3T magnet bore. Camera was used as external sensor for the gating/triggering of MRgHIFU sonications.

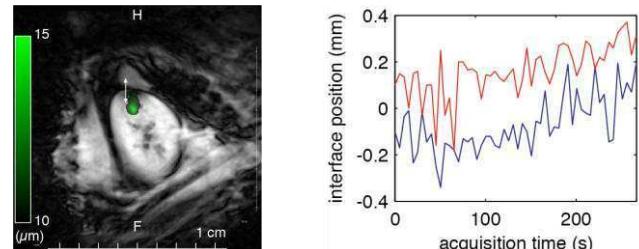


Figure 2. Example of respiratory-triggered MR-ARFI acquisition in a coronal plane (left frame) using the MR-compatible optical camera. Note the kidney border detected along the H/F direction. This value is plotted vs. time for the twin acquisitions of the same respiratory cycle (resp. red and blue curve - right frame).

Real-time treatment method with improved MR thermometry of mobile organs by MRgHIFU

Z. Celicanin¹, V. Auboiroux², O. Bieri¹, L. Petrusca², F. Santini¹, M. Viallon^{2,3}, K. Scheffler^{4,5}, R. Salomir^{2,6}

¹Radiological Physics, University of Basel Hospital, Basel, Switzerland

²Radiology Department, University Hospitals of Geneva, Geneva, Switzerland

³Creatis, Lyon, France

⁴MRC Department, MPI for Biological Cybernetics, Tübingen, Germany

⁵Dept. Neuroimaging, and MP-Physics, University of Tübingen, Tübingen, Germany

⁶Inserm, ADR05 Rhônes Alpes, Lyon, France

Introduction. High intensity focused ultrasound is a promising new technique for noninvasive thermal therapy of abdominal organs. Sustained sonication is required due to the high perfusion rate of organs such as liver and kidney. Abdominal motion and anatomical arrangement complicate the MRgHIFU treatment in this region (1). Previous method used fast MR imaging combined with 2D image registration to extract organ motion. Pencil beam navigator was used to correct out-of-plane motion (2). Here, a novel method for treatment of abdominal organs by HIFU and improved MR thermometry is presented.

Material and Method. Real-time PRF MR thermometry based on RF spoiled segmented gradient-recalled echo (GRE) echo-planar imaging (EPI), lipid suppressed using 1-2-1 binomial frequency-selective RF pulse, was modified to acquire one-dimensional navigator before each segment of GRE-EPI thermometry sequence. MR navigator was used to track the organ motion. This information was fed in real-time to HIFU system for focal point position correction, and used it is used for prospective motion correction of MR thermometry. In vivo and ex vivo experiments were performed. The following acquisition parameters were used for MR thermometry: TE/TR 8.69/80 ms, EPI factor 9, slice thickness 5 mm, in plane resolution $1.5 \times 1.5 \text{ mm}^2$, image matrix 128×128 , FOV $192 \times 192 \text{ mm}^2$. Reference-free reconstruction method was used for temperature calculation (3). The experiments were performed on a 3 T whole body MRI clinical scanner (MAGNETOM Trio – A TIM System, Siemens Medical Solutions, Erlangen, Germany) equipped with a 256 phased array HIFU device (+/- 15 mm electronic steering range). A standard Siemens loop receiver coil (11 cm diameter) was used for MR signal acquisition for ex vivo experiments, while the six-channel body phased-array coils as well as the table mounted spine matrix coils were used for in vivo experiments (sheep model under general anesthesia).

Results. Figure 1 shows exemplary ex vivo and in vivo thermometry images. The MR thermometry is motion corrected in both shown cases, hence blurring and ghosting artifacts are eliminated. The HIFU beam was applied with fixed focal point irrespectively of tissue motion, or with on-the-fly beam steering to lock the focal point on tissue motion.

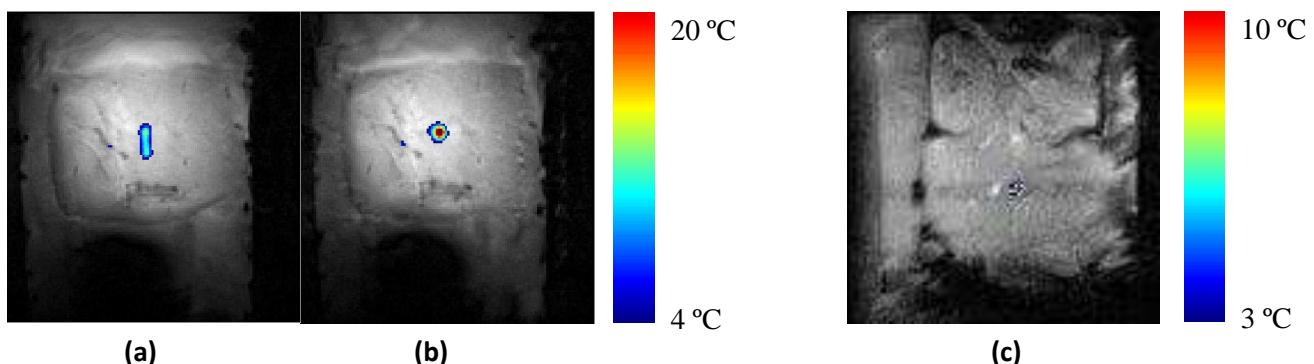


Figure 1. Ex vivo and in vivo exemplary MR thermometry images. Without (a) HIFU focal point position correction and with (b). In vivo thermometry image in sheep liver, motion-compensated trans-costal sonication (c). Note that all MR images are segment-based prospectively motion corrected.

Conclusion. The organ motion was compensated with millimeter range accuracy and high SNR with low geometrical distortion MR thermometry was achieved.

References

1. Rieke *et al.* JMRI, 27:376-390, 2008.
2. Ries *et al.* MRM 00:000-000 (2010).
3. Salomir *et al.* IEEE TMI, 31:287-301 (2012).

MRI measurements of 200 μ L intradermal gels using dedicated surface coils at 0.2T

Thomas Feuillet^{1,2}, Marie-José Seurin², Olivia Levener³, Olivier Beuf¹

¹Université de Lyon, CREATIS ; CNRS UMR 5220 ; Inserm U1044; INSA-Lyon; Université Lyon 1, Villeurbanne, France

²CIRMA, 1 avenue Bourgelat, 69280 Marcy l'Etoile, France

³Institut Claude Bourgelat, VetAgro-Sup, 1 avenue Bourgelat, 69280 Marcy l'Etoile, France

Introduction

Low-field MRI applied to veterinary imaging is mainly performed using coils dedicated to human anatomy. Those ones are therefore not optimized for mid-size animals. Two dedicated identical surface coils were designed and characterized to image and quantify the volume of intradermal sites filled with gel on rabbits. These coils were then set up in a quadrature mode to be able to acquire two sites simultaneously. The volume of the gel was quantified and followed.

Material and Methods

The MRI device was a $B_0=0.18\text{T}$ (E-Scan XQ, Esaote®). The geometry of 2 identical surface coils C1 ($\phi 20\text{mm}$ copper loop) was optimized to reach a maximum Signal-to-Noise Ratio (SNR) at the skin surface^{1,2}. SNR(C1) was compared to SNR(C2) (C2=Esaote $\phi 200\text{mm}$ knee volume coil) using a 2L saline phantom {50mM NaCl + 5mM NiCl₂}. Calibrated volumes of 200 μL of 5 distinct gels were injected at 10 intradermal sites on 4 rabbits. Since the SNR achieved with C1 was high enough, a quadrature setup was employed to acquire two sites during the same acquisition time, thus decreasing scan time per site. Two C1 coils were then set close to two sites (at least 50mm far from each other) at day-0, day-28 and day-84. The MR sequence used was a 3D Gradient Echo sequence ($T_R=51\text{ms}$, $T_E=24\text{ms}$, NEX=1, FA=85°, matrix=256x256x52 / FOV=120x120x31.2mm³). Volumes of the sites were quantified after threshold-based image segmentation, using a specific script written for ImageJ (accuracy of this method was established to ~5.8% for a 100 μL ex-vivo water Ependorf® volume estimation).

Results

SNR profiles of C1 and C2 clearly showed for C1 an increase in SNR (up to 12 fold, see Figure 1), compared to C2, while distance<20mm. MR images performed on the rabbits showed that SNR provided by C1 with the 3D sequence (Figure 1, top right image) are suitable to measure the volume of any injected gel. This was confirmed by reproducibility measurements. The quantified and monitored over time volume for gel #1 showed a significant swelling of the sites ($p<0.05$) from j0 to j28 and from j0 to j84, but not significant from j28 to j84 (Figure 2). The mean volume increase was about 185% for Gel #1 from j0 to j84.

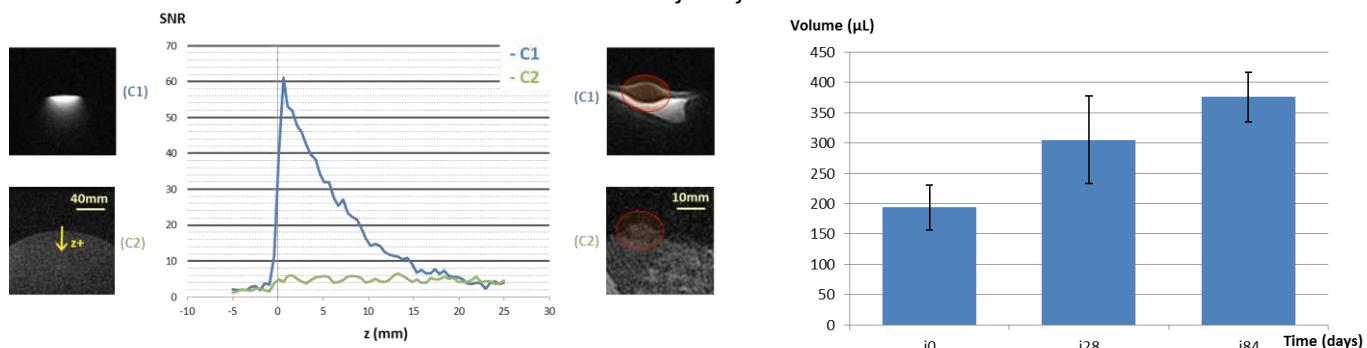


Figure 1: SNR(C1) in blue and SNR(C2) in green measure in a saline phantom.

Figure 2: Mean volumes of Gel #1 measured at j0, j28 and j84 for 5 sites.

Conclusion

The newly built C1 loop coils reached a gain in SNR of ~3.2 compared with the C2 reference volume coil at z=10mm (coil-to-site distance). The volumes of the injected gels on the rabbits were quantified and accurately followed using a dedicated coil associated to a high spatial resolution 3D sequence. A significant increase of the volume due to the body response at each site was observed. In quadrature setup, scan time of two sites lasted 10' instead of 20'.

References

1. Doty F.D. et al. NMR Biomed., Vol. 20: pp. 304–325.
2. HYDE J.S. et al. Encyclopedia of Magnetic Resonance.

**Validation of quantitative parameters of angiogenesis using fluorescence videomicroscopy
and DCE-MRI**

Fitoussi V¹, Terme M¹, Lémery M¹, Marcheteau E¹, Autret G¹, Balvay D¹, Pidial L¹, Tartour E¹, Taieb J¹,
Cuenod CA¹, Clément O¹, Fournier LS¹

¹ Université Paris Descartes, Sorbonne Paris Cité, Centre de Recherche Cardio-vasculaire (PARCC), Inserm UMR-S970, Paris, France

Objective: To validate the ability of two techniques (Dynamic Contrast Enhanced-MRI and Fibered Confocal Videomicroscopy) to distinguish different angiogenic statuses.

Materials and methods: The experiment was performed on murine colon tumor models (INSERM U970 Equipe 10) implanted subcutaneously in balb/c mice. The mice were treated with anti-angiogenic (AA) therapy (sunitinib) or placebo (DMSO) at a dose of 40mg/kg for 2 weeks by oral gavage. DCE-MRI and fibered confocal videomicroscopy were performed the same day before (early stage) and after treatment (sunitinib or placebo). For DCE-MRI, small molecular gadolinium contrast agent was injected (0.165 mmol/kg) and quantitative analysis was performed using in house PhysioD3D image processing software. Regions of interest were placed manually on the aorta (arterial input function) and on the tumor. We used a four parameters model quantifying tissue blood flow (F), tissue blood volume (Vb), capillary permeability (PS) and interstitial volume (Ve). For FCFM, macromolecular contrast agents were used (FITC-dextran of 500 and 70 kDa), and quantitative analysis of functional capillary density (FCD) was performed using automated segmentation. Permeability was quantified by index leakage (IL), a ratio between intravascular and perivascular signal intensities. We used a Wilcoxon test to compare the groups before and after treatment.

Results: A total of 21 mice were studied using DCE-MRI and 18 mice using FCFM. There was a difference in microcirculation parameters between early stage and AA-treated mice. Using DCE-MRI, F (mL/min/mL) was respectively 6.5 [2.4; 9.7] vs. 2.4 [2.0; 3.4], p=0.11; Vb (mL/mL) was 9.0 [4.3; 10.5] vs. 4.2 [1.2; 6.3], p=0.06. Using FCFM, the FCD (%) was 24.9 [21.8; 27.0] vs. 17.8 [17.0; 20.5], p=0.002, the index leakage (unitless) showed a difference at 5 min of observation with 12.4 [9.7; 18.3] vs. 26.1 [8.9; 45.8], p=0.03.

Conclusion: Our study showed that functional imaging techniques (DCE-MRI and FCFM) can distinguish differences in angiogenesis with a decrease of the number of vessels and their permeability after anti-angiogenic therapy.

References:

1. Folkman J. Tumor angiogenesis. *Adv Cancer Res.*, 43:175-203, 1985.
2. Cuenod CA et al. Tumor angiogenesis: pathophysiology and implications for contrast-enhanced MRI and CT assessment. *Abdom Imaging.*, 31(2):188-932006.

Optimization of Multi-pulse Methods in Ultrasound Contrast Imaging

F. Lin, C. Cachard, A. Bernard, O. Basset

CREATIS; Université de Lyon; CNRS UMR5220; INSERM U1044; INSA-Lyon; Université Lyon 1, Villeurbanne, France

Introduction

In ultrasound contrast imaging, harmonic imaging is commonly adopted because the microbubbles of the ultrasound contrast agents (UCA) are nonlinear scatterers and generate harmonic signals. However, the transmitted wave also creates harmonic signals during the propagation in surrounding tissues. Therefore, increasing the contrast-to-tissue ratio (CTR), an important parameter to judge the imaging quality, remains the goal of many researches. Second-harmonic inversion (SHI) imaging, a multi-pulse method based on two 90° phase-shifted transmissions, was demonstrated effective to reduce the tissue-generated harmonic signals^{1, 2}. Furthermore, previous researches have shown the second-harmonic amplitudes vary with axial bubbles motions, relative to the wave propagation direction³.

Material and Method

Based on the previous observation that the bubbles motion results in an additional phase shift on the received signals, the pulse repetition frequency (PRF) is proposed to be modified to optimize this multi-pulse method. A recursive method is suggested: the PRF is adjusted, according to the resulting CTR applying the previous PRF, until the best CTR is found.

In-vitro experiments were conducted on a fluid phantom (Dansk Fantom Service, Denmark) with circulating Sonovue UCA (Bracco, Geneva, Switzerland). Two 90° phase-shifted pulses were transmitted, and the received signals were summed and filtered at second-harmonic band, to form the SHI image. The CTR was calculated and then adjusted the PRF. When the CTR value was higher than both the previous and the next values, the corresponding PRF was regarded as the optimal PRF.

Results

Fig. 1 shows two SHI images without and with the optimal PRF. The transmitted pulses were 7-cycle and 1.7 MHz sine with Hanning envelope. The CTR was improved from 15 dB without the optimal PRF to 31 dB with the optimal PRF. So the improvement reaches 16 dB.

Conclusion

The PRF can be adjusted to optimize automatically the multi-pulse methods in ultrasound contrast imaging.

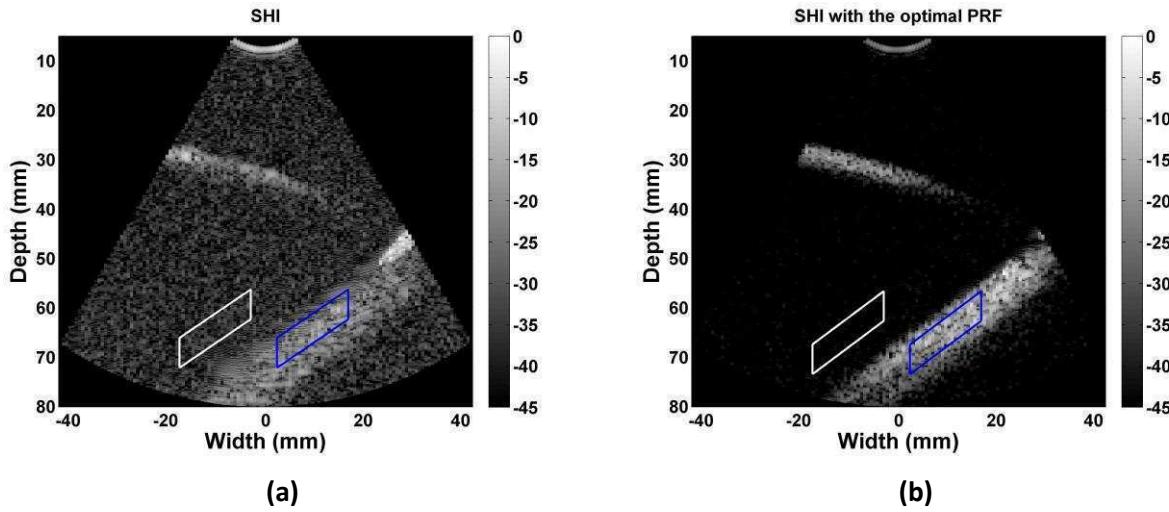


Fig. 1. SHI images of a fluid phantom with circulating contrast agents. (a) SHI image with two 90° phase-shifted transmissions. (b) SHI image with the optimal PRF after 5 adjustments of PRF. With the optimal PRF, the CTR was improved by 16 dB.

References

1. Pasovic et al. Physics in Medicine and Biology, vol. 56, no. 11, pp. 3163–3180, 2011
2. Lin et al. IEEE International Ultrasonics Symposium, pp. 2440-2443, 2011.
3. Lin et al. IEEE International Ultrasonics Symposium, In press, 2012

Comparisons of HR-MRI with µCT arthrography (µCTA) for the morphological assessment of non-human primate models of osteoarthritis

A-L. Perrier¹, E. Chereul², D. Grenier¹, F. Taborik³, M. Abdallah¹, T. Chuzel², S. Martin², L. Magnier², X. Pesesse⁴, S. Pietri⁵, H. Contamin³ and O. Beuf¹

¹Université de Lyon, CREATIS CNRS UMR 5220; Inserm U1044; INSA-Lyon; Université Lyon 1, Villeurbanne, France ; ²VOXCAN, Marcy l'Etoile, France ; ³Cynbiose, Marcy l'Etoile, France ; ⁴Bone Therapeutics, Grosselies, Belgium; ⁵Laboratoire de Rhumatologie, Hôpital Erasme, ULB, Bruxelles, Belgium.

Introduction

Osteoarthritis (OA) that closely resembles to the human condition occurs naturally in primate and these animals could be used to model the human disease. Non-invasive techniques to measure and qualify in-vivo the cartilage thickness in animal model of OA have been developed. Established reproducibility confirmed that 3D HR-MRI could directly assess the cartilage thickness on guinea pigs (1) and recent instrumental developments demonstrated that volume quantification in the different compartments of the cartilage can be achieve on rat models of OA (2). Nonetheless, spatial resolution is limited compared to CT scanner. The aim of this work was (i) to develop a dedicated protocol for knee joint examination of cynomolgus primates at 1.5T and with µ-CT arthroscanner (µCTA); (ii) to compare morphological parameters assessed based on MRI and µCTA acquisitions on a group of 10 old primates with spontaneous OA.

Material and Method

The MRI experiments were performed on a 1.5T Siemens Sonata system. A pair of two-channel array coil was built on a thermoformable plastic support with about 32 mm outer diameter. Each element consists in a rectangular loop (30 x 35 mm² internal dimensions with 5 mm width and 35µm thickness copper track) etched on a flexible 508µm thick substrate. The decoupling between the two channels was achieved with optimal coil overlapping to minimize coupling between the two elements. The ethical guidelines for experimental investigations with animals were followed, and the experimental protocol was approved by the Animal Ethics Committee of our institution. Ten female primates between 12 and 18 years old (mean 13.8±1.8) were examined. The primates were placed in supine position with both dual array coils was placed on top of patella to encompass the whole knee joint. A minimum distance of 100 mm between both knees was keep to insure at least 20dB decoupling between internal coil elements located at medial sides. HR-MRI was performed in the sagittal plane using a 3D water excitation FLASH sequence. A total of 120 partitions (220 µm thick) were acquired with an in-plane pixel of 112 x 131 µm². The scan time was 20 min. µCTAs were performed on a GE Locus µ-CT at standard voltage and amperage parameters with an isotropic resolution of 90µm. The scan time was 15 min. For each animal, both knees were sequentially scanned. 3D thicknesses of the tibial plateau cartilage layers were assessed both on lateral and medial sides of the knee by using the same image processing protocol for each kind of acquisitions (MRI and µCTA). This protocol consisted in a double segmentation procedure: a first rough and manually handled contour segmentation to isolate the cartilage regions of interest (ROI) and avoid any divergence of the second region automatic global segmentation procedure which accurately extracts the morphology of both medial and lateral cartilage ROIs. Parameters of the second segmentation procedure were adapted for MRI or µCTA acquisitions. Inside the cartilage ROIs, the quantification of cartilage thicknesses was performed following the method previously described (3).

Results

In vivo images acquired with the array coil associated with the HR-MRI protocol nicely depicted the cartilage. Such acquisitions were suitable to apply the segmentation procedure leading to articular cartilage volumes and thickness distributions. In the examined group of old female primates, a coherent description with both imaging modalities was observed with superimpose 3D thickness distributions measured on the same animals. Both imaging approaches gave similar normalized cartilage thickness distributions on the same animals. The presence of spontaneous OA was established (narrower thickness distribution) among the animals.

Conclusion

Both imaging modalities appear valuable to measure cartilage morphology (volume and thickness). The choice of one on the other could be done based on imaging systems available or on additional information needs such as indirect cartilage structure (T2, T1rho...) for MRI or subchondral bone density for µCTA.

References

1. R. Bolbos et al., *Osteoarthritis Cartilage* 15:656-65 (2007).
2. JC. Goebel et al., *Rheumatology* 49:1654-1664 (2010).
3. T. Hildebrand and P. Ruegsegger, *J Microsc* 185:67–75 (1997).

Acknowledgment: This work is funded by OSEO by grant E! 5671 from the Eurostars European program.

Partial Volume Estimation in Magnetic Resonance Imaging : a signal-based model

Quentin Duché^{1,2,3,5}, Oscar Acosta^{1,2}, Isabelle Merlet^{1,2}, Giulio Gambarota^{1,2,3}, Olivier Salvado⁵ and Hervé Saint-Jalmes^{1,2,3,4}

¹ Université de Rennes 1, LTSI – Rennes, F-35000, France

² INSERM U1099, Rennes, F-35000, France

³ PRISM-Biosit, CNRS UMS 3480 – Biogenouest, Rennes, F-35000, France

⁴ CRLCC, Centre Eugène Marquis – Rennes, F-35000, France

⁵ CSIRO ICT Centre, The Australian E-Health Research Centre, Brisbane, Australia.

Introduction

Accurate quantification of small structures in magnetic resonance (MR) images is often limited by partial volume (PV) effects which arise when more than one tissue type is present in a voxel. Different image processing methods have been proposed. Here, we describe a signal-based method to estimate PV by modeling the MR signal per voxel with at most two magnetic contributions representing two tissues in each voxel. It is based on sound physical grounds and tackles a well-known problem from the acquisition point of view.

Material and Methods

Based on the bi-exponential formulation, fractional contents can be retrieved by solving a linear system of two equations with two unknowns, namely tissue magnetizations. The mixing of tissues is explicit at each voxel in the bi-exponential model. Then, it becomes implicit, when reduced to a linear system solved per voxel, thereby leading to a strong robustness to high RF inhomogeneities. The idea strongly relies on the novel-of-the-art acquisition methods such as MP2RAGE and its derivatives (FLAWS) which are becoming product sequences on clinical scanners. This method requires two co-registered images acquired with different parameters.

The first tests were conducted on images acquired on a physical phantom composed of two gel-layers simulating respectively GM and white matter (WM) tissue relaxation properties. We varied the partial volumed zone (PVZ) by gradually rotating the acquisition plane by 5° from the middle of the GM/WM interface. Each position was acquired twice with a Spin Echo sequence of parameters TR1=800ms and TR2=3600ms on a Bruker Biospec 4.7T scanner. Those parameters have been optimized for this purpose by running Monte Carlo simulations minimizing the error on fractional contents for two tissues. The PVZ were measured on the fractional contents maps and were confronted to the theoretical size given by the conditions of acquisition (slice thickness and orientation). Preliminary *in vivo* tests were also conducted on a FLAWS sequence.

Results

The PV protocol used on the physical phantom gave errors inferior to the voxel resolution, showing good agreement with the theoretical measurements of the PVZ.

Conclusion

We proposed a simple and fast method to accurately estimate fractional content of tissues using a bi-exponential model. It is intrinsically robust to RF inhomogeneities as the signal is identically biased in the two images. It gives a numerical estimation of the fractional contents most of the common use heavy computationally models. It may be easily implemented.

Références – References

1. Shattuck et al. *Neuroimage* 13 (2001), 856-876.
2. Marques et al. *Neuroimage* 49(2) (2010), 1271-1281.
3. M. Tanner et al. *J Magn Reson Imaging*. (2011) doi: 10.1002/jmri.23532

Développement d'un dispositif d'excitation mécanique à haute fréquence pour l'ERM du petit animal

K. Tse Ve Koon, R. Blanchard, O. Beuf, D. Grenier

Université de Lyon, CREATIS, UMR CNRS 5220, Inserm U1044, INSA-Lyon ; Université Lyon 1, Villeurbanne, France

Introduction

L'élastographie est une technique d'imagerie maintenant reconnue pour la caractérisation tissulaire. Son but est de produire une cartographie des paramètres viscoélastiques des tissus examinés. Ce type d'information présente un intérêt en diagnostic clinique car le développement d'une pathologie s'accompagne souvent de modifications dans les propriétés mécaniques des tissus [1]. Un examen médical simple utilisé en première intention sur les organes accessibles est la palpation dont l'efficacité reste limitée à la détection d'anomalies superficielles et de taille relativement importante. L'élastographie, s'appuyant sur l'imagerie par RM ou ultrasonore, a ainsi été développée comme une technique de palpation à distance pour permettre une détection plus précoce et une caractérisation des lésions. L'élastographie par résonance magnétique (ERM) [2] repose sur la génération et l'étude de la vitesse de propagation d'ondes de cisaillement, conduisant à des cartographies du module de cisaillement estimé G (Fig c)

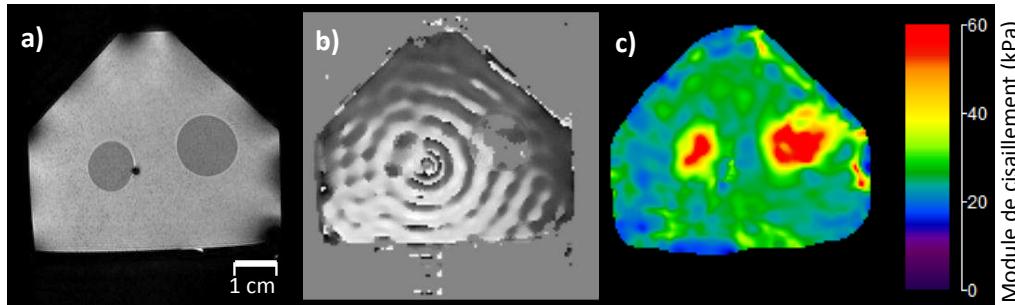
Matériel et méthode

L'objectif étant de travailler sur des modèles de rats ou souris, il est dès lors impératif de travailler à des fréquences suffisamment élevées afin d'avoir une résolution correcte au regard des dimensions des organes étudiés. Dans ce travail, nous présentons un dispositif développé afin d'acquérir des images ERM sur un imageur petit animal. Les performances du dispositif et de la séquence associée ont été validées sur des fantômes tests calibrés.

L'imageur utilisé est un imageur petit animal *Bruker* à 4,7 T. La génération des ondes de cisaillement se fait avec un excitateur piézoélectrique pouvant monter jusqu'à 1.5 kHz. Les premières images obtenues ont été réalisées sur un fantôme d'Agar à 2% (concentration massique) avec des inclusions (cylindriques) de 3%. La séquence utilisée est de type RARE avec $T_E/T_R/\text{Rarefactor} = 65\text{ms}/1500\text{ms}/4$ avec des gradients de sensibilisation au mouvement de formes sinusoïdales ou trapézoïdales. L'excitation mécanique est générée par une pointe amagnétique en contact avec le fantôme (point noir sur la fig. a). Une séquence de type spin-écho a été choisie pour ces tests afin de s'affranchir des effets d'inhomogénéité de champ magnétique.

Résultats

Sur la Fig. 1 sont illustrées les images obtenues lors de nos acquisitions et reconstructions ; a) image de référence (en module) obtenue avec une RARE (sans gradient de sensibilisation), b) l'image de phase illustrant la propagation de l'onde de cisaillement au sein du fantôme et c) l'élastogramme reconstruit. Le gradient de sensibilisation est de forme sinusoïdale, il a une fréquence de 1 kHz et est dirigé à travers le plan de l'image i.e. dans la même direction que le mouvement induit. Ce dernier a une amplitude d'environ 60 μm. Les modules de cisaillement calculés sont conformes aux valeurs données dans la littérature à des fréquences similaires. Pour les images illustrées, 16 cycles de gradients de sensibilisation ont été utilisés.



Conclusion

Un dispositif permettant de faire de l'ERM à des fréquences compatibles avec une application petit animal a été développé en utilisant une séquence de type RARE. Le module d'élastographie étant maintenant validé, nous nous attachons à l'implanter sur des séquences plus appropriées aux études in-vivo comme les séquences EPI et true-FISP.

Références

1. Krouskop T.A. et al., Ultrasonic Imaging, Vol.20, pp. 260-274, 1998.
2. Muthupillai R. et al., Science, 269 ; 1854-57, 1995.

Imaging and tracking in 3D gold nanoparticles in cell environment by using digital heterodyne holography

F. Joud¹, F. Verpillat¹, M. Abboud², P. Desbiolles¹ and M. Gross³

¹Laboratoire Kastler Brossel UMR 8552 CNRS-ENS-UPMC 24 rue Lhomond 75005 Paris

²Université Saint Joseph Beyrouth Liban

³Laboratoire Charles Coulomb - UMR 5221 CNRS-UM2 place Eugène Bataillon 34095 Montpellier

Introduction :

Gold nanoparticles provide high scattering efficiencies, are immune to photo bleaching, are potentially non-cytotoxic and can be easily functionalized in cell. They are good bio marker candidates. In recent papers, we have imaged 40 nm gold nanoparticles attached to the cell membrane by using heterodyne holography [1,2], and localized and tracked in 3D gold particles in brownian motion in water [3]. We present here images of 40 nm particules attached to the cell membrane, but with much better image quality than in [1,2]. We show also preliminary results of 50 nm gold particules localized and tracked in 3D within cell.

Matérial and methods :

For the imaging experiment, fibronectin-functionalized 40 nm gold particules (BioAssay System) are linked to intergrins membrane receptors of 3T3 cells and imaged by using a digital holographic microscopy setup with off axis dark field illumination (total internal reflection with a prism). For the tracking experiment, GFP-functionalized 50 nm gold particules are introduced within cell by pinocytose and imaged by using a multimodal (digital holography + fluorescence) inverted microscope that uses a reflective objective to provide on axis dark field illumination.

Results

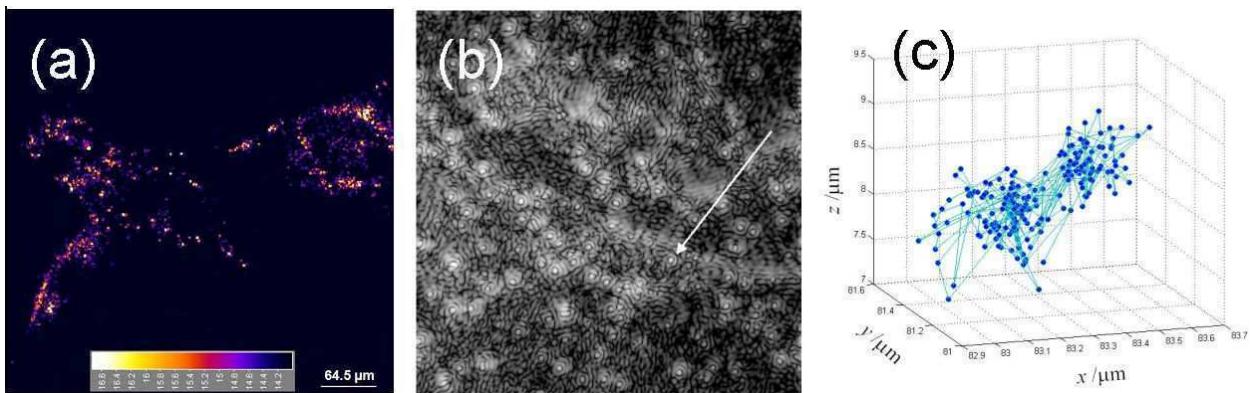


Figure (a) shows a typical holographic reconstructed image a 3T3 cell tagged with 40 nm particules. Movies show that the particules do not move. The signal of the particules do not blink, while the signal scattered by the cell itself fluctuates and blinks. Figure (b) shows an image of 50 nm particules introduced within cell by pinocytose. Most of the particules are adsorbed on the glass window of the petri dish and do not move. Some particules (white arrow) move. They can be localized and tracked in 3D as seen on Fig. (c). The motion remains nevertheless localized within a few microns by cage effect.

Conclusion

We succeed in using 40 nm gold particules as biomarker since we have imaged, localized and tracked in 3D these particules by digital holography. To get useful biological information, it will be nevertheless necessary to observe the sample over longer time.

References

1. N. Warnasooriya et al Optics Express, 18 p3264-3273 (2010)
2. F. Joud et al 3D Research 2 p1-8, (2011)
3. F. Verpillat, et al. Optics Express, 19 p26044- 26055 (2011)

Scanner spectral à comptage photonique : Application à l'identification des composants de la plaque d'athérosclérose coronaire.

Introduction

Les scanners mono et bi-énergie ne permettent pas d'identifier avec précision les éléments de la plaque d'athérome en raison de leur manque de résolution spatiale et spectrale. Nous avons évalué les capacités du scanner spectral à comptage photonique à faire la distinction entre les différentes composantes des plaques d'athérome coronaires.

Matériels et méthodes

10 plaques calcifiées et 13 plaques riches en lipides, issues d'artères coronaires humaines prélevées en post-mortem, ont été scannées avec un scanner spectral à comptage photonique et analysées histologiquement. Après la traversée de l'échantillon, chaque photon individuel était compté et classé en fonction de son énergie selon 6 niveaux, de 25 à 70 keV. Basé sur une approche du maximum de vraisemblance, les cartes de l'absorption photoélectrique, de la diffusion Compton et de la concentration d'iode (technique de k-edge) étaient alors reconstruites. Des mesures de valeur moyenne dans des régions d'intérêt tracées à la main par deux radiologues expérimentés ont ensuite été effectuées sur chaque carte dans la paroi de l'artère, la graisse périvasculaire entourant le vaisseau, les plaques calcifiées et celles riches en lipide. Les valeurs d'absorption photoélectrique et de diffusion Compton sont exprimées par rapport aux valeurs de l'eau pure. La comparaison entre ces différents composants a été effectuée à l'aide de tests de Mann Whitney avec une correction de Bonferroni.

Résultats

Les valeurs obtenues pour la paroi de l'artère, la graisse périvasculaire, les plaques calcifiées et les plaques riches en lipides étaient respectivement de 1.19+/-0.09, 0.73+/-0.05, 17.79+/-6.70, 1.08+/-0.14 pour l'absorption photoélectrique; 0.96+/-0.02, 0.83+/-0.02, 2.53+/-0.63, 0.91+/-0.03 pour la diffusion Compton et 83.3+/-10.1, 37.6+/-8.1, 4.9+/-20.0, 55.2+/-14.0 mmol/l pour les concentrations d'iode, avec une différence significative entre tous les tissus pour chacune des méthodes ($p < 0,008$).

Conclusion

Le scanner spectral à comptage photonique est une technique prometteuse pour identifier les composants de plaque d'athérosclérose en analysant non seulement les différences de concentration d'iode entre les tissus (après utilisation d'agent de contraste iodé), mais aussi l'absorption photoélectrique et la diffusion Compton de ces tissus.

Real-time online monitoring of the ion range by means of prompt secondary radiations

E. Testa⁽¹⁾, L. Balleyguier⁽¹⁾, J. Baudot⁽²⁾, S. Brons⁽³⁾, L. Caponetto⁽¹⁾, M. Dahoumane⁽¹⁾, D. Dauvergne⁽¹⁾, S. M. Deng⁽¹⁾, R. Della Negra⁽¹⁾, M. De Rydt^{(1),(4)}, G. Dedes^{(1),(3)}, N. Freud⁽⁵⁾, J. Krimmer⁽¹⁾, J.M. Létang⁽⁵⁾, H. Mathez⁽¹⁾, K. Parodi⁽³⁾, M. Pinto⁽¹⁾, C. Ray⁽¹⁾, M.-H. Richard^{(1),(5)}, V. Reithinger⁽¹⁾, I. Rinaldi⁽³⁾, F. Roehlinghoff^{(1),(5),(6)}, M. Winter⁽²⁾, Y. Zoccarato⁽¹⁾

⁽¹⁾ IPNL, Université de Lyon, Université Claude Bernard Lyon 1, CNRS/IN2P3 France, ⁽²⁾ Université de Strasbourg, CNRS/IN2P3, Institut Pluridisciplinaire Hubert Curien, 23 rue du Loess 67037 Strasbourg, France, ⁽³⁾ Heidelberg Ion Beam Therapy Center (HIT) and Department of Radiation Oncology, Heidelberg University Clinic, D-69120 Heidelberg, Germany ⁽⁴⁾ Instituut voor Kern- en Stralingsfysica, KU Leuven, Celestijnenlaan 200D, B-3001 Leuven, Belgium ⁽⁵⁾ Université de Lyon, CREATIS ; CNRS UMR5220 ; Inserm U1044 ; INSA-Lyon ; Université Lyon 1 ; CLB , France. (6) Ion Beam Applications SA, Louvain-la-Neuve, Belgium

Prompt secondary radiations such as gamma rays and protons can be used for real time control of the ion range during ion therapy. We present a review of the ongoing activities by the Lyon collaboration, in terms of detector developments and physical issues concerning the correlation between the physical dose and hadronic processes.

- **Prompt-gamma imaging:** during an irradiation, photons in the range 1-10 MeV are emitted almost isotropically within much less than a picosecond after nuclear reactions. Therefore, a dedicated collimated detection setup may provide real-time information on the location of fragmentation [1]. This can be done with a collimated gamma camera [1], [2] or a Compton camera [3], provided time of flight is used to discriminate between direct photons and background scattered particles like neutrons.
- **Proton Interaction Vertex Imaging:** during carbon therapy, secondary protons are – more surprisingly – also helpful for real-time determination of the ion range, even for deep-seated tumors where the residual range for protons to escape the patient in forward direction reaches 10 cm [5]. A tracking system with thin silicon pixel detectors is used to image the interaction vertices that are shown to be correlated to the carbon range [6].
- A common **beam tagging hodoscope** is developed for both applications, where the incident position and the time of each particle (or bunch of particles) need to be identified. It consists of a X,Y scintillating fibers array, read by flat panel photomultipliers and a dedicated fast electronics [7].
- **Geant4 simulations** are performed to reproduce both the dose profile (including the displaced dose deposited by secondaries) and the emission of secondaries. A proper tuning of the hadronic models was necessary to reproduce satisfactorily the prompt gamma and charged particle yields [8], [9]. Such simulations are also used to design the detection setups described above.

This work is supported by the FP7-ENVISION program (WP3 and WP6), the FP7-ENTERVISION program, the FP7-ULICE program, the ITMO Cancer et Technologie pour la Santé within the ‘Plan cancer 2009-2013’, the ANR Gamhadron project, the Rhône-Alpes Regional Program for Hadrontherapy Research, the MI2B GDR, and the LabEx PRIMES.

References

- [1] E. Testa et al., "Dose profile monitoring with carbon ions by means of prompt-gamma measurements", Nuclear Instruments and Methods B 267 (2009) 993
- [2] M. Testa et al., "Real time monitoring of the Bragg-peak position in ion therapy by means of single photon detection", Radiat. Environ. Biophys., 49 (2010) 337-343,
- [3] F. Roehlinghoff et al., “Design of a Compton camera for 3D prompt- imaging during ion beam therapy”, Nuclear Instruments and Methods in Physics Research A 648 (2011) S20-S23
- [4] D.Dauvergne and W. Enghardt, “Compilation of gamma-ray yield data”, ENVISION report D3.1, February 2012
- [5] P. Henrique et al., “Ion-range monitoring during carbon ion therapy by means of interaction vertex imaging (IVI) with secondary protons: a feasibility study”, to be published in Phys. Med. Biol (2012)
- [6] V. Reithinger et al., “Proton Interaction Vertex Imaging with silicon-pixel CMOS telescopes for carbon therapy quality control”, abstract submitted to IEEE-NSS-MIC 2012
- [7] M. DeRydt et al., “Real-time monitoring during ion therapy – Development and evaluation of a beam hodoscope and its dedicated electronics”, abstract submitted to IEEE-NSS-MIC 2012
- [8] F. Le Foulher et al., "Monte Carlo simulations of prompt-gamma emission during carbon ion irradiation", IEEE Trans. Nucl. Sciences 57 (2010) 2768
- [9] G. Dedes et al., “Monte Carlo nuclear models evaluation and improvements for real-time prompt gamma-ray monitoring in proton and carbon therapy”, abstract submitted to IEEE-NSS-MIC 2012

Elliptically Polarized Light for Depth Resolved Optical Imaging

Anabela Da Silva,¹ Carole Deumie¹ and Ivo Vanzetta²

¹Institut Fresnel, CNRS, Aix-Marseille Université, Ecole Centrale Marseille, Campus de St Jérôme, 13013 Marseille, France

²Institut des Neurosciences Cognitives, CNRS UMR 6193, Aix Marseille Université, 31 ch Joseph Aiguier, 13009 Marseille, France
anabela.dasilva@fresnel.fr

Introduction

Using elliptically polarized light allows performing a selection of a well defined subsurface volume in a turbid medium. This offers the possibility to probe biological tissues in depth. The method and preliminary results obtained on Intralipid® phantoms are presented. The method's performance is tested on a biological phantom (chicken breast) and, finally, on the exposed cortex of an anesthetized rat.

Matériel et Méthode - Material and Method

The technique is based on a polarimetric selection of the photons. Intuitively, when travelling through the medium, polarized photons will maintain their state of polarization to a different extent, depending on the absorption or scattering events, that is, according to the transport mean free path (mfp). The approach we propose is based on the fundamental findings that, for most of the studied biological tissues, circularly polarized light maintains its polarization deeper inside a scattering medium than linearly polarized light [1]. Moreover, we show that it is possible to tune the probed depth as a function of the polarization ellipticity, thus allowing to screen the tissue at any depth, between the surface and a maximum depth defined by the maximum penetration depth of the circularly polarized photons.

The experimental setup [2] is composed with a halogen light lamp for illumination. The beam is homogenized through a telecentric objective, and wavelength filtered with an interference chromatic filter (635 nm, 10nm FWHW). The detector is a CCD camera with an objective for detection. The incident beam passes through a polarizer and quarter wave plate. In the detection path there are also a quarter wave plate and an analyzer. The relative rotation angle between polarizers and quarter wave plates is tuned such as to obtain the desired polarization for illumination and detection. Experiments were performed under different illumination/detection schemes: i) 'collinear' detects surface plus volume scattered signal; ii) 'crosslinear' detects only volume scattered signal; iii) co-elliptical detects subsurface signal and volume scattered signal. A series of data were acquired on a liquid phantom composed with aqueous intralipid® solution at adequate concentration. A target in the form of a ruler has been placed obliquely in the tank. The second phantom is a piece of chicken breast. A graphite sticks (diameter= ca. 1mm) have been inserted obliquely and imaged. The technique has been tested in vivo the exposed cortex of an anesthetized rat.

Résultats – Results

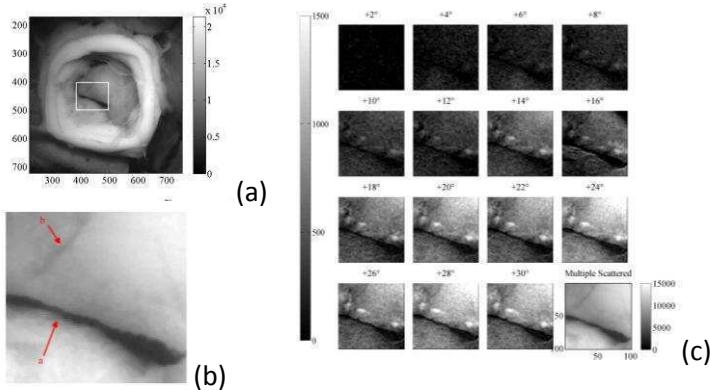


Fig. 1: Rat cortex examination: (a) White light image of the imaging window with a large field of view, white rectangle marks the reduced field of view in which the image processing is performed (b). (c) 'middle' channels images, obtained at different degrees of ellipticity, the angle value measures the angle between the polarizer and the illumination quarter-wave plate. The same grey level scale was used for all images. Last image on the right, deep channel image obtained under crosslinear detection, with the same field of view but different grey level scale (see colorbar). Pixel size: 42 µm. Adapeted from [2]

Conclusion

Our results suggest that the 'middle' channels allows to probe subsurface volumes, well defined and dependent on the optical properties of the medium, producing images free of surface and deep volume scattering contaminations. The method is thus suitable to image selectively from sub-volumes at specific, selected, depths. In this sense, the presented approach constitutes a first step towards functional optical imaging at user-selected depths within the tissue.

Références – References

1. S. P. Morgan *et al.*, Optics Letters, 28 (2), 2003. Premier auteur *et al.* Journal, numéro:pages, année. (Calibri 10)
2. A. Da Silva *et al.*, Biomedical Optics Express, 2012

3D tracking of gold particles in cell by using heterodyne digital holography

F. Verpillat¹, F. Joud¹, P. Desbiolles¹, and M. Gross²

¹Laboratoire Kastler Brossel UMR 8552 CNRS-ENS-UPMC 24 rue Lhomond 75005 Paris)

²Laboratoire Charles Coulomb - UMR 5221 CNRS-UM2 place Eugène Bataillon 34095 Montpellier

Introduction

We have developed recently [1] a dark field digital holographic microscopy (DHM) technique which uses a reflecting objective. Since the technique is free of standing waves, it can be used to track the motion of particles. We present here first results of tracking $d=50$ nm particles in brownian motion in living cells.

Material and Method

The $d=50$ nm gold particles are brought into HeLa cells by Pinocytosis [2,3] with initial particles concentration 10^{-9} m/l. The particles are labeled with streptavidin, and many particles aggregates. Although the illumination beam is focalized on the sample (waist diameter $200\text{ }\mu\text{m}$, 250 W/cm^2), the dark-field configuration prevents the saturation of the CCD chip. The details of the optical setup and of the holographic reconstruction, and tracking calculations are given in [1].

Results

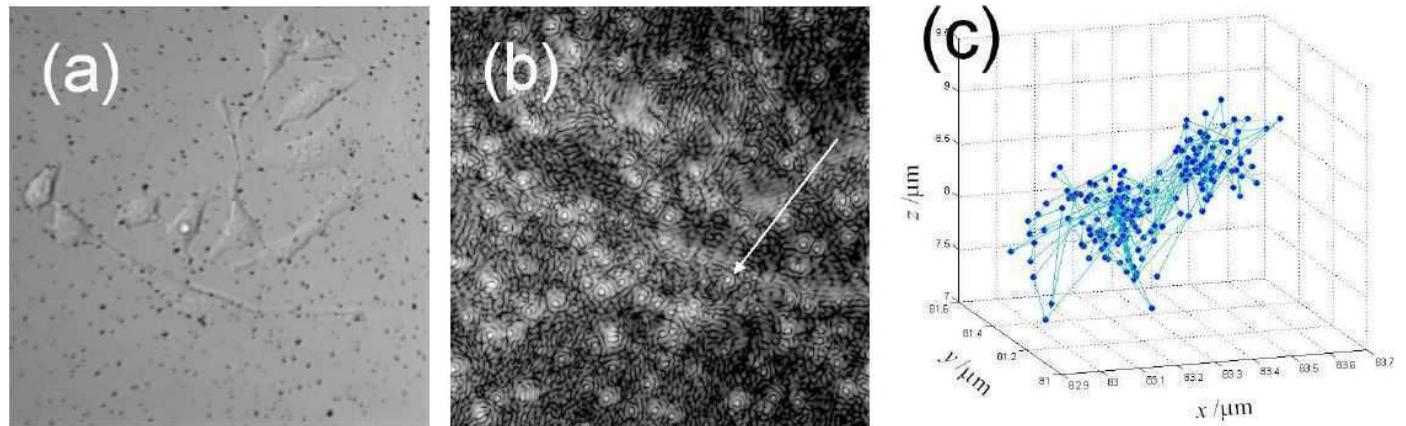


Figure 1 shows white light (a) and holographic reconstructed images (b) of the HeLa cell sample. Most of the points, dark in (a), and bright in (b), correspond to particles or aggregates attached to the coverslip. They do not move. Some of the points like the one marked by the white arrow move slightly. They correspond to particles in motion within the cell. We have tracked the moving particle marked by the arrow, and we have plotted its 3D motion on Fig. 1 (c). Since there is no standing waves, the particles can be tracked for long sequences of images (400 images or steps). For clarity, we have displayed only 200 steps of the motion. As it can be seen, the particle in motion remains located in a confined region of the 3D space. We interpret this as a cage effect related to the cell cytoskeleton. It could be interesting to analyze in detail this effect, which should depend on the particle diameter.

Conclusion

Using the dark field holographic microscopy we have tracked gold particles in brownian motion in living cells. The particles remain confined to a region a few microns in size. We interpret this as a cage effect related to the cell structure.

References

1. F. Verpillat et al. Optics Express, 19 p26044–26055 (2011)
2. C.Y. Okada et al. Cell, 29 p33–41 (1982)
3. R.D. Park et al. Journal of cellular physiology, 135 p443–450 (1988)

3T3 cells labeled with 40 nm gold particules imaged by heterodyne holography

F. Joud¹, Verpillat¹, M. Abboud², and M. Gross³

¹Laboratoire Kastler Brossel UMR 8552 CNRS-ENS-UPMC 24 rue Lhomond 75005 Paris)

²Université Saint Joseph Beyrouth Liban

³Laboratoire Charles Coulomb - UMR 5221 CNRS-UM2 place Eugène Bataillon 34095 Montpellier

Introduction

With recent developments in the fields of nanotechnology and modern optical microscopy, the use of nanometric particles as biomarkers in biological specimens has been rapidly increased. Colloidal gold nanoparticles have gained popularity over other biomarkers for several reasons. First, gold nanoparticles provide high scattering efficiencies. Second, unlike fluorescent markers, they are immune to photo bleaching, and they are potentially non-cytotoxic, which provides a great advantage over semiconductor nanoparticles. In a recent papers [1,2] we use heterodyne Digital Holography [3] to image and localise in 3D d=40nm gold nanoparticles attached to the surface receptors of living cells. By using the same technique, we get new results with an important improvement of the image quality.

Material and Method

Fibronectin-functionalized d = 80, 60 and 40 nm gold particules (BioAssay System) are linked to intergrins membrane receptors of 3T3 cells and imaged by using a digital holographic microscopy setup with off axis dark field illumination (total internal reflection with a prism).

Results

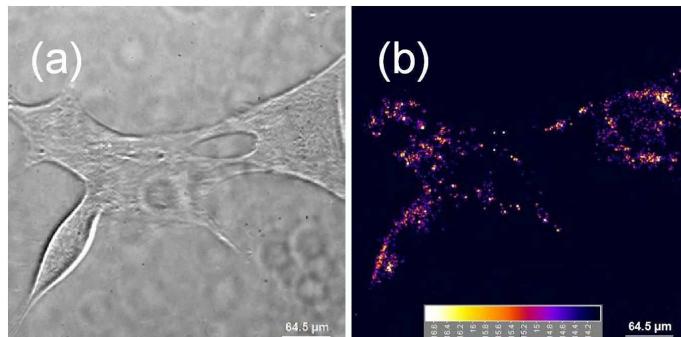


Figure shows the results obtained with d = 40 nm particules: direct white light images (a) and reconstructed holographic intensity image (b). The reconstruction is done using 32 frames of the camera with an exposure time of 80 ms per frame. The holographic reconstruction distance is adjusted in order to maximize the brightness of the particules. The background signal corresponds to the signal scattered by local changes of the cell refractive index, which yields the signal seen in dark field microscopy. The quality of the reconstructed image shows an important improvement over the images presented in previous publications [1, 2]. This improvement can be attributed to the following accounts: (i) the wavelength of the laser is resonant with the surface plasmons of gold particles; (ii) the samples are washed with HBSS prior to the observation: an important amount of free gold conjugates are thus eliminated; (iii) optimized fibronectincoated gold conjugates are used. Better results are obtained with 40 nm compared to 60 or 80 nm particules. This yields the following assumption: the interaction of cells with 40 nm gold conjugates seems much efficient than their interaction with 80 and 60 nm gold conjugates. In other words, the interaction probability between a fibronectin-coated gold particle and an integrin receptor increases when the size of the gold conjugates decreases. This effect has been experimentally observed. In fact, when we add 80 or 60 nm gold markers to the cell culture dish, the number of cells that interact with the markers is low. However, when 40 nm marker are used, lot of cells on the culture slide create links with these markers.

Conclusion

40 nm gold particules can be used as biomarker, but it would be useful to observe the sample over longer time.

References

1. N.Warnasooriya et al. Optics Express, 18: p3264-3273 (2010)
2. F. Joud et al. 3D Research, 2: p 1-8 (2011)
3. F. Le Clerc et al. Optics Letters, 25 :p716-718 (2000)

Elastographie-IRM du cerveau par ondes de pression

Marion Tardieu¹, Marie Poirier-Quinot¹, Ralph Sinkus², Luc Darrasse¹ et Xavier Maître¹

¹Imagerie par Résonance Magnétique (UMR8081), IR4M, CNRS, Univ Paris-Sud, Orsay, France

²Centre de Recherches Biomédicales Bichat-Beaumon (UMR773), CRB3, Inserm, Paris, France

Introduction

Les propriétés mécaniques des tissus humains dépendent de leur structure, des conditions biologiques et de leurs éventuelles affections. Dans le cerveau, ces propriétés sont dramatiquement altérées par le cancer, la fibrose ou les maladies neurodégénératives comme Alzheimer, Parkinson ou Creutzfeldt-Jakob. Cependant, dans la boîte crânienne, ni la palpation ni l'élastographie ultrasonore ne peuvent enregistrer ces changements mécaniques.

Initiée en 1995, l'élastographie-IRM permet de suivre la réponse des tissus à un stress mécanique par la mesure de leur déplacement, généralement induit par l'application d'une vibration mécanique à la surface du corps¹. Afin de générer des ondes dans le cerveau, la tête peut être basculée périodiquement dans un berceau oscillant ou le sujet peut mordre une barre vibrante². Toutefois, cet organe distant demeure bien protégé par le crâne et les méninges de ce type d'excitation externe. Les ondes générées à travers les os sont en effet rapidement atténuées et leurs amplitudes tombent en dessous du niveau nécessaire à la détermination des modules viscoélastiques.

Nous avons suivi ici une approche radicalement différente. En générant des ondes de pression dans la cavité buccale, nous avons pu induire dans les trois directions de l'espace des ondes mécaniques atteignant plusieurs dizaines de micromètres à travers le cerveau. L'élastographie-IRM a pu ainsi être réalisée sur l'ensemble du cerveau.

Matériels et méthodes

Des ondes de pression ont été générées à 113 Hz par un haut-parleur avant d'être concentrées et guidées jusque dans la bouche du sujet. Le sujet, allongé sur le dos, respirait normalement par le nez. Les déplacements induits par la propagation des ondes mécaniques dans le cerveau ont été mesurées dans un imageur 1,5 T (Achieva, Philips Medical Systems, Les Pays-Bas) à différentes instants du cycle mécanique dans les trois directions de l'espace par une séquence d'écho de spin, sensibilisée au mouvement par des gradients bipolaires synchronisés avec les ondes générées. L'inversion des équations d'onde de cisaillement locales permet alors de remonter aux modules viscoélastiques de cisaillement³.

Résultats

L'amplitude totale des ondes induites, A_{tot} , est en moyenne de 7,5 µm et atteint 52 µm (Figure 1 (a,b)). Les cartes de longueur d'onde (λ), des modules d'élasticité (G') et de viscosité (G'') de cisaillement (Figure 1) traduisent bien les structures cérébrales sous-jacentes. La distribution de ces paramètres sur l'ensemble du cerveau donne $\langle \lambda \rangle = 16 \pm 2$ mm, $\langle G' \rangle = 2,4 \pm 0,8$ kPa, $\langle G'' \rangle = 1,7 \pm 0,8$ kPa.

Conclusion

La construction de pression dans la cavité buccale conduit à une génération et une propagation efficaces des ondes mécaniques à travers le tissu cérébral. L'amplitude des ondes atteinte n'est pas techniquement mais physiologiquement limitée. La structure des ondes et les chemins de pénétration sont en effet physiquement déterminés par les structures-mêmes du cerveau. Le dispositif d'excitation par ondes de pression est simple et favorable au confort du sujet. L'amplitude des ondes résultantes assure la sensibilité de la technique à travers l'ensemble du cerveau et conduit ici à la réalisation d'un premier atlas des propriétés mécaniques du cerveau humain.

Références

1. Muthupillai et al. Science, **269**:1854-1857 (1995)
2. Sack et al. NMR Biomed **21**(3):265-71 (2008), Green et al. NMR Biomed. **21**:755-764 (2008)
3. Sinkus et al. Magn Reson Imaging **23**:159-165 (2005)

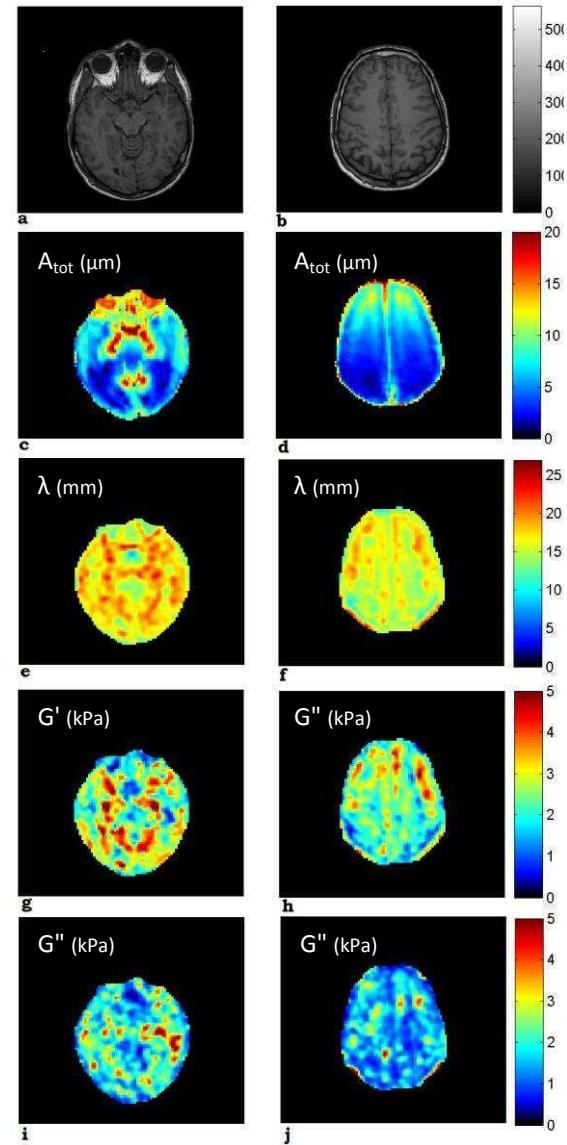


Figure 1 : Images anatomiques de référence de 2 des 43 coupes axiales acquises dans le cerveau (a,b), avec les cartes A_{tot} (c,d), λ (e,f), G' (g,h) et G'' (i,j).

Imagerie ultrasonore médicale par échantillonnage compressé

Oana Lorintiu, Olivier Bernard, Denis Friboulet, Hervé Liebgott

CREATIS, Université de Lyon, CNRS UMR 5220, Inserm U630, INSA Lyon, Université Lyon 1.

Introduction

L'échantillonnage compressé est une technique de traitement de signal récente qui permet, sous certaines conditions, de reconstruire un signal numérique à partir d'un nombre d'échantillons bien plus faible que la limite fixée par le théorème de Shannon. Une telle technique a le potentiel d'améliorer la résolution spatiale des images à quantité de données fixée ou d'accélérer l'acquisition, et par conséquent la résolution temporelle, sans perte de résolution spatiale.

Bien que l'imagerie ultrasonore médicale soit un candidat très intéressant pour cette technique, il existe, à l'heure actuelle, assez peu d'études à ce sujet. L'objectif est ici de donner un aperçu global de travaux mettant en jeu de l'échantillonnage compressé pour l'imagerie ultrasonore médicale.

Matériel et Méthode

Pour que les techniques d'échantillonnage compressé puissent s'appliquer, il faut que le signal que l'on souhaite reconstruire ait une représentation parcimonieuse dans une base de décomposition. En imagerie ultrasonore l'hypothèse de parcimonie peut porter sur les données à chaque étape de la construction de l'image, en allant de la distribution spatiale des diffuseurs acoustiques jusqu'à l'image radiofréquence elle-même.

Résultats

Bien que nous focalisant d'avantage sur les travaux réalisés à CREATIS sur l'échantillonnage compressé des données ultrasonores brutes avant le formateur de voies, nous nous efforçons de présenter ici une vue d'ensemble de l'échantillonnage compressé en imagerie ultrasonore médicale.

Conclusion

Au travers les différents exemples de la littérature nous avons montré la faisabilité de l'imagerie ultrasonore par échantillonnage compressé. Un nombre important de challenges reste à relever pour que cette technique puisse être implantée sur un échographe clinique. En particulier, il est nécessaire de développer des bases de décompositions dans lesquelles les données ultrasonores sont le plus parcimonieuses possibles. Des développements matériels et en particulier des sondes et une électronique spécifique permettant l'acquisition compressée des données devront être réalisés. Enfin, afin de conserver à l'échographie son caractère temps réel un effort important sera nécessaire pour accélérer les temps de calculs.

Références

1. Liebgott *et al.*, Ultrasonics, in press, 2012
2. Liebgott *et al.*, IEEE International Ultrasonics Symposium, Dresden, Germany, October 2012

T₂*-Relaxivity Contrast Imaging: First Results

S. Sourbron^{1,2}, M. Heilmann³⁻⁵, C. Walczak^{4,5}, J. Vautier⁴⁻⁶, L.R. Schad³, A. Volk^{4,5}

¹Division of Medical Physics, University of Leeds, Great Britain

²Josef Lissner Laboratory for Biomedical Imaging, Institute of Clinical Radiology, Ludwig-Maximilian-University Munich, Germany

³Computer Assisted Clinical Medicine, Medical Faculty Mannheim, Heidelberg University, Germany

⁴Institut Curie, Research Center, Orsay, France

⁵Institut national de la santé et de la recherche médicale (INSERM) U759, Orsay, France

⁶Université Paris Sud, Orsay, France

Introduction

Dynamic contrast-enhanced MRI (DCE-MRI) is one approach to noninvasively assess physiological parameters which have shown promise as biomarkers for assessment of tumor characteristics and treatment outcome. Specifically, DCE-MRI measures the volume of various tissue compartments, and the contrast agent (CA) exchange rates between them. T₂*-weighted dynamic susceptibility-contrast MRI (DSC-MRI) is known to be sensitive to geometry of tissue compartments, but signals are ambiguous due to changes in T₂*-relaxivity during CA extravasation. Combining both techniques in one experiment may provide additional information on tumor tissue characteristics. Following this strategy, we present here T₂*- relaxivity mapping as a new potential means of contrast in MRI. We refer to this concept as T₂*-relaxivity contrast imaging (RCI). RCI produces a measurement of the same physiological parameters as a standard DCE-MRI analysis, and two new T₂*-relaxivities, r^{*}_{2,vasc} and r^{*}_{2,EES}, caused by susceptibility gradients across the vessel walls and cell membranes, respectively [1].

Material and Method

Combined DCE-DSC MRI, i.e. simultaneous measurement of T₁(t) and T₂*(t), was performed in 5 nude mice with subcutaneous colorectal tumor xenografts (TC302, Institut Curie, France) at 4.7T (Biospec, Bruker, Germany) using a home-built quadrature birdcage coil ($\varnothing=52\text{mm}$, $L=70\text{mm}$). R₁ and R₂* time courses were measured in two slices (heart (AIF), tumor) by a respiration-triggered double-delay SR-MGE-SNAP sequence (TR/TE/TSS/TSL = 17ms/2.2-14.5ms /80ms/900ms, pixel=(0.9×0.5×2) mm^3 , $\Delta t=1.6\text{-}2.0\text{s}$) [2]. A macromolecular CA P792 (Guerbet, France) was used. For RCI analysis [1], first a DCE-MRI analysis based on a two-compartment exchange model was performed yielding plasma volume v_p, interstitial volume v_e, plasma flow F_p, and permeability-surface area PS. The concentrations c_p(t) and c_e(t) in plasma and extravascular extracellular space (EES) were derived according to [3]. The new relaxivities, r^{*}_{2,vasc} and r^{*}_{2,EES}, were then determined by fitting the equation ("gradient-correction model" [3]) $R_2^* = R_{20}^* + r^*_{2,vasc} |c_p - c_e| + r^*_{2,EES} c_e$ to the data. After MRI, corresponding tumor slices were analyzed by histology (Hemalum, Eosin staining).

Results

The protocol produced six parametric maps for v_p, v_e, F_p, PS, r^{*}_{2,vasc} and r^{*}_{2,EES}. Mean parameter values for v_p ($1.5 \pm 0.8\%$), v_e ($11.9 \pm 3.1\%$), F_p ($5.0 \pm 1.5 \text{min}^{-1}$), PS ($0.33 \pm 0.07 \text{min}^{-1}$) were in a realistic range. The new T₂*-relaxivities, r^{*}_{2,vasc} and r^{*}_{2,EES}, had values in the range $0\text{-}50 \text{mM}^{-1}\text{s}^{-1}$. Mean values of both relaxivities were significantly different ($r^*_{2,vasc} = 10.9 \pm 2.9 \text{ mM}^{-1}\text{s}^{-1}$, $r^*_{2,EES} = 15.6 \pm 2.6 \text{ mM}^{-1}\text{s}^{-1}$). r^{*}_{2,vasc} and r^{*}_{2,EES} were weakly correlated with plasma volume and interstitial volume, respectively. Images of r^{*}_{2,vasc} and r^{*}_{2,EES} revealed a different tumor structure than plasma volume and interstitial volume maps.

Conclusion

These preliminary experimental results suggest that relaxivity contrast imaging is practically feasible and might offer supplementary information compared to DCE-MRI. The expectation is that these are related to the geometry of the blood vessels and the extravascular extracellular space, respectively. Further theoretical and experimental work, particularly verification against independent experimental methods, is needed to clarify the physiological interpretation of the new parameters.

References

1. Sourbron *et al.* Magn Reson Med, doi: 10.1002/mrm.24383:[Epub ahead of print], 2012
2. Heilmann *et al.* Magn Reson Mater Phys, 20:193-203, 2007
3. Sourbron *et al.* Magn Reson Med, 62:672-681,2009

Imagerie multiphotonique de la réponse endogène de la matrice extra-cellulaire de tissus pulmonaires humains à travers 2 mètres de fibre optique microstructurée ou à l'aide d'un faisceau de fibres

G Ducourthial¹, C Lefort¹, D A. Peyrot^{2,3}, T Mansuryan¹, S G. Kruglik^{2,3}, C Vever-Bizet^{2,3}, L Thiberville^{4,5}, F Lacombe⁶, Geneviève Bourg-Heckly^{2,3}, Frédéric Louradour¹

1 - XLIM, UMR CNRS 7252, F-87060 Limoges, France

2 - UPMC Univ. Paris 06 FRE 3231, Laboratoire Jean Perrin, F-75005, Paris, France

3- CNRS, FRE 3231, Laboratoire Jean Perrin, F-75005, Paris, France

4 - Clinique de pneumologie, CHU Rouen, F-76000 Rouen, France

5- Laboratoire LITIS-QuantIF EA 4108, Rouen Univ., F-76000 Rouen, France

6 - Mauna Kea Technologies, 9 rue d'Enghien, F-75010 Paris, France

Ces travaux traitent de l'imagerie multiphotonique de la réponse endogène de la matrice extra-cellulaire (MEC) de tissus pulmonaires humains à l'aide de fibres optiques. L'objectif à terme est de développer des systèmes de microendoscopie multiphotonique destinés en première intention à l'étude *in vivo* de la microstructure de l'arbre bronchique. Deux dispositifs ont été mis au point, le premier utilisant un balayage distal avec une fibre optique microstructurée à double gaine de 2 mètres, le second utilisant un balayage proximal et un guide d'image multicoeurs (30000 cœurs à l'intérieur d'un diamètre de 0,8 mm). Afin d'apporter la densité de puissance nécessaire à l'obtention d'effets multiphotoniques, l'utilisation d'impulsions ultracourtes de puissance crête élevée et de faible énergie est nécessaire. Ces impulsions subissent de fortes distorsions lors de leur propagation dans la fibre endoscopique. Il est alors nécessaire d'ajouter en amont un module de pré-compensation de la dispersion et de la non linéarité de la fibre. Nous avons notamment développé un étireur à grisms (association de prismes et de réseaux) permettant de compenser les dispersions d'ordres 2 et 3 de la fibre sur une bande d'accordabilité allant de 790 nm à 900 nm. Des impulsions aussi courtes que 25 femtosecondes ont pu être obtenues à la sortie d'une fibre de 2 mètres. Ces caractéristiques uniques nous ont permis d'obtenir des images par balayage distal d'élastine (par fluorescence à deux photons) et de collagène (par génération de seconde harmonique). La fibre optique microstructurée à double gaine de 2 mètres nous a permis d'obtenir des images 3D de tissus pulmonaires fixés (bronches et alvéoles) avec une profondeur de pénétration de 400 µm, pour une puissance moyenne de rayonnement infrarouge égale à 10 mW @ 80 MHz. Avec le guide d'images utilisé en balayage proximal, nous avons pu effectuer de la micro imagerie en temps réel de la MEC *ex vivo*.

Evaluation de méthodes pour la quantification *in vivo* des acides gras hépatiques chez la souris par SRM.

A. Coum^{1,2}, F. Noury^{1,2,3}, G. Gambarota^{1,2,3}, K. Begriche⁴, B. Fromenty⁴, H. Saint-Jalmes^{1,2,3}

¹INSERM, UMR 1099, Rennes

²Université de Rennes 1, LTSI, Rennes

³PRISM, Biosit, CNRS UMS 3480, INSERM UMS 018 – Biogenouest, Rennes

⁴INSERM, U991, Rennes

Introduction

L'objectif était de quantifier de manière non-invasive la composition en acides gras (AG) des lipides hépatiques, marqueurs de la stéatose, chez la souris obèse, par spectroscopie par résonance magnétique (SRM). La littérature propose différentes méthodes d'analyse des spectres *in vivo* pour effectuer la quantification de la composition en AG des tissus. Notre étude a donc été de comparer ces méthodes dans notre contexte expérimental afin de déterminer la plus adéquate à la quantification de la composition des AG hépatiques chez la souris.

Matériel et Méthode

Fantômes et animaux : 4 tubes d'huiles pures, choisies pour leur composition en AG, ainsi que 10 tubes d'émulsions d'eau et d'huile de colza (présentant une fraction de gras de 5% à 10%) ont été utilisés. L'étude *in vivo* a été menée sur 4 souris femelles obèses C57BL/6J Rj-ob (ob/ob) âgées de 8 semaines.

SRM : Les expériences ont été réalisées à 4,7 T (47/40 Bruker Biospec). Une séquence PRESS (TR/TE = 2500/11 ms, VAPOR, 64 répétitions) a été utilisée. Pour les études *in vivo* chez la souris, l'acquisition a été synchronisée sur la respiration de l'animal, la géométrie du voxel était de 3x3x3 mm³ et 256 répétitions ont été utilisées. Les temps de relaxation T₁ et T₂ ont été mesurés sur les fantômes d'huile pure, pour chaque AG.

Analyse des spectres : Le logiciel jMRUI a été utilisé pour intégrer les aires sous les courbes de résonances de chaque composant des AG qui ont ensuite servi au calcul de la composition en AG des fantômes d'huiles pures et d'émulsions, suivant 5 méthodes différentes, avec ou sans correction en T₁ et/ou T₂.

Résultats

Les méthodes de Ren *et al.*, Yeung *et al.* Et Strobel *et al.* ont donné les meilleures performances. Les résultats obtenus par les deux autres méthodes (Zancaro *et al.* et Corbin *et al.*) ne sont pas présentés car incohérents. La méthode donnant les résultats de quantification des AG les plus proches des valeurs théoriques est celle de Ren *et al.* avec, sur les huiles pures, un erreur approximative de 3% pour les AG saturés et insaturés, de 4% pour les mono-insaturés et 7% pour les poly-insaturés (Tableau 1).

Conclusion

La méthode de Ren *et al.* a été utilisée pour analyser nos données *in vivo* et déterminer la composition des AG hépatique présents chez la souris (Tableau 1).

	AG de l'huile d'olive (en %)				AG hépatiques de la souris ob/ob (en %)			
	Composition théorique	REN	YEUNG	STROBEL	Souris 1	Souris 2	Souris 3	Souris 4
AGS	15	14	14	14	6,0	27,1	18,6	20,4
	86	86	86	88	94,0	72,9	81,4	79,6
	77	77	83		93,9	72,7	81,4	79,6
	9	10	9		0,1	0,2	0,0	0,0
	ω6	7	10	-3	0,1	0,2	0,0	0,0
	ω3	2		6				

Tableau 1 : exemple de résultats pour l'huile d'olive et résultats *in vivo* sur le foie de souris obèse avec la méthode de Ren *et al.* Composition en AG saturés (AGS), insaturés (AGI), mono-insaturés (AGMI) et poly-insaturés (AGPI).

Références

1. Ren J. *et al.* J lipids research, 49:2055-2062, 2008.
2. Yeung D.K. *et al.* Chem phys lipids, 151:103-109, 2008.
3. Strobel K. *et al.* J lipids research. 49 :473-480, 2008.
4. Zancaro C. *et al.* J lipids research. 35 :2191-2199, 1994.
5. Corbin I.R. *et al.* Biochim Biphs Acta, 1791 :757-763, 2009.

A Microfluidic Micro-MRI Set-up to Assess the Contrast uptake using Contrast Agents on a Living Cell Monolayer

N. Gargam¹, J-S. Raynaud², P. Robert², J-C. Ginefri¹, L. Darrasse¹ and M. Poirier-Quinot¹

¹IR4M (UMR 8081), Université Paris-Sud - CNRS, Orsay, France

²Guerbet Research, Paris, France

Introduction

Great advances have recently been made in Molecular Magnetic Resonance Imaging (MRI), defined as non-invasive imaging of cellular or subcellular events. While the physical basis of MRI is fundamentally molecular in nature, most of protocols need the use of exogenous contrast agents (CA) to assess specific cellular events. Despite the use of CA, *in vivo* MRI has to cope with both the inherently low sensitivity to depict the CA effects, a small amount of molecular receptors¹ and a complex biodistribution processes exhibiting different relaxation enhancement effects. Therefore, *in vitro* tests, reflecting the physiological conditions of or uptake of a CA, are required to assess its efficiency prior to animal experimentation.

In this study, we propose an alternative technique to study labelled cells *in vitro*. They were incubated with different concentrations of Gd-DOTA and the relaxation rates of the cell monolayer were measured as a function of the amount of Gadolinium internalized by the cells via pinocytosis.

Material and Method

Cells: 2 millions KB cells were incubated for 17h at 37°C and 5% CO₂ in culture medium containing Gd-DOTA at concentrations of 10, 50 100 mM. 300.000 of them were seeded into the microfluidic channel 0.4 Luer (Ibidi, Germany). After 4h of incubation, the cells became adherent and formed a monolayer onto the bottom of the channel. MRI: Experiments were carried out on a 2.35 T scanner (Bruker, Germany). A 6 mm diameter home-made Multiturn Transmission Line Resonator is used for the reception². A 3D RF-spoiled FLASH sequence was achieved with an in-plane resolution of 160x160 μm² and a resolution of 12μm in the read direction, perpendicular to the cell layer (thickness ~ 10 μm), TR/TE=75/3.7ms and Bandwidth of 12.5kHz. The R₁ values are extracted using the variable flip angle³ method.

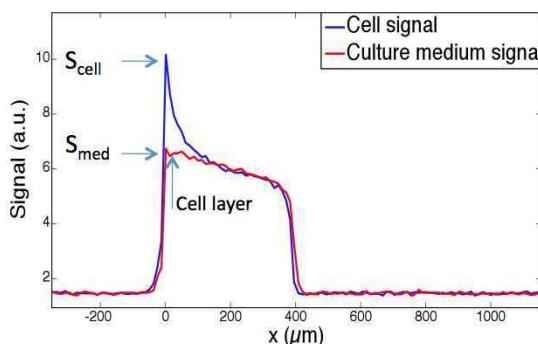


Figure 1 : 1D monocellular layer profil after Gd-DOTA incubation (25 mM)

Theoretical models which include the exchanges of water molecules between different compartments have been developed⁵ and these models are able to quantify the decreased efficiency of a CA when internalized inside cells (green fitting curve on figure 2)

Conclusion

We propose a complete method to detect and measure the relaxation rate of a cell layer by micro-MRI. The effect of contrast agent is beyond its strict location inside the cells, which is attributed to the molecular motion of the water protons. Finally, we suggest that this method could be used to monitor the dynamic uptake of a targeted contrast agent by applying a flow of this CA over the cell layer, thanks to the microfluidic environment.

References

1. Massoud et al. Genes. Dev 2003; 39(3) 187
2. Woytasik M. et al, Microsystem Technologies, 2007
3. Fram et al. MRI, 1987. 5(3): p. 201-208.
4. Terreno, et al., MRM 2006. 55(3): p. 491.
5. Strijkers et al., MRM 2009. 61(5): p. 1049-1058

Results

The amount of internalized Gd³⁺ per cell, measured by ICP-MS, indicates that no saturation in the CA uptake is observed. Figure 1 displays the unidimensional profile obtained for a channel containing cells that had been incubated 17 h with 25 mM Gd-DOTA. Signal enhancement was observed on the voxel containing the cells, due to CA location inside cells, but also on the adjacent voxels until a distance of about 120 μm.

Figure 2 shows the R₁ values of the voxels containing the cells as a function of the Gd content per cell. The R₁ saturation is due to the “quenching” effect of the relaxivity⁴.

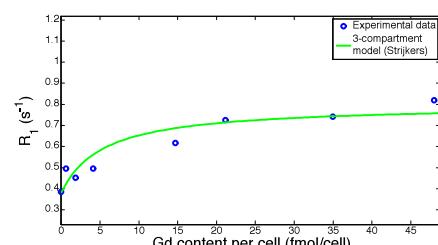


Figure 2 : R₁ measurement as function of Gd concentration (blue circle). R₁ evaluation using the Strijkers model (green line)

Dynamic follow-up of the uptake of a targeted nanoemulsion on a cell layer by micro-MRI

N. Gargam¹, J-S. Raynaud², P. Robert², J-C. Ginefri¹, L. Darrasse¹ and M. Poirier-Quinot¹

¹IR4M (UMR 8081), Université Paris-Sud - CNRS, Orsay, France

²Guerbet Research, Paris, France

Introduction

Great advances have recently been made in Molecular Magnetic Resonance Imaging (MRI), defined as non-invasive imaging of cellular or subcellular events. While the physical basis of MRI is fundamentally molecular in nature, most of protocols need the use of exogenous contrast agents (CA) to assess of specific cellular events. Despite the use of CA, *in vivo* MRI has to cope with both the inherently low sensitivity to depict their effects, a small amount of molecular receptors¹ and a complex biodistribution processes exhibiting different relaxation enhancement effects. High-molecular-weight CA, such as nanoemulsions, which are able to carry several thousands of Gd³⁺ ions, are developed to overcome the low sensitivity of MRI. Furthermore, the $\alpha_v\beta_3$ integrin is a promising target for molecular imaging in the oncology application, due to its over expression on endothelial cells during the tumor angiogenesis. In this work, we propose a complete set-up and method to investigate the dynamic uptake and assess the specificity of a targeted Gd-based nanoemulsion by a cell monolayer.

Material and Method

Cells: 280 000 HUVEC cells (passage 5), with a high level of expression of $\alpha_v\beta_3$ integrins, were injected in a microfluidic channel of a μ -Slide I 0.4 Luer (Ibidi, Germany). After 4 h of incubation at 37°C and 5 % CO₂, the cells became adherent and formed compact monolayer on the bottom of the channel (thickness of 10 μ m).

MRI: Experiments were carried out on a 2.35 T scanner (Bruker, Germany), with warm air flowing in the gradient bore to maintain the cells temperature at 37°C. A 6 mm diameter Multiturn Transmission Line Resonator² was placed below the μ -slide, 180 μ m away from the cell monolayer, for the MR signal detection. A 3D RF-spoiled FLASH sequence was applied with 12 μ m resolution in readout direction, perpendicular to the cell layer, an in-plane resolution of 160×160 μ m², FA=25°, TR/TE=75/3.7ms, 12 kHz acquisition bandwidth and echo position of 5%. As the k-space was not fully acquired, the homodyne method introduced by Noll³ was used to reconstruct the data to avoid distortions in the images.

Protocol: A flow of culture medium containing the emulsion at a concentration of [Gd³⁺] of 50 μ M was applied over the cell with a velocity set to 0.15 mm.s⁻¹, mimic the blood velocity in capillaries⁵. Every 15 minutes, during 75 minutes, the medium containing the nanoemulsion was flushed over the cell layer. It was replaced with CA free medium short before and during the images acquisitions. Afterwards the [Gd³⁺] flow was applied again. Two emulsions were used: a Gd-based nanoemulsion targeted with RGD peptidomimetics binding the $\alpha_v\beta_3$ with a high affinity and a control one without the RGD peptidomimetics.

Results: Figure 1 displays the mean signal gain (i.e. $\frac{S_{cell} - S_0}{S_0}$) observed on the cell layer as a function of time for both the targeted (blue) and the control nanoemulsion (red). $S_{cell}(t)$ is the signal of the cell layer at time t and S_0 is the signal of the cells before applying the flow of nanoemulsion. The higher signal observed for the targeted nanoemulsion indicates a higher uptake of this emulsion by the HUVEC cells when compared to the control emulsion. This can be attributed to the specific binding of RGD peptidomimetics to the $\alpha_v\beta_3$ surface receptors.

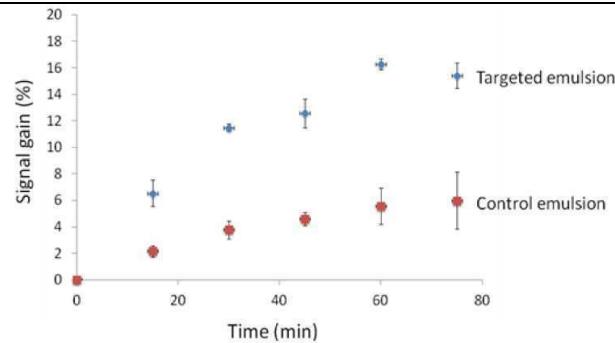


Figure 1 : Signal gain as a function of the time over which the flow of emulsion is applied for both the targeted and control emulsion

Conclusion

We developed a powerful tool and method to detect the binding of a nanoemulsion on a living cell monolayer *in vitro*. This method could be used prior to the animal testing to assess the specificity of a targeted nanoemulsion. This setup is also changeable and can be used for other CA and receptors.

References

1. Massoud et al. Genes. Dev 2003; 39(3) 187
2. Woytasik et al, Microsystem Technologies, 2007
3. Noll D.C, IEEE Trans. Med. Imaging, 10, 154, 1991.
4. Gargam et al, ESMRMB, 291, 2011,
5. Stücker et al, Microvascular Research, 52, pp 188-192, 1996

Application de l'imagerie thermique pour l'étude de l'étanchéité des restaurations dentaires

S. Bouzid¹, Z. Azari²

¹*LOA, Laboratoire d'Optique Appliquée, IOMP, Université Ferhat Abbas, Sétif, Algérie*

²*LaBPS, Laboratoire de Biomécanique, Ecole National d'Ingénieur, ENIM, Metz, France*

Email : said_bouzid@yahoo.fr

RESUME

L'application de l'imagerie thermographique infrarouge (IRT) dans cette étude est de détecter les défauts et d'examiner l'étanchéité à l'interface des matériaux d'obturation dans une cavité dentaire naturelle. Les biomatériaux de restauration peuvent subir un rétrécissement pendant la polymérisation ou avoir une mauvaise adhérence. Ceux-ci créent des fuites marginales qui permettent l'entrée des bactéries situé au niveau buccal. Ils ont pour conséquence la décoloration des dents, l'inflammation de la gencive, des caries récurrentes et des douleurs postopératoires.

Dans cette optique, on s'est concentré sur l'analyse de la répartition de la température dans la zone de restauration pendant la photo polymérisation par la lampe ultra-violette et l'analyse statistique pour la détection des défauts et des inhomogénéités par les thermogrammes obtenues en temps réel.

Les résultats montrent que la technique d'imagerie thermique est efficace pour la détection de petites variations de température dans la zone de restauration dentaire en raison des fentes et des fissures à l'interface qui diminuent l'étanchéité entre le matériau de restauration photo polymérisables et la dent naturelle.

L'utilisation des biomatériaux adhésifs diminue sensiblement les gradients de température parce qu'ils contribuent à former un lien adhérant et étanche entre les tissus dentinaires et les biomatériaux de restauration.

Mots clés:, *Thermographie IR, Analyse d'image, Biomatériaux dentaire, Etanchéité, Défauts.*

Amélioration de la durée de vie de fluorophores organiques pour leur utilisation dans des extraits cellulaires

N. Fiszman¹, A. Le Gall¹, H. Chommy², D. Dulin¹, H. Walbott¹, D. Fourmy³, S. Yoshizawa³, O. Namy², K. Perronet¹, N. Westbrook¹

¹Laboratoire Charles Fabry, CNRS UMR 8501, Institut d'Optique Graduate School et Université Paris Sud 11, 2 avenue Fresnel, 91127 Palaiseau Cedex, France

²Institut de Génétique et Microbiologie, CNRS UMR 8621 et Université Paris Sud 11, bât. 400, 91405 Orsay Cedex, France

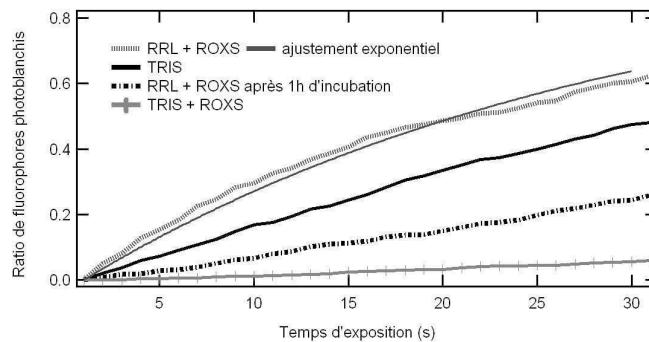
³Centre de Génétique Moléculaire, CNRS UPR 3404, 1 Av. de la Terrasse, 91198 Gif-sur-Yvette Cedex, France

Introduction

Les marqueurs fluorescents organiques restent très utilisés du fait de leur petite taille, de leurs propriétés photophysiques bien caractérisées, et de la facilité avec laquelle on peut les lier de façon covalente avec des molécules biologiques. Leur utilisation dans les expériences en molécule unique nécessite d'améliorer leur photostabilité, ce que l'on peut atteindre en combinant appauvrissement en oxygène et ajout d'un agent oxydant et d'un agent réducteur : système ROXS décrit par Tinnefeld et al (1). Nous avions déjà montré que cette démarche pouvait s'étendre à des marqueurs émettant dans le vert(2). Ici nous comparons la durée de vie avant photoblanchiment du marqueur fluorescent dans le rouge ATTO647N, par microscopie de fluorescence en réflexion totale dans un tampon usuel et dans des extraits cellulaires. L'amélioration importante de la durée de vie grâce à la combinaison de ces deux facteurs dans le tampon usuel n'est pas reproductible dans tous les extraits cellulaires. Nous en concluons que les extraits contenant des réservoirs d'oxygène comme l'hémoglobine doivent être prétraités avant d'être appauvris en oxygène par les méthodes habituelles.

Résultats – Results

La figure 2 montre les résultats obtenus de taux de disparition des ATTO647N en fonction de la durée d'exposition, dans différents milieux. La courbe expérimentale est ensuite ajustée par une courbe exponentielle, donnant la durée de vie des fluorophores.



Conclusion

L'augmentation de la durée de vie de fluorophores est un objectif important lorsque l'on souhaite les observer en molécule unique pendant la durée d'une réaction biologique. Travailler avec des extraits cellulaires tels le PURE Express ou le RRL diminue la durée de vie des fluorophores. Nous avons montré que l'utilisation de ROXS dans le PURE Express est possible et augmente les durées de vie d'un ordre de grandeur. Cependant, son utilisation dans le RRL riche en hémoglobine reste malaisée. Nous cherchons actuellement à éliminer au préalable l'oxygène du RRL sans pour autant le dégrader, pour que le ROXS puisse être efficace immédiatement.

Références – References

- Vogelsang J, Kasper R, Steinhauer C, Person B, Heilemann M, Sauer M, et al. A reducing and oxidizing system minimizes photobleaching and blinking of fluorescent dyes. *Angew Chem-Int Edit*. 2008;47(29):5465-9. doi: 10.1002/anie.200801518. PubMed PMID: WOS:000257601200042.
- Le Gall A, Dulin D, Clavier G, Meallet-Renault R, Bouyer P, Perronet K, et al. Improved Photon Yield from a Green Dye with a Reducing and Oxidizing System. *ChemPhysChem*. 2011;12(9):1657-60.

Nucleolin : a nucleolar protein localizing at the mature centriole

X. Gaume¹, A.M. Tassin², H. Delage¹, F. Mongelard¹, P. Bouvet¹, K. Monier¹

¹Laboratoire Joliot Curie, Ecole Normale Supérieure de Lyon, 69007 Lyon, FRANCE

²Institut Curie, Centre de Recherche, Orsay, France

Introduction

Nucleolin is one of the most abundant non-ribosomal proteins of the nucleolus, where it is involved in different aspects of ribosome biogenesis. Nevertheless, nucleolin functions are not restricted to nucleoli. Interestingly, it has been previously shown that depletion of nucleolin using siRNA lead to an amplification of centrosome number associated with multipolar spindle structures¹. However, no function of nucleolin at centrosome has yet been reported.

Material and Method

U2-OS stably expressing centrin1-GFP were submitted to an optimized immunofluorescence approach to co-visualize nucleolin in methanol fixed cells. Observations were performed using 3D wide-field microscopy coupled to image restauration procedures to improve resolution. Centrosome preparations were performed using KE37 cells.

Results

We now show that nucleolin localizes at centrosome in human cells. This was confirmed biochemically on isolated preparations of pure centrosomes by immunofluorescence and western blotting. Nucleolin is detected at centrosome from G1 to G2. Within the centrosome, nucleolin localises at only one of the two centrioles (Figure 1, top row). Using specific markers of mature centriole, like ninein, we found that nucleolin localizes at the mother centriole throughout interphase (Figure 1, bottom row). This centrosomal localization is not disturbed upon inhibition of microtubule polymerization by nocodazole treatment. However, in nucleolin-silenced cells, repolymerisation of microtubules after cold treatment was greatly reduced compared to control cells.

Conclusion

In conclusion, we demonstrated that nucleolin is a core centriolar protein specifically associated with the mature centriole. Microtubule regrowth experiments in nucleolin silenced cells point out a new function of nucleolin in the control of microtubule polymerization dynamics.

Références – References

- Ugrinova I, Monier K, Ivaldi C, Thiry M, Storck S, Mongelard F, Bouvet P. BMC Mol Biol. 8, 66-82 (2007)

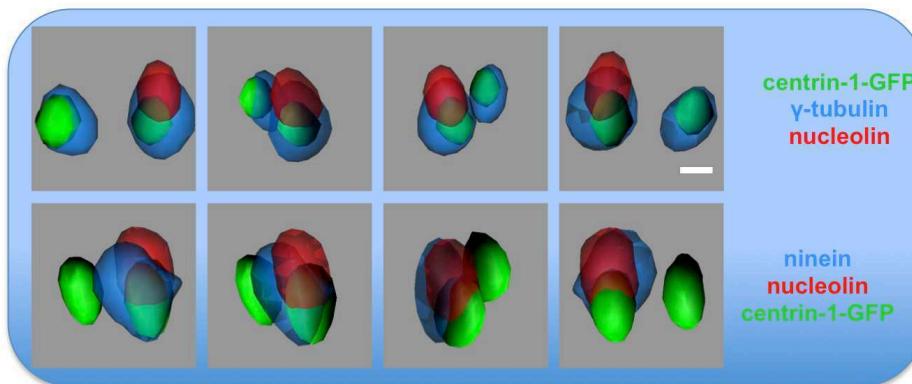


Figure 1: 3D image reconstructions with Imaris software from 3D stacks acquired with a 63x objective lens with high NA on a wide-field microscope submitted to iterative deconvolution. Centrin1-GFP is visualized in green after GFP-booster detection, nucleolin is visualized in red and Ninein and gamma-tubulin are visualized in blue. Nucleolin is only detected at one of the two centrioles, corresponding to the mature one labeled by ninein.

Système de transfection ultrasonore sous microscopie confocale – Ultrasound transfection system adapted to confocal microscope observations

JC Béra^{1,2}, P Labelle^{1,3}, JL Mestas¹, C. Vanbelle^{2,4}, C Inserra^{1,2}

¹Inserm, U1032, Lyon, France

²Université de Lyon, Lyon, France

³Université Claude Bernard Lyon 1, France

⁴SFR Santé Lyon-Est, Centre Commun d'Imagerie de Lyon-Est, Lyon, France

Introduction

Les ultrasons sont capables de stimuler la pénétration de molécules ou de nanoparticules à l'intérieur de cellules biologiques [1]. Ils apparaissent donc comme une méthode physique de transfection prometteuse [2]. Bien que les mécanismes de sonoporation soient encore mal compris, il est admis que la cavitation acoustique joue un rôle prépondérant [3]. Ces dernières années, nous avons développé un procédé de régulation de cavitation permettant de réaliser des essais d'internalisation cellulaire reproductibles [4]. Cependant, la configuration ultrasonore ne permettait pas l'observation du comportement du milieu cellulaire et des cellules au sein du dispositif d'insonification. Nous souhaitions donc mettre en œuvre un nouveau dispositif adapté aux systèmes de microscopie et permettant notamment l'observation directe par microscopie confocale des cellules au moment de l'internalisation cellulaire.

Matériel et Méthode

Le système mis en œuvre est adapté à la sonoporation de cellules dans un puits carré de 2 cm par 2 cm (double puits Labtek) rempli de 2 ml de liquide de culture. La sonoporation est réalisée par une onde ultrasonore de fréquence 500 kHz, dont l'amplitude est régulée en temps réel par un dispositif d'écoute de cavitation placé contre le puits de culture, selon la procédure détaillée par Abbas *et al.* [4]. Les essais de calibration de la cavitation ultrasonore sont réalisés sur une solution d'acide téraphthalique par dosage de l'acide hydroxytéraphthalique fluorescent produit suite à l'implosion des microbulles. Pour les tests d'internalisation cellulaire, des cellules HT29 sont utilisées avec des SiRNA couplés à un fluorochrome (Alexa 488). Des mesures de cytométrie en flux permettent de quantifier les taux de transfection en parallèle des visualisations, ainsi que d'évaluer les taux de mortalité cellulaire associés (au moyen de 7AAD). La mesure des champs acoustiques, des distributions de bulles de cavitation et des microécoulements au sein du puits de culture sont réalisés avec de l'eau filtrée ou du milieu de culture, avec adjonction de microsphères fluorescentes (Sphero™). Les mesures de champs acoustiques utilisent un hydrophone optique (Precision Acoustics). Les visualisations sont effectuées en champ clair d'une part, afin de visualiser les bulles de cavitation, et en fluorescence d'autre part, afin de visualiser les cellules fluorescentes et les SiRNA ou les microparticules.

Résultats

Le champ acoustique au sein du puits de culture est caractérisé par des ondes stationnaires, qu'on retrouve dans la distribution des bulles de cavitation au fond du puits. On mesure un streaming acoustique à grande échelle (avec des vitesses de l'ordre du mm/s) et des microécoulements plus intense autour des microbulles, qui sont favorables au mélange et à la diffusion des produits à internaliser. Des taux de transfection de 20% ont été obtenus avec des taux de mortalité cellulaire inférieurs à 5%. On observe une corrélation entre le niveau de cavitation ultrasonore imposé et le taux de transfection.

Conclusion

Un système de transfection ultrasonore adapté au suivi sous microscopie confocale a été conçu. Ce système a d'ores et déjà été validé pour la transfection d'une souche de cellules (HT29). D'autres souches cellulaires doivent maintenant être testées, et les paramètres de sonoporation doivent optimisés et éventuellement adaptés aux différents types de cellules. Ce nouvel outil devrait à terme permettre d'observer les cellules en cours de transfection et d'effectuer des suivis de produits fluorescents internalisés au sein des cellules.

Références

1. Kim *et al.* Human Gene Therapy, 7(11): 1339-1346, 1996.
2. Reslan *et al.* J. Control Release, 142, 251-258, 2010.
3. Bailey *et al.* Acoustical Physics, 49, 369-388, 2003.
4. Sabraoui *et al.* Ultrason. Sonochem., 18, 589-594, 2011.

Imaging lipid order in cell membranes using polarization-resolved fluorescence microscopy

X. Wang, A. Kress, J. Savatier, H. Rigneault, P. Ferrand, S. Brasselet

Institut Fresnel, Aix Marseille Université, CNRS, Campus de St Jérôme, 13013 Marseille, France.
sophie.brasselet@fresnel.fr, patrick.ferrand@fresnel.fr

Introduction

Biomolecular orientational organization is a crucial factor in biological processes; where functions (such as cell motility, vesicular trafficking, signaling, protein clustering, etc.) are closely related to orientation and ordering. The investigation of structural behaviors of bio-molecular assemblies is today a determining factor towards the better understanding of the fundamental mechanisms governing the cell membrane.

Material and Method

Polarization resolved fluorescence microscopy provides a convenient and powerful tool to reach this goal, since the molecular excitation, which yields a fluorescence signal, is strongly dependent on the relative orientation of the molecular dipole with respect to the exciting electric field. This process has been used for decades, monitoring fluorescence anisotropy, however this methods suffers from limitations, in particular its sensitivity to depolarization mechanisms such as fluorescence resonant energy transfer. Based on a confocal laser scanning fluorescence microscope, we have developed a general polarization-resolved fluorescence microscopy technique which relies on the analysis on the fluorescence images recorded for a tuneable incident exciting field polarization. Based on either two-photon fluorescence [1] or one-photon fluorescence [2,3], we show that this technique permits to give a picture of the angular distribution (Fig.1, left) of an ensemble of fluorescent molecules present in the confocal volume without *a priori* knowledge of its average orientation.

Results

By using fluorescent lipid probes, this method is sensitive enough to monitor the molecular order of cell membranes of arbitrary shapes (Fig. 1, right). The potentiality of this method is illustrated on the monitoring of structural changes of the cell membrane at the sub-diffraction scale, using various lipid probes under different pharmacological treatments affecting the membrane mechanical tension.

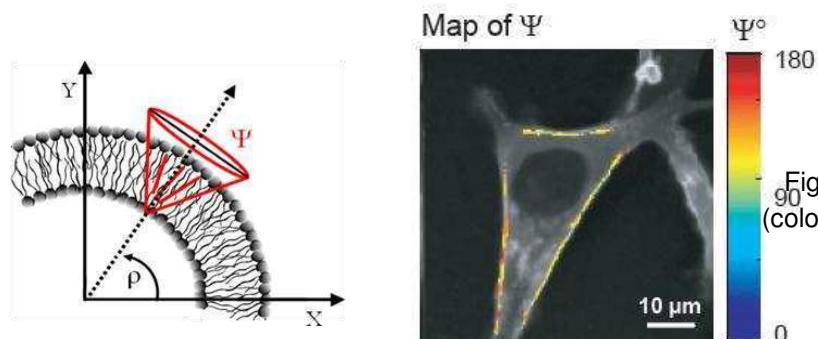


Figure 1. Map of the molecular order parameter Ψ (colorscale, defined in the left drawing) in a COS7 cell using Di-8-ANNEPQ as a lipid probe.

References

1. A. Gasecka et al., *BioPhys J.* 97, 2854-2862, 2009
2. A. Kress et al., *Biophys. J.* 101, 468–476, 2011
3. A. Kress et al., submitted 2012.

Session 4 :

Traitement des images à travers les échelles

et les modalités

Longitudinal Probabilistic Atlas of the Fetal Brain

J. Pontabry¹, F. Rousseau¹, M. Schweitzer¹, C. Studholme², M. Koob^{3,4}, J.-L. Dietemann^{3,4}

¹LSIIT, UMR 7005 CNRS-Université de Strasbourg, France

²BICG, Departments of Pediatrics, Bioengineering and Radiology, University of Washington, Seattle, USA

³LINC, UMR 7237 CNRS-Université de Strasbourg, France

⁴Service de Radiopédiatrie, Hôpital de Hautepierre, Strasbourg, France

Introduction

Recent technological advances of Magnetic Resonance Imaging (MRI) acquisition systems allow in-vivo studies of fetal brain. In this paper, we aim to build an average probabilistic model of the developing fetal brain. An average growth trajectory through gestational age is estimated using a population between 26 and 33 weeks.

Material and Method

The considered population is composed of 23 fetuses. In-vivo datasets have been acquired on a 1.5T Siemens Avanto MRI Scanner using a 6-channel phased array coil combined to the spine array positioned around the mother abdomen. Image resolution has been increased to $1 \times 1 \times 1 \text{ mm}^3$ by using super-resolution algorithm [1].

A static average anatomy of the population is first computed using unbiased template construction method [2]. In order to capture the whole variability of the population, the process uses multi-modal and nonlinear registrations [3]. Tissue probability maps are obtained by automatic segmentation on T2 weighted images [4]. The gestational age-wise average anatomy is then computed by using the Nadaraya-Watson kernel estimator on shapes (transformations) and on appearance (MRI intensities and tissue probability maps).

Results

The figure 1 shows details about volume of grey and white matter. The volume properties of the longitudinal atlas (orange curve) fit the population's volume properties (blue cross) with a coefficient of determination equal to 68%. The figure 2 displays an average fetal brain segmentation of brain, cerebellum and brainstem structures. The average trajectory of the developing brain is sampled using a non-parametric kernel method at any gestational age (figure 3).

Figure 1: Brain volume of the average fetal brain and the considered population, depending on gestational age. Measures of the population are depicted by blue cross ; the average trajectory is displayed by an orange curve.

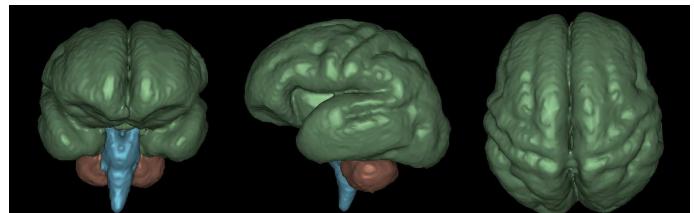
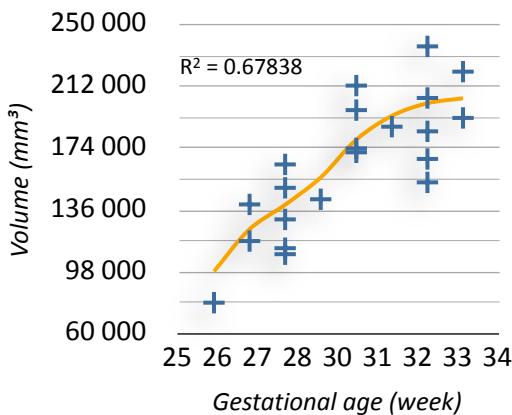


Figure 2: Three-dimensional static model of fetal brain segmentation.

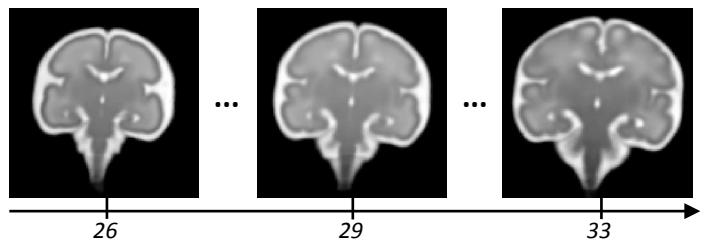


Figure 3: Sampling trajectory of the average fetal brain through its gestational age. T2 weighted MRI images are represented for the average anatomy at 26, 29 and 33 weeks.

Conclusion

A longitudinal probabilistic atlas of the developing fetal brain has been constructed using a non-parametric regression method. The average trajectory is sampled at each gestational age, producing average models. These dynamic models can be used for fetal brain morphometry studies (such as cortical folding or volumetry).

References

1. Rousseau *et al.* Medical Image Computing and Computer-Assisted Intervention, 13:355-362, 2010.
2. Guimond *et al.* Computer Vision and Image Understanding, 77:192-210, 2000.
3. Avants *et al.* Medical Image Analysis, 12:26-41, 2008.
4. Caldairou *et al.* IEEE International Symposium on Biomedical Imaging, 2045-2048, 2011.

Scale analysis of multicomponent MRI histograms

Carole Frindel, David Rousseau, Salem Hannoun,
 Françoise Durand-Dubief, François Cotton, Dominique Sappey-Marinier
*Université de Lyon, Laboratoire CREATIS; CNRS, UMR5220; INSERM, U1044;
 INSA-Lyon; Université Lyon 1, 69621 Villeurbanne, France.*

Introduction : Histograms of the pixel values are conventional tools in image processing of monocomponent images. With the development of multimodality or hyperspectral imaging, images are currently becoming multicomponent. Corresponding histograms of the pixel values in multicomponent imaging are multidimensional data structure which are more complex than the simple one-dimensional data of monocomponent images. A simple approach consists in considering the monodimensional marginal histogram of each component as if they were independent components. However, the full-multidimensional histogram includes interdependence between components and it is therefore interesting to investigate and quantify the complexity of these data structure which are commonly not considered in image processing. Such an approach has recently been applied to three-dimensional histograms of RGB images with a colorimetric scale analysis [1-2]. The full three-dimensional histograms of numerous natural images tends to display a scale invariance across colorimetric scales and a power-law signature similar to what is found in fractal structures. In this communication, we present the transposition of the scale analysis of [1-2] to multicomponent MR images acquired in the framework of multiple sclerosis (MS) studies.

Material and Method : In MS studies, three MRI components are commonly used (proton density (PD), T2, Flair). We have computed the correlation integral [1] to characterize the distribution of points of the histogram across the colorimetric scales in the cube of three components MRI stacked in RGB images like in Fig. 1.

Results : The resulting evolutions of the correlation integral are illustrated in Fig. 1 for a patient with MS. We observe a typical signature for patients suffering from MS with a power-law-like shape of slope around unity. This is similar to the fractal signature observed in natural color images as reported in [1-2] where a power law signature was found with non integer slope. The slope unity observed here is equivalent to a quasi monodimensional data structure although located in a three-dimensional space. This quantifies the impression of a simpler organization of the three components PD, T2, Flair MRI data structure by comparison with RGB natural color image. For the three components MRI of healthy control such a self-similar organization of the data structure is different, the correlation integral significantly deviates from the power law of slope unity observed for patients suffering from MS. We have implemented scale analysis tools under open source environment [3] and we are currently applying these tools on various MS longitudinal studies.

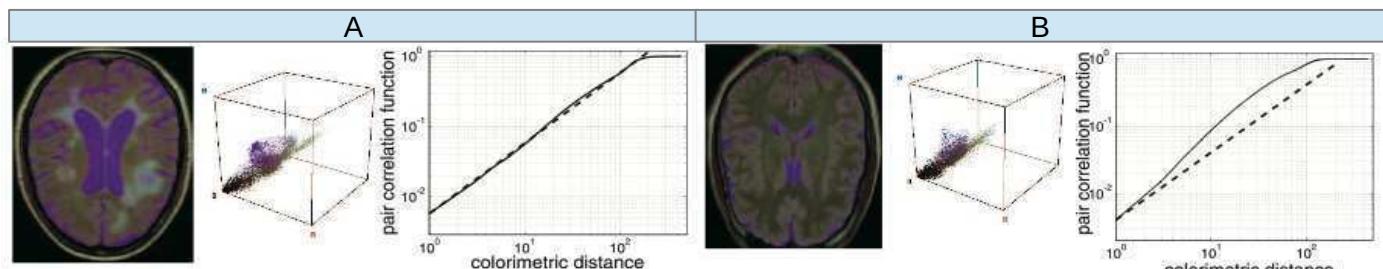


Fig. 1 (A) patient suffering from MS, (B) healthy control. For each tryptic : left RGB like image constituted by the stack of DP, T2 and Flair MRI images ; middle : corresponding 3D histogram ; right pair correlation integral as a function of colorimetric distance on a log-log plot.

Conclusion : This contributes to better knowledge and more effective exploitation of multidimensional histograms of multicomponent medical imaging.

References :

1. J. Chauveau, D. Rousseau, F. Chapeau-Blondeau: Pair Correlation Integral for Fractal Characterization of Three-Dimensional Histograms From Color Images. *Lecture Notes in Computer Science, Springer, Berlin* 5099 (2008) 200–208.
2. J. Chauveau, D. Rousseau, P. Richard, F. Chapeau-Blondeau: Multifractal Analysis of Three-dimensional Histogram from Color Images. *Chaos, Solitons & Fractals* 43 (2010) 57–67.
3. C. Frindel, D. Rousseau, D. Ressnikoff, F. Chapeau-Blondeau, Y. Tourneur : Scale analysis of multicomponent biomedical images with ImageJ software. *3rd ImageJ user and developer conference*, 24-26 oct. 2012, Luxembourg.

En connectivité fonctionnelle du cerveau au repos, les hubs du réseau présentent une forte activité métabolique

S. Achard¹, S. Kremer², F. Renard¹, J. I. Namer³, C. Delon-Martin^{4,5}

¹CNRS, GIPSA-Lab, Grenoble, France, sophie.achard@gipsa-lab.inpg.fr

²Service de radiologie 2, Hôpital de Hautepierre, CHU de Strasbourg, Université de Strasbourg, France

³Service de Médecine Nucléaire, Hôpital de Hautepierre, CHU de Strasbourg, Université de Strasbourg, France

⁴INSERM, U836, Grenoble, France

⁵Université J. Fourier, GIN, Grenoble, France

Introduction

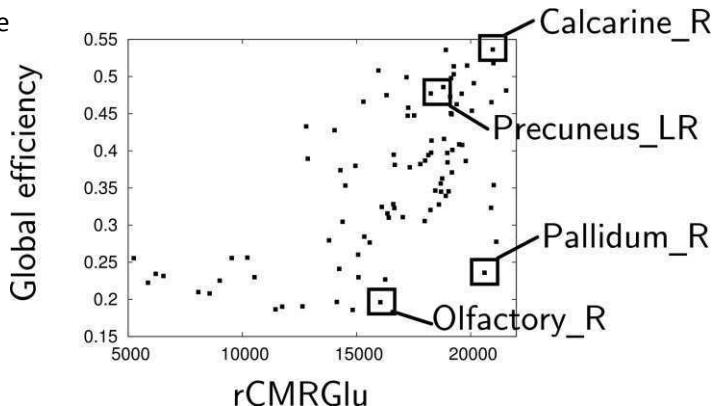
On a récemment montré que le cerveau humain pouvait être décrit comme un réseau complexe ayant une organisation topologique de type 'petit-monde', et ce, à différentes échelles d'analyse (1). La méthode des graphes de connectivité fonctionnelle permet de décrire ce réseau globalement et localement en se basant sur les mesures de corrélations entre toutes les paires de régions corticales. Les réseaux obtenus chez les sujets sains présentent des hubs, régions fortement connectées au reste du réseau, qui se caractérisent par une efficacité globale élevée. Notre hypothèse est que les besoins énergétiques sont élevés dans ces régions afin de maintenir ce haut niveau de connectivité. Or le substrat énergétique du cerveau est le glucose. Aussi, pour tester notre hypothèse, nous avons cherché s'il existait une corrélation entre le rCMRGlu et l'efficacité globale des hubs issus des graphes de repos.

Matériel et Méthode

Pour ce faire, nous avons d'abord acquis les données d'IRMf de repos (IRM 1.5T, antenne 8 canaux, séquence EPI sensible à l'effet BOLD, 400 volumes, TR 3s, voxels isotropes de $4 \times 4 \times 4 \text{ mm}^3$) sur un groupe de 20 sujets contrôles. Les graphes de connectivité fonctionnelle de repos ont été calculés en utilisant la méthode décrite dans la littérature (1). Nous avons ensuite calculé les efficacités globales de chaque région du cerveau parcellisé (template AAL (2)) et moyenné sur l'ensemble de nos sujets. Ensuite, nous avons ré-utilisé des images TEP de ^{18}F -FDG qui avaient été acquises sur 8 autres sujets sains (PET/CT Discovery ST, mode 3D, résolution spatiale isotrope de $3,27 \text{ mm}^3$, injection intra-veineuse de 150 MBq). Après réalignement des images de rCMR-Glu issues de la TEP sur le même template AAL que celui utilisé pour les graphes, nous avons calculé le rCMR-Glu par région et moyenné sur les sujets. Nous avons finalement testé s'il existait une corrélation entre efficacité globale et activité métabolique par test de corrélation de tau de Kendall (test non-paramétrique).

Résultats

La figure ci-contre présente les efficacités globales du graphe en fonction du métabolisme du glucose pour chacune des régions du AAL. Les hubs du graphe présentent une efficacité globale élevée (typiquement >0.4). On peut voir que toutes ces régions présentent également une activité métabolique élevée. Enfin, le test de Kendall montre qu'il existe une corrélation statistiquement significative entre l'efficacité globale et le rCMRGlu ($r=0,25$; $p=4 \cdot 10^{-4}$) au niveau de l'ensemble des régions du cerveau.



Conclusion

Ce travail démontre que les hubs du réseau chez les sujets contrôles présentent tous une activité métabolique élevée, corroborant ainsi notre hypothèse. Il reste à chercher si une telle corrélation existe encore dans le contexte de pathologies. Ce travail étaye l'idée selon laquelle la méthode des graphes est appropriée pour aller étudier certaines propriétés de connections cérébrales.

Références

1. Achard *et al.* J. Neurosci., 26(1):63-72, 2006.
2. Tzourio-Mazoyer N *et al.* Neuroimage, 15(1):273-289, 2002

Point Set Analysis For Multiscale Histopathological Image Analysis

N. Loméni¹

¹Université Paris Descartes

Introduction

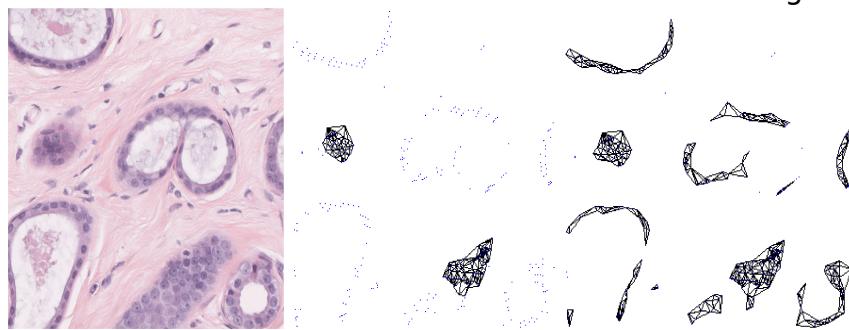
We propose a new image analysis methodology involving point set representations and mathematical morphology filtering. The rationale is to work on a sparse/parcimonious representation of redundant radiometric images based on a geometrical and morphological analysis. Basically, any low-level image analysis algorithm that provides a set of interest points can be input of our filtering algorithms. The basic data structure is the Delaunay triangulation but any mesh representation can work. The point is to be as much as possible statistically independent of the intrinsic quality of the low-level extractor by resorting to structural and morphological configurations of the cell nuclei seeds in the case of histopathological images.

Material and Method

We work on Whole Slide Images (WSI) of breast cancer biopsies acquired with recent scanner devices like the Aperio one [Huang et al. 2011]. We work under the supervision of the department of Histopathology at Hospital La Pitié Salpêtrière, Paris, France. The clinical objective is to assist the gradation of the breast cancer knowing that the « histopathological reading » of a slide is intrinsically a semantic approach done at different scales of magnification. Hence, the algorithms we developed aim at operating at these different scales in a way as seamless as possible. We rely on the observation that the only stable, robust low-level image analysis algorithm working on these complex, large, versatile in the staining and high-content data boils down to the nuclei detection. And yet there is still much room for improvement for this particular task.

Results

Preliminary results proved the usability of the algorithms to focus, discriminate, extract interesting cell nuclei configurations over a WSI (see Figure below) at different scales/magnification. For instance, first results on Region of Interest extraction at very low resolution and subsequently tractable were obtained. In addition, we successfully tested the discrimination efficiency at higher scales between subtle arrangements of cell nuclei corresponding to tubular formations or Ductal Carcinoma In Situ is being.



Conclusion

Our methodology is used to automatically annotate WSI with the primary goal of telediagnostic. Then, more biological issues will be under scrutiny for the coming experiments. Preliminary results are given in [Lomenie et al. 2012] and a thorough study over clinical cases is currently submitted to IEEE Transactions on Medical Imaging. We believe that the methodology can benefit life imaging, specially for video sequence analysis of cells arrangements.

References

1. Lomenie et al. 2012. Pattern Recognition, pp. 2894-2911, 2012 - N. Loméni, and D. Racoceanu, "[Point Set Morphological Filtering and Semantic Spatial Configuration Modeling: application to microscopic image analysis](#)", vol. 45, issue 8, 02/2012.
2. Huang et al. 2011. Computerized Medical Imaging and Graphics, pp. 579-591, 2011 - C-H. Huang, A. Veillard, L. Roux, N. Loméni, and D. Racoceanu, "[Time-efficient sparse analysis of histopathological Whole Slide Images](#)", vol. 35, issue 7, 11/2011.

Estimation of *in vivo* human myocardial fibre strain by integrating tagged and diffusion tensor MRI

C. Casta¹, V.Y. Wang², P. Croisille¹, Y-M. Zhu¹, B.R. Cowan², A. Young², M.P. Nash², P. Clarysse¹

¹ Université de Lyon, CREATIS, CNRS UMR5220, Inserm U1044, INSA-Lyon, France

² Auckland Bioengineering Institute, University of Auckland, New Zealand

Introduction

Understanding the dynamics and mechanics is a very challenging task. MRI tagging (tMRI) has been used to extract *in vivo* myocardial deformation noninvasively. This does not reflect the *in vivo* local muscle fibre strain, which can provide important information on regional myocardial function. Diffusion tensor MRI (DTMRI) has been used to obtain descriptions of the heart fibre architecture. The purpose of this study was to develop methods to incorporate realistic fibre orientation data to enable non-invasive estimates of the *in vivo* human fibre strains throughout the cardiac cycle. This was done by integrating *in vivo* motion and *ex vivo* myofibre information into a finite element (FE) model of a human left ventricle (LV) [1].

Material and Method

In vivo tMRI images of a healthy human heart (age: 47, male) were acquired using a CSPAMM technique with a 1.5T Siemens Avanto scanner. The dataset consists of 12 short-axis and 6 long-axis images, with 24 frames per cardiac cycle. Geometric information of the human LV were extracted by identifying the endocardial and epicardial boundaries of the LV semi-automatically. A LV FE model was fitted to the segmented surface contours at the end-diastolic frame of the cardiac cycle. The reconstructed 3D deformation field was used to deform the LV FE model to retrieve torsion and rotation.

Ex vivo DTMRI images of a healthy human heart (age: 26, female) were acquired on the

same scanner. This dataset was selected from a database of 10 cases used to build a human statistical atlas of the cardiac fibre architecture [2]. The LV surfaces were segmented from DTMRI and used as masks to extract fibre vectors for only the LV myocardium. To incorporate fibre orientations into the LV FE model, a transformation model (LVFE-DTI) (b) was constructed based on the segmented contours from (a). Then, each fibre vector was projected to a plane parallel to the LV wall and the elevation angle with respect to the local circumferential direction was calculated. The fibre angles were fitted to the LVFE-DTI model using nonlinear fitting (c). Finally, the fitted fibre field was reverse-mapped back to the *in vivo* LV FE model (d). End-systolic (ES) circumferential and fibre strains were evaluated at a set of evenly-spaced points spanning the LV myocardium.

Results

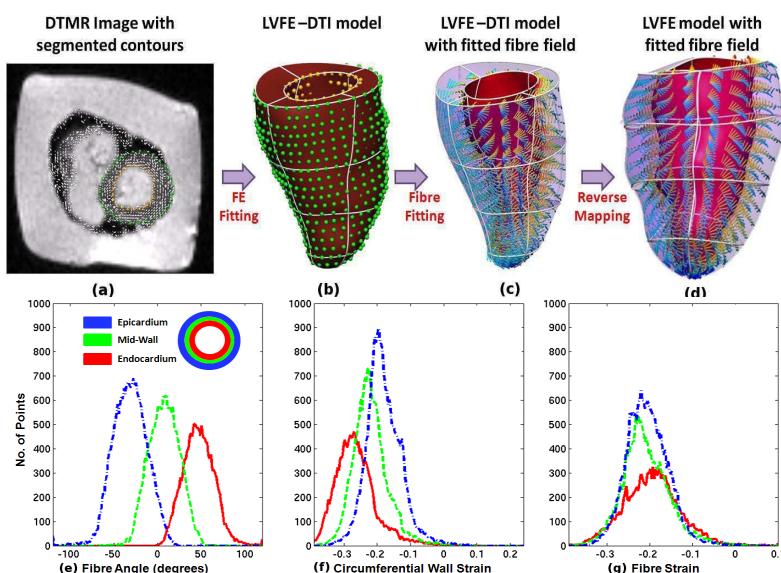
(e) shows the transmural variation of fibre angles throughout the myocardium, which is consistent with previous studies. (f) indicates that the mean ES circumferential strain is heterogeneously distributed. This, however, was not the case for ES fibre strains which were approximately homogeneously distributed with mean fibre strains of -0.21 ± 0.06 throughout the LV (g).

Conclusion

We are presently extending our analysis to explore the effects of using 7 sets of DTMRI and 3 sets of tMRI data in order to quantify the sensitivity of fibre strain estimates to the variation in human *in vivo* and *ex vivo* data. First results on 7 DTMRI cases coupled with a single tMRI dataset indicate that ES fibre strains are indeed homogeneously distributed.

References

- Wang et al. (2012). Estimation of *in vivo* human myocardial fibre strain by integrating diffusion tensor and tagged MRI using FE modelling. ISBI, Barcelona.
- Lombaert et al. (2012). Human atlas of the cardiac fiber architecture : Study on a healthy population. IEEE Trans. Med. Imaging, 31(7) :1436-1447.



Observation par microscopie optique confocale et quantification par analyse d'images numériques du franchissement de la muqueuse génitale féminine par le virus HIV.

Y. Hadjali¹, R. Terrasse², T. Olivier³, S. Palle³, Y. Gavet¹, T. Bourlet², B. Pozzetto², J-C. Pinoli¹

¹Ecole Nationale Supérieure des Mines de Saint-Etienne France

²Groupe Immunité des Muqueuses et Agents Pathogènes, PRES de Lyon, Université Jean Monnet, IFRESIS et CHU de Saint-Etienne, France.

³ Centre de Microscopie ConfocaleMultiphotonique, Université Jean Monnet, Pôle Optique et Vision, Saint-Etienne, France.

Introduction

Devant les difficultés à mettre au point une vaccination anti-HIV universelle, une meilleure compréhension des mécanismes cellulaires et moléculaires conduisant à la contamination hétérosexuelle permettrait d'affiner les nouvelles stratégies de lutte antivirale. La contamination par le HIV se produit essentiellement par les muqueuses (digestives, rectales ou génitales). Pour comprendre le mécanisme du passage du virus à travers ces muqueuses, une monocouche de cellules épithéliales génitales féminines (i.e. de l'utérus) a été mise en contact avec un virus chimérique pendant différent temps d'infection. Ces virus expriment une protéine fluorescente détectable par microscopie optiqueconfocale, ce qui permet de l'observer dans la muqueuse et de tirer des conclusions qualitatives.Cependant, la quantification des phénomènes nécessite de mettre au point des techniques de traitement et analyse des images adaptées à la détection (i.e. segmentation) des contours des cellules, des noyaux et des virus sur des images volumiques (i.e. une pile d'images planaires) obtenues parun microscope optique confocal.

Matériel et Méthode -Material and Method

Le logiciel matlab® est utilisé pour mettre en place les prototypes logiciels. Les méthodes mises en place dans la rechercheprésentée ici font appel à la morphologie mathématique [1] pour segmenter les contours et les noyaux des cellules, ainsi que les virus.

Contours des cellules : les contours des cellules sont détectés après une étape de filtrage (filtre alterné séquentiel), puis une étape mettant en évidence les parties linéaires des bordures, et enfin une fermeture des contours utilisant la ligne de partage des eaux morphologique [2]. Cette méthode présente la caractéristique de mélanger des approches contours et régions pour réaliser la segmentation [3].

Noyaux des cellules : l'image des noyaux est tout d'abord filtrée et seuillée, puis segmentée en utilisant la ligne de partage des eaux contrainte par marqueurs. Ces marqueurs permettent d'éviter la sur-segmentation et sont trouvés grâce au calcul de la carte des distances sur l'image seuillée.

Localisation des virus : les virus sont environ mille fois plus petits que les cellules. Ce qui est détecté est en fait un amas de virus. Le bruit étant très présent dans les images, une étape de filtrage est réalisée (filtre moyenneur), permettant de sélectionner (selon une valeur seuil d'intensité) les zones où la présence du virus est significative.

Résultats - Results

Les techniques développées demandent un temps de calcul assez faible. Les résultats obtenus sont les méthodes elles-mêmes. Celles-ci permettent de quantifier la présence du virus en fonction de la profondeur de pénétration dans différentes monocouches de cellules épithéliales génitales utilisées. Ces méthodes permettent également de localiser le virus dans les noyaux des cellules ou dans le cytoplasme et d'en mesurer la densité d'occupation spatiale. En termes quantitatifs, les premiers résultats montrent que pour les faibles temps d'infection (3h), le taux d'occupation des virus est important dans les coupes superficielles de la pile d'images. Par contre, pour des temps élevés (24h), le taux d'occupation des virus atteint son maximum dans les coupes profondes, ce qui correspond à la position des noyaux.

Conclusion et perspectives

Ce travail a permis de mettre en place des algorithmes d'analyse et de quantification de la présence des virus dans les muqueuses, rapides, qui vont permettre aux biologistes de faire des mesures quantitatives de la présence des virus dans leurs cultures cellulaires. Les perspectives de ce projet sont d'étudierdes lames sur de grandes zones afin'd'avoir une quantification représentative à une échelle représentative, et de répéter ces observations un grand nombre de fois et à plusieurs temps d'infection.

Références–References

1. Serra. Image analysis and mathematical morphology: Vol. 2 London: Academic Press, 1988.
2. Soille, P. Morphological Image Analysis: Principles and Applications Springer-Verlag New York, Inc., 2003.
3. Gavet et al. Image Analysis and Stereology, 27:53-61, 2008.

Algorithmes LM-MLEM pour la reconstruction d'images pour caméra Compton

X. Lojacono¹, E. Hilaire¹, R. Prasad¹, V. Maxim¹, R. Prost¹

¹ Université de Lyon, CREATIS ; CNRS UMR5220 ; Inserm U1044 ; INSA-Lyon ; Université Lyon 1, France

La caméra à collimation électronique, aussi appelée caméra Compton, est un dispositif d'imagerie permettant la détection de photons gamma. La capture de ces particules émises par un objet rayonnant est rendue possible par la diffusion Compton des photons dans les détecteurs. L'ensemble des données obtenues va permettre d'imager la source du rayonnement, l'image étant calculée par reconstruction tomographique. L'algorithme de reconstruction le plus utilisé à l'heure actuelle est un algorithme itératif basé sur le maximum de vraisemblance: l'algorithme MLEM (Maximum Likelihood Expectation Maximization). Les avantages de la caméra Compton (reconstruction 3D avec un dispositif fixe, collimation électronique réduisant la perte d'information liée à la collimation mécanique) en font un candidat prometteur en médecine nucléaire (tomographie d'émission mono-photonique TEMP) et en contrôle de la qualité de traitement en hadronthérapie. Ce travail présente plusieurs approches pour le calcul de la matrice de transition du système d'imagerie, avec ou sans prise en compte de la résolution énergétique des détecteurs. Des images reconstruites à partir de données issues de simulations Monte Carlo sont également présentées.

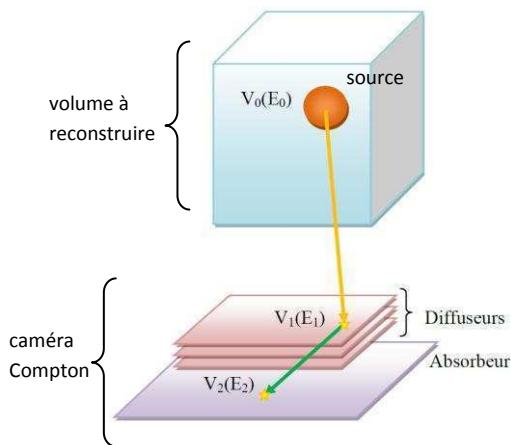


Figure 1. Principe de la diffusion Compton et design de la caméra Compton simulée. Une source émet un photon en V_0 avec une énergie E_0 qui interagit avec un diffuseur de la caméra au point V_1 délivrant une énergie E_1 . La particule est diffusée puis absorbée en V_2 dans l'absorbeur délivrant une énergie E_2 . L'ensemble des données recueillies permet la reconstruction de la source.

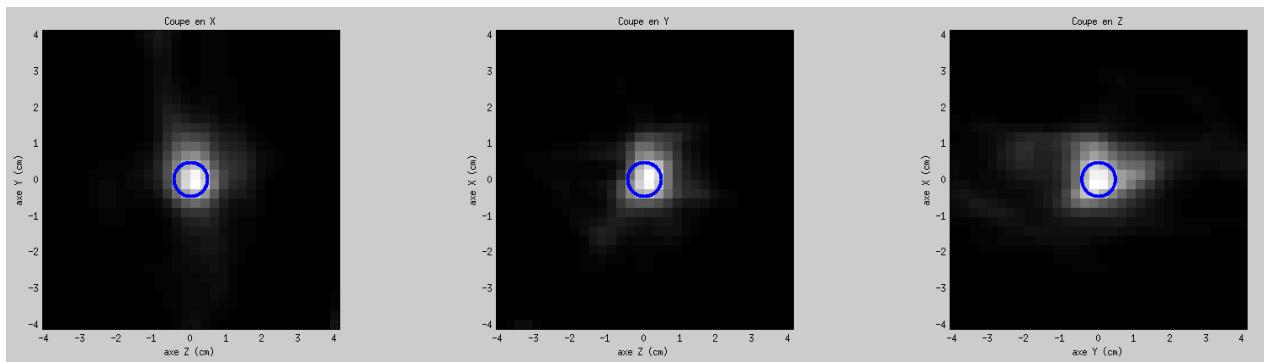


Figure 2. Coupes centrales du volume 3D reconstruit englobant une source de photons de 1cm de diamètre avec prise en compte des résolutions des détecteurs.

Références – References

1. X. Lojacono et al, "[Calcul de la matrice des probabilités de transfert en imagerie Compton 3D](#)", XXIII^e Colloque GRETSI - Traitement du Signal et des Images (GRETSI'11), Bordeaux, France, pp. ID432, 2011

Conception et évaluation d'une géométrie de collimation multi-focale en TEMP pré-clinique

Didier Benoit¹, Julien Bonte¹, Medhi Leabad², Serge Maîtrejean², Françoise Mathy³, Guillaume Montemont³, Irène Buvat¹

¹ QIM IMNC-IN2P3/CNRS, UMR 8165, Orsay, FRANCE

² Biospace Lab Company, Paris, FRANCE

³ CEA-LETI, Grenoble, FRANCE

1. Introduction

En tomographie d'émission monophotonique (TEMP), les caractéristiques du collimateur affectent le compromis entre sensibilité et résolution spatiale. En TEMP pré-clinique, des collimateurs pinholes, multi-pinholes et parallèles ont été décrits. Nous proposons d'étudier les performances d'un collimateur original multi-focal (SVFCB-In) dont les distances focales ont la particularité d'être dans le champ de vue et d'augmenter continuellement du centre au bord du collimateur [1]. La sensibilité est alors augmentée dans l'organe d'intérêt par rapport à un collimateur parallèle. Cependant, pour cette géométrie de collimation atypique, une reconstruction tomographique analytique n'est pas envisageable [2]. Nous avons donc développé un algorithme statistique de type OS-EM-ML [3]. Différents modèles de projecteurs ont aussi été testés pour évaluer leurs impacts dans l'image reconstruite.

Enfin, un modèle de fonction de réponse du système (PSF) a été introduit [4] pour améliorer la qualité de l'image reconstruite.

2. Matériel et Méthodes

a) DéTECTeur et collimateur

Le détecteur est composé de 131x131 pixels ($0,75 \times 0,75 \times 5 \text{ mm}^3$) en CZT. La résolution en énergie est de 8 % à 140,5 keV et la résolution spatiale intrinsèque 0,5 mm. Deux géométries de collimation ont été étudiées : 1) Parallèle ; 2) SVFCB-In, avec les focales les plus courtes dans le champ de vue.

b) Simulations

Nous simulons des jeux de données réalistes avec le logiciel de simulation Monte Carlo GATE [5] : une ligne source de ^{99m}Tc pour caractériser la fonction de réponse du système, un cylindre homogène de ^{99m}Tc pour mesurer le bruit dans les images reconstruites, et un fantôme Derenzo pour apprécier la résolution spatiale.

c) Reconstruction

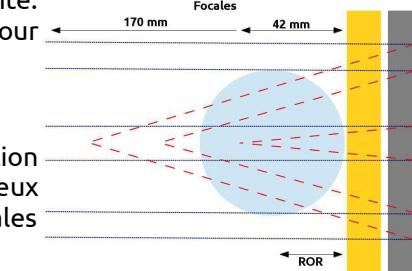
Les données ont été reconstruites avec la méthode OS-EM-ML et 20 sous-ensembles. Le nombre d'itération a été choisi de sorte d'atteindre un bruit de 40 % dans les images reconstruites. Deux projecteurs utilisant l'algorithme Siddon [6] ont été étudiés :

- S-RT (Siddon ray-tracing), une ligne joint le centre du pixel à la focale correspondante.
- S-RT-SA (S-RT with solid angle), un point choisi aléatoirement à la surface du pixel joint un autre point choisi aléatoirement à l'entrée du collimateur.

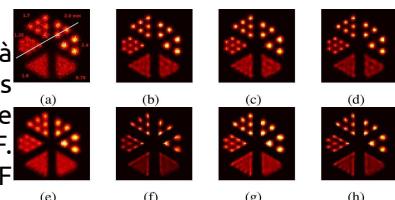
La PSF du système a été modélisée dans l'espace image par convolution. Un modèle de PSF isotrope et stationnaire avec une FWHM de 1,5 mm (resp. 0,75 mm) a été utilisé pour S-RT (resp. S-RT-SA).

3. Résultats

Le collimateur SVFCB-In a une sensibilité 2,5 supérieure, dans le champ de vue, à celle du collimateur parallèle. Les images du fantôme de Derenzo sont représentées ci-contre. Pour les deux collimateurs, la résolution spatiale est améliorée avec le projecteur S-RT-SA comparé au S-RT, surtout en l'absence de modélisation de la PSF. Dans le cas du SVFCB-In, les inserts sont déformés à cause du modèle de PSF isotrope et stationnaire : un modèle plus élaboré est en cours d'implémentation.



Vue axiale des deux collimateurs.
Collimateur parallèle en bleu et SVFCB-In en rouge.

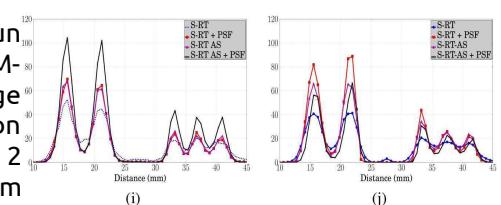


4. Conclusion

Nous avons démontré la faisabilité de reconstruire des images acquises avec un collimateur multi-focal avec focales dans le champ de vue par l'approche OS-EM-ML, et avons mis en évidence l'impact du modèle de projecteur sur l'image reconstruite. L'utilisation d'un projecteur sophistiqué ainsi que la modélisation de la PSF améliorent significativement la qualité des images. Pour les 2 collimateurs, la résolution passe de 1,7 mm, avec S-RT et sans PSF, à 1,35 mm avec S-RT-SA et PSF. Un modèle de PSF non stationnaire est actuellement implémenté pour ce collimateur original.

5. Références

- [1] J. Hsieh, *United States Patent 4823017*, 1989
- [2] G.L. Zeng et al., *IEEE Trans. Med. Imag.*, vol. 13, no. 3, pp. 549-556, 1994.
- [3] H.M. Hudson et al., *IEEE Trans. Med. Imag.*, vol. 13, no. 4, pp. 601-609, 1994.
- [4] A.J. Reader, *IEEE Trans. Nucl. Sci.*, vol. 50, pp. 1392-1397, 2003.
- [5] S. Jan et al., "GATE: a simulation toolkit for PET and SPECT", *Phys. Med. Biol.*, vol. 49, no. 19, pp. 4543-4561, 2004.
- [6] R. L. Siddon, *Med. Phys.*, vol. 12, no. 2, pp. 252-255, 1985.



Images du Derenzo: collimateur parallèle avec S-RT (a), avec S-RT + 1,5 mm PSF (b), avec S-RT-SA (c) et avec S-RT-SA + 0,75 mm PSF (d); collimateur multi-focal avec S-RT (e), avec S-RT + 1,5 mm PSF (f), avec S-RT-SA (g) et avec S-RT-SA + 0,75 mm PSF (h). Profils sur les inserts de 2 et 1,35 mm pour le collimateur parallèle et multi-focal (i) et (j).

Analyse multi échelle et multi observation pour l'imagerie multi modale en oncologie

H. Hanzouli, M. Hatt, D. Visvikis

INSERM UMR 1101, LaTIM, Brest, F-29200 France

Introduction

Ce travail s'inscrit dans le cadre du développement d'une médecine davantage personnalisée et préventive, qui nécessite une fusion d'informations et une quantification plus précise et fiable. L'objectif étant de développer des nouvelles méthodes d'analyse d'images multimodales dans un cadre statistique multi échelle et multi observation, nous avons développé un arbre de Markov caché permettant d'exploiter les avantages des coefficients en ondelettes et les coefficients en Contourlet dans un cadre unifié (WCHMT). Une première application de débruitage monomodal des images Tomographiques par Emission de Positons (TEP) a été mise en place pour évaluer le modèle élaboré.

Matériel et Méthode

D'une part, les modèles basés sur les coefficients ondelettes [1] permettent une représentation locale des propriétés spectrales de l'image. Un des atouts de la transformée en ondelettes dans le domaine de traitement d'image est la représentation multi échelle qui permet une bonne prise en compte des structures isotropiques. Cependant, ce type de transformée n'est pas optimal pour la représentation anisotropiques dans l'image comme les contours. D'autre part, les modèles basés sur la transformée en Contourlet [2] ont démontré une efficacité à capturer les structures intrinsèques géométriques (anisotropiques) mais demeurent limités à l'égard des structures isotropiques. Pour une meilleure représentation de l'ensemble des structures résidant dans l'image, on exploite la spécificité des modèles hiérarchiques, plus spécifiquement l'arbre de Markov caché [3], de gérer simultanément les propriétés complémentaires des coefficients ondelettes et Contourlet dans un cadre unifié. Soit un modèle de Markov quad-tree (Figure.1) dont les états sont décrits par un vecteur multi observation contenant les coefficients ondelettes et Contourlet. Les paramètres du modèle ont été estimés à travers l'algorithme d'Estimation-Maximisation (EM). Par suite, une optimisation des états cachés a été effectuée par le moyen de l'estimateur de maximum à posteriori (MAP).

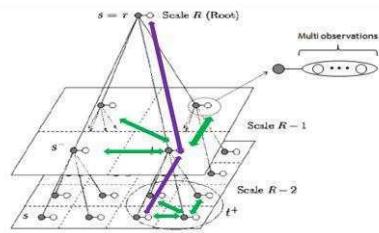


Figure 1: Arbre de Markov Caché

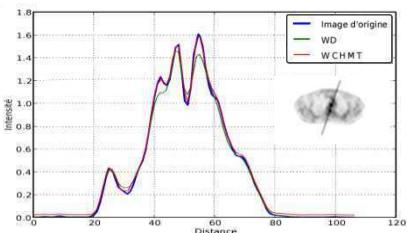


Figure 2: Résultats des Profils traversant l'image TEP

	% Variation d'intensité		% Réduction du contraste Local		% Augmentation d'SNR	
	WD	WCHMT	WD	WCHMT	WD	WCHMT
Médiastin	-3,01	0,57	7,94	3,63	14,26	15,58
Poumon	4,07	-0,06	5,72	2,05	13,56	12,98
Foi	-12,37	0,95	10,66	3,53	12,87	11,92
Tumeur	0,32	0,25	4,12	2,61	7,83	9,04

Table 1: Résultats quantitatifs calculés dans des régions d'intérêt

Résultats

La performance du modèle développé (WCHMT) a été évaluée pour le débruitage d'une image corps entier acquise par un scanner PHILIPS GEMINI TEP/CT et reconstruite avec l'algorithme RAMLA [4]. Les résultats obtenus ont été comparés avec une méthode de référence pour le débruitage en TEP, le débruitage des coefficients ondelettes (WD). Des profils traversant des structures d'intérêt ont été tracés pour évaluer la préservation ou la perturbation des structures. Les résultats illustrés dans la figure.2 montrent des profils similaires avec l'approche proposée et des pertes au niveau des structures dans les profils du débruitage en ondelettes. L'évaluation quantitative des résultats (Table 1) a abouti à une hausse significative du rapport signal-sur-bruit (SNR) pour chacune des deux méthodes, le débruitage en ondelettes étant légèrement meilleur dans le médiastin, les poumons et le foie tandis que la méthodologie proposée conduit à des meilleurs résultats au niveau de la tumeur d'œsophage. De plus, le débruitage WCHMT garanti la moindre variation de l'intensité et du contraste local, ce qui est indispensable pour une meilleure exploitation plus avancée de l'information pertinente dans l'image.

Conclusion

Dans cette étude, nous avons proposé un nouveau cadre dédié à l'imagerie multi modale. Un arbre de Markov caché combinant simultanément les coefficients Ondelettes et Contourlet a été développé et testé initialement pour le débruitage en TEP. Les résultats obtenus montrent que la méthodologie proposée offre le meilleur compromis entre la qualité de débruitage et la préservation des structures et de l'information utile. Les travaux futurs seront consacrés l'exploitation du modèle développé pour la segmentation multi modale (PET / CT, PET / IRM).

Références

- [1] Mallat, Stéphane G. *A Wavelet Tour of Signal Processing: The Sparse Way*. Academic Press, 2009.
- [2] D. D.-Y Po, M. N Do, "Directional multiscale modeling of images using the contourlet transform," *IEEE Transactions on Image Processing* 2006;15(6):1610-20.
- [3] J.-M. Laferté, et al, "Discrete markov image modeling and inference on the quad-tree," *IEEE Trans. Image Process.*, 2000;9(3):390-404.
- [4] M. Hatt, et al, "A fuzzy locally adaptive Bayesian segmentation approach for volume determination in PET", *IEEE Trans Med Imaging* 2009;28(6):881-893.

Homogenization in Biophotonics

S. Mottin¹ and G. Panasenko²

1: UMR5516, Lab.Curien, CNRS, Univ. Lyon, Univ. Monnet, 42000 Saint-Etienne

2: UMR5208, Inst. Camille Jourdan, CNRS, Univ. Lyon, UJM, 42023 Saint-Etienne

KEYWORDS

Absorbing Nano-objects, Small Animal Imaging and Spectroscopy, Far-field Optical Tomography, Homogenization, Partial Differential Equation (PDE).

ABSTRACT

The homogenization mathematical tools [3] for the up-scaling from nano, micro to macro in “periodic media” are considered in in vivo biophotonics (functional imaging with femtosecond or continuous laser) where biological tissues are highly heterogeneous media at the nanoscopic, microscopic and macroscopic scales [1-2].

The light absorption in a tissue could be modeled by the Helmholtz equation :

$$\epsilon_{\perp} u_{\perp\perp} + \delta(\omega/\lambda) u_{\perp\perp} = f \quad (1)$$

ϵ and δ (small parameters <1) describe the periodic medium, and ω^{-1} (small parameter $<<1$, function of the wavelength) is the ratio between the scattering coefficient and the absorption coefficient [3].

Since 40 years, these 2 “constant homogenized parameters” have been used with the equation (1). This communication discusses the limitations of this approach in the case [1] of this stationary case (elliptic PDE) and also the time-resolved condition (parabolic PDE).

[1] Mottin et al, Journal of Neurochemistry, 2003; DOI: 10.1046/j.0022-3042.2003.01508.x

[2] Mottin et al, Journal of Cerebral Blood Flow and Metabolism, 2011b; DOI : 10.1038/jcbfm.2010.189
(news & views: A new technique for functional imaging in songbirds and beyond; J Cereb Blood Flow Metab 2011, 31, 391-392; <http://www.nature.com/jcbfm/journal/v31/n2/full/jcbfm2010190a.html>)

[3] Mottin et al, PLoS One, 2011a; DOI: e14350 10.1371/journal.pone.0014350 ; pdf : open access.

Application of a generalized reconstruction by inversion of coupled systems (GRICS) approach for respiratory motion correction in PET/MRI imaging.

Hadi Fayad¹, Freddy Odille², Jacques Felblinger², Dimitris Visvikis¹

¹ INSERM U1101, LaTIM, Brest, France

² INSERM U947, University of Nancy, Nancy, France

Introduction

Respiratory motion is a source of artifacts in multimodality imaging. Within the context of PET/MRI, 4D MRI datasets may be used to extract spatial deformations to correct for respiratory motion during PET image reconstruction. The objective of this work is the use of a generalized reconstruction by inversion of coupled systems (GRICS) approach¹ in order to obtain internal MRI structure motion and associated deformation matrices for use in PET respiratory motion correction.

Material and Method

The GRICS method consists of formulating parallel MRI imaging as a coupled inverse problem. Its resolution, using a fixed-point method, allows both the coil sensitivity maps and the reconstructed image to be improved compared to using raw, low resolution coil sensitivity estimates. One of the method's advantages for PET/MRI motion correction is its potential association with any standard MRI sequence. The method's efficiency was tested by comparing GRICS generated MRI images to 4D MRI series reconstructed from dynamic sagittal 2D images acquired while the patient is free breathing. Results were validated by using experts selecting some easily identified anatomical landmarks in both the acquired and generated 4D MRI datasets. Simulated 4D PET datasets corresponding to real 4D MRI images (2 volunteer datasets) were simulated with GATE. Using these simulated datasets GRICS generated deformation matrices, compared to the use of the acquired 4D MRI series, were used for PET respiratory motion correction.

Results

Good correlation (≈ 0.9) and expert validation (errors at the level of a pixel) were found between the GRICS generated and acquired 4D MRI series. The use of the GRICS generated deformation fields lead to improved qualitative and quantitative accuracy in the simulated motion corrected PET images.

Conclusion

Our results indicate that using GRICS is an efficient tool for PET respiratory motion correction in combined PET/MRI imaging.

References

- Odille F et al. Magn Reson Med. 2008 Jul;60(1):146-57.

Estimer les paramètres de microvascularisation en imagerie de contraste ultrasonore à l'aide une modélisation plus réaliste des données

G. Barrois, A. Coron, T. Payen, A. Dizeux, S.L. Bridal

Université Pierre et Marie Curie, F-75005, Paris, France
 CNRS, UMR 7623, Laboratoire d'Imagerie Paramétrique, F-75006, Paris, France

Introduction

Le suivi quantitatif de l'angiogénèse tumorale par l'imagerie de contraste ultrasonore repose en général sur l'ajustement aux données d'un modèle paramétrique. De faible différences dans l'ajustement du modèle peuvent faire varier significativement les paramètres de perfusion estimés. Dans ce travail, nous démontrons dans un premier temps que la méthode des moindres carrés habituellement utilisée pour estimer les paramètres du modèle est mal adaptée aux données d'imagerie de contraste ultrasonore. Nous présentons ensuite une méthode d'estimation basée sur une modélisation plus réaliste des données. Enfin, nous comparons les résultats obtenus via ces deux méthodes sur des données de perfusion simulées et sur des données de perfusion acquises *in vivo* sur un plan d'imagerie dans le rein de souris.

Matériel et Méthode

La méthode de régression par les moindres carrés est optimale au sens du maximum de vraisemblance pour un modèle de signal corrompu par un bruit additif Gaussien identiquement distribué. Cependant ce modèle semble peu réaliste dans le cadre de données d'imagerie de contraste ultrasonore. Pour étudier la validité de cette hypothèse, des données *in vitro* de produit de contraste en solution à différentes concentrations ont été acquises et analysées en termes de distribution statistique.

Un nouvelle modélisation des données est proposée, et une méthode de régression par maximum de vraisemblance en est dérivée. Cette méthode d'estimation peut s'appliquer à tout modèle paramétrique. La validation est effectuée en bolus aussi bien sur des données simulées que sur des données *in vivo* acquises sur rein de souris. L'évaluation *In vivo* est effectuée à partir de 11 injections effectuées sur 3 souris. Les données obtenues via la méthode classique et la nouvelle méthode sont comparées en termes de variabilité obtenues sur les paramètres de perfusion couramment utilisés (Time to peak (TTP), mean transit time (MTT) area under curve (AUC), wash in rate (WiR)).

Résultats

L'analyse des données d'imagerie de contraste ultrasonore à différentes concentrations en agent de contraste nous montre que le bruit n'est pas gaussien et que sa variance n'est pas indépendante de la valeur moyenne du signal, ce qui remet en cause l'hypothèse d'un bruit Gaussien additif. Cela justifie le développement d'un nouveau modèle. Dans l'analyse des données simulées, la nouvelle méthode se montre plus juste et précise que l'ancienne pour tous les paramètres considérés. Dans l'analyse des données *in vivo*, nous calculons pour chaque pixel d'une région homogène les paramètres TTP, MTT et WiR et AUC. Avec la nouvelle méthode, la variance des paramètres TTP, MTT et WiR à l'intérieur d'une région est significativement plus faible pour plus de 80% des 11 régions considérées.

Conclusion

La nouvelle méthode, en tenant compte plus finement de la nature du signal de l'imagerie de contraste ultrasonore, permet une analyse des données de perfusion plus précise et moins sensible au bruit. De plus, la nouvelle méthode modifie les variabilités relatives des différents paramètres, ce qui peut amener à revoir leur pouvoir discriminant lorsque ces paramètres sont utilisés pour évaluer l'efficacité d'une thérapie.

Quantification tridimensionnelle d'images multiphoton de peau humaine *in vivo*

E. Decencière¹, V. Morard¹, P. Dokladal¹, S. Koudoro, E. Tancrède-Bohin², A.-M. Pena³, T. Baldeweck³

¹Centre de Morphologie Mathématique, MINES ParisTech(Calibri 10, italique)

²L'Oréal Research and Innovation, Centre de Recherche Bioclinique, Hôpital Saint-Louis, Paris, France

³L'Oréal Research and Innovation, Aulnay-Sous-Bois, France

Introduction

La microscopie multiphoton ouvre de nouvelles perspectives pour l'observation de la peau humaine *in vivo*. Aujourd'hui, il n'existe que très peu de méthodes de quantification pour les images résultantes ; aucune en 3D. Nous décrivons une première approche pour la quantification tridimensionnelle de ces données, qui passe par la segmentation multimodale du volume.

Matériel et Méthodes

Microscope : DermalInspect® medical imaging system (JenLab GmbH, Jena, Germany)

. Des signaux SHG (*Second harmonic generation*) et 2PEF (*two-photon emission fluorescence*) sont simultanément obtenus par excitation au moyen d'un laser femtoseconde Titanium-Saphire, avec une longueur d'onde de 760 nm (MaiTai Spectra-Physics, Mountain View, CA, USA).

Base de données : Les données proviennent d'une étude sur le photovieillissement (15 volontaires jeunes ; 15 âgées ; trois images 3D par volontaire de l'avant-bras, deux du côté ventral, une du côté dorsal). Les images résultantes font 511 x 511 x 70 voxels, et comportent les deux modalités co-registrées : 2PEF et SHG.

Méthodes de traitement d'images : les images sont segmentées grâce à une méthode développée spécifiquement pour cette étude. Elle prend en compte les deux modalités, et combine un algorithme de ligne de partage des eaux avec une coupe de graphes. Il en résulte une partition en trois segments - milieu couplant, épiderme et derme – qui donne accès à de nombreuses possibilités de quantification. On mesure par exemple la moyenne d'un signal à l'intérieur d'un segment quelconque. On caractérise aussi la forme des segments (e.g. épaisseur moyenne), ou celle des interfaces, comme la jonction dermo-épidermique (e.g. tortuosité ou position moyenne). On propose enfin des mesures pour caractériser les réseaux de fibres du derme (e.g. diamètre géodésique).

Résultats

La méthode de segmentation est validée par deux experts. Les mesures obtenues sont aussi cohérentes par rapport à ce qui a été observé sur la peau humaine grâce à d'autres modalités, en particulier en histologie sur biopsie de peau.

L'approche 3D permet par ailleurs d'obtenir de nouvelles mesures, qui ne sont pas accessibles en 2D, telles que le diamètre géodésique du réseau de fibres de collagène ou d'élastine dans le derme.

Conclusion

Nous montrons que la quantification 3D d'images multiphoton *in vivo* de peau humaine est faisable et pertinente. L'automatisation constitue un atout du point de vue aussi bien de l'efficacité du traitement, que de son objectivité. De nouvelles mesures deviennent par ailleurs réalisables, qui étaient inaccessibles en 2D.

Références – References

1. M.J. Koehler *et al.* "In vivo assessment of human skin aging by multiphoton laser scanning tomography," Opt. Lett. 31(19), 2879-2881 (2006)
2. T. Baldeweck *et al.*, "In vivo multiphoton microscopy associated to 3D image processing for human skin characterization," Multiphoton Microscopy in the Biomedical Sciences XII, Proc. SPIE 8226-130 (2012).
3. J. Stawiaski *et al.* "Region merging via graph-cuts," Image Anal. Stereol. 27(1), 39-45 (2008).

Anatomical Constraints for 3D Multi-Organ Semi-Automatic Segmentation via Clustering and Graph Cut

Razmig Kéchichian¹, Sébastien Valette¹, Michel Desvignes², Rémy Prost¹

¹Creatis: CNRS UMR5220; Inserm U1044; INSA-Lyon; Villeurbanne, France

²Gipsa-lab: CNRS UMR 5216; Grenoble-INP; Saint-Martin-d'Hères, France

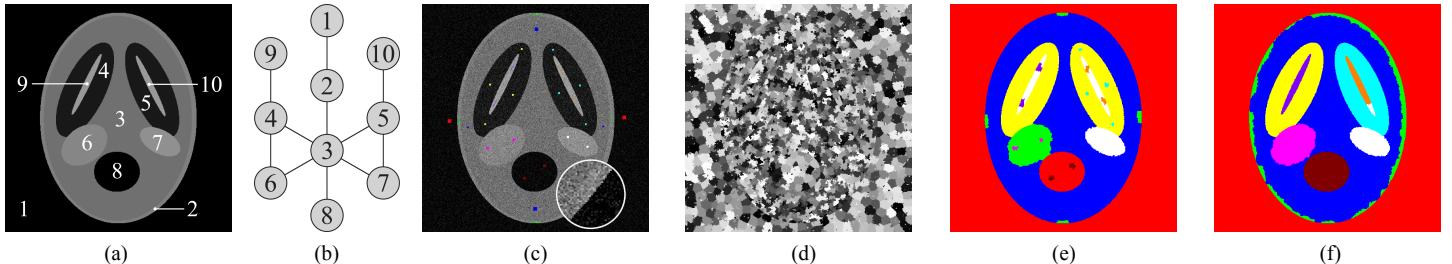


Figure 1: Summary. We represent the spatial configuration of different anatomical structures explicitly by an adjacency graph (b) according to a reference model (a). Given an instance, i.e. a noise corrupted image (c), the practitioner labels different structures with a small number of “seeds”. We first generate a gradient-adaptive clustering of the image (d), then perform a multi-object Graph Cut segmentation on image clusters using supplied seeds and a special graph-based prior we devise. The anatomical vicinity prior, as we term it, is a piecewise-constant model incurring multiple levels of penalization capturing the spatial configuration of structures in multi-object segmentation. Compared to a Potts prior based Graph Cut approach (e), the vicinity prior generally improves segmentation quality. In particular, it allows for correct segmentation of distinct anatomical structures having identical intensity profiles (f) and significantly improves the placement of structure boundaries in the presence of the partial volume artifact in medical images.

Introduction

Medical images are difficult to segment automatically, often due to poor contrast, noise induced gray-level corruption and the partial volume artifact. In addition, many distinct structures can have identical intensity profiles in images making it impossible to segment them on the basis of intensity information. Semi-automatic approaches¹ are therefore of great practical interest as they help initialize an algorithm, resolve its ambiguous decisions and refine its results. Graph Cut methods² have been widely applied to segmentation problems, and many types of prior information (structure location, shape etc.) have been introduced in its framework. Since Graph Cut algorithms employ rectangular grid graphs, they become impractical in applications on high resolution 3D images where several tens of millions of voxels are common.

Approach

We address the problem of Graph Cut data structure size via image simplification. We first over-segment the image by a gradient-adaptive centroidal Voronoi tessellation (Fig. 1d), and then apply Graph Cut segmentation to clusters achieving significant performance improvements on both execution speed and memory footprint without compromising segmentation quality³. Given likelihood and prior definitions, we cast segmentation as a Bayesian labeling problem of variables corresponding to image clusters with labels representing objects. We define the prior according to shortest-path lengths between labels on the adjacency graph capturing the spatial configuration of structures in the scene⁴.

Results

We have evaluated our approach on synthetic (Fig. 1), simulated and real medical images and established its advantages with respect to standard Potts prior-based Graph Cut segmentation⁴. Due to space limitation, we only present results of qualitative validation for a thoracic-abdominal CT segmentation in Fig. 2.

Conclusions and perspectives

Compared to shape prior-based segmentation approaches, structural models capturing such spatial configurations are quite robust to shape deformations, because relative positions of objects remain largely stable. We are currently investigating the extension of the graph-based prior model to express spatial directionality relations and the possibility of introducing uncertainty via continuous edge weights capturing model variabilities.

References

1. C. Rother et al. “GrabCut: interactive foreground extraction using iterated graph cuts,” in ACM SIGGRAPH, 2004, pp. 309-314.
2. Y. Boykov et al., “Fast approximate energy minimization via graph cuts,” IEEE Trans. Pattern Anal. Mach. Intell., vol. 23, no. 11, pp. 1222-1239, 2001.
3. R. Kéchichian et al., “Efficient multi-object segmentation of 3D medical images using clustering and graph cuts,” in 18th IEEE Int. Conf. on Image Processing, 2011, pp. 2149–2152.
4. R. Kéchichian et al., “Anatomical Constraints for 3D Multi-Organ Semi-Automatic Segmentation via Clustering and Graph Cut”, submitted for publication in IEEE Trans. Image Process., 2012.

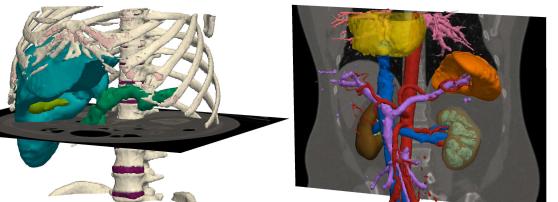


Figure 2: 3D views of surface meshes for selected structures generated from a CT image vicinity prior segmentation.

Déconvolution aveugle en microscopie de fluorescence 3D

F. Soulez^{1,2}, L. Denis³, E. Thiébaut¹, Y. Tourneur²

¹Centre de Recherche Astrophysique de Lyon, CNRS UMR 5574, Université Lyon 1, ENS Lyon.

²Centre Commun de Quantimétrie, Université Lyon 1.

³Laboratoire Hubert Curien, Université Jean Monnet St Etienne.

Introduction

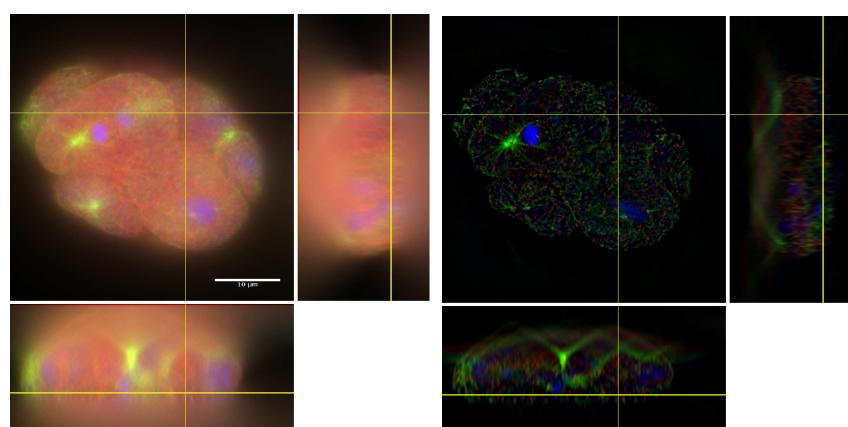
En réalisant des images de fluorescence à différentes profondeurs dans l'échantillon, il est possible d'avoir une représentation 3D des organelles marquées. Malheureusement, en plein champ, la résolution est assez grossière en particulier en profondeur et le volume 3D est couvert d'un « brouillard » généré par la lumière provenant de parties défocalisées. Pour améliorer la résolution, plusieurs solutions ont été proposées : soit modifier le dispositif optique (i) pour réduire la taille de sa fonction d'étalement de point (PSF) comme en microscopie confocale et multi-photon, (ii) ou pour localiser chacun des fluorophores (STORM, PALM) soit (iii) inverser numériquement le flou par des méthodes de déconvolution comme nous le proposons ici. Les méthodes de déconvolution [1,2] nécessitent une bonne connaissance de la PSF qui provient soit de modèles théoriques peu flexibles soit de mesures *in situ* à l'aide de billes de calibration. Le montage optique est alors complexifié pour pouvoir placer précisément ces billes qui dans tous les cas ne fournissent qu'une mesure très bruitée de la PSF. C'est pourquoi poursuivant les travaux de [3,4,5], nous proposons une méthode de déconvolution aveugle où la PSF est estimée uniquement d'après les données scientifiques. Cette méthode s'applique non seulement en plein champ mais aussi en confocale et biphoton.

Méthode

La méthode proposée est basée sur l'approche inverse pour déterminer la PSF et l'objet 3D net le plus probable d'après un modèle de la formation des données et des *a priori*. Cela consiste à estimer le couple objet \mathbf{x} et PSF \mathbf{h} minimisant une fonction de coût $c(\mathbf{x}, \mathbf{h}) = f(\mathbf{x}, \mathbf{h}) + g(\mathbf{x})$ composée d'un terme d'attache aux données $f()$ et d'un terme *a priori* sur l'objet $g()$. Ce problème d'optimisation étant mal conditionné, nous proposons de minimiser $c(\mathbf{x}, \mathbf{h})$ alternativement par rapport à l'objet \mathbf{x} et la PSF \mathbf{h} . La fonction de régularisation $g(\mathbf{x})$ est une classique variation totale 3D. L'*a priori* sur la PSF est uniquement introduite par la paramétrisation de la fonction pupille du microscope décrite par des coefficients sur sa phase, son amplitude et l'indice optique du milieu d'immersion.

Résultats et Conclusion

Cette méthode a été appliquée à des données réelles (Fig 1) et nous avons montré [6] qu'elle surpassait largement les algorithmes état de l'art tant sur les données utilisées par Griffa [7] dans sa revue des méthodes de déconvolution que sur les données utilisées par Kenig [5] (Erreur 11dB comparé à 24dB pour Kenig).



Coupe 3D le long des lignes jaunes d'une observation d'un embryon de *C. elegans* observé en microscopie de fluorescence plein champ (à gauche) et résultat de notre algorithme de déconvolution aveugle (à droite).

Références - References

1. Agard *Annual review of biophysics and bioengineering*, *Annual Reviews* **1984**, 13, 191-219
2. Sibarita, J. *microscopy Techniques*, *Springer*, **2005**, 1288-1291
3. Hanser, B. et al *Journal of microscopy*, **216**, 32-48, 2004
4. Hom, E. et al *J. Opt. Soc. Am. A*, *OSA*, **2007**, 24, 1580-1600
5. Kenig, T et al *IEEE PAMI*, 2191-2204 , **2010**,
6. Soulez, F. et al *ISBI 1735-1738* , **2012**
7. Griffa, A. et al *G.I.T. Imaging & Microscopy*, 1, 43-45 , **2010**

Régularisation spatio-temporelle pour la reconstruction itérative en tomographie dynamique sans estimation de mouvement

F. Momey^{1,2}, C. Burnier-Mennessier², É. Thiébaut¹, L. Desbat³, S. Rit⁴

¹Centre de Recherche Astrophysique de Lyon - Observatoire de Lyon, Université Claude Bernard Lyon 1

²Laboratoire Hubert Curien, Université Jean Monnet, Saint-Étienne

³TIMC-IMAG, Université Joseph Fourier, Grenoble

⁴CREATIS, INSA-Lyon, Université Claude Bernard Lyon 1

Introduction

La tomographie dynamique consiste en la reconstruction d'objets dont les projections sont acquises alors qu'ils sont induits d'un mouvement (par exemple le mouvement respiratoire chez un patient). Le problème de reconstruction tomographique devient alors un problème 4-D (3-D spatiale + temps), à très faible nombre de données puisqu'une projection ne correspondra qu'à un instant spécifique de la séquence 4-D. Notre approche originale est de traiter cette reconstruction comme un problème inverse global avec un terme d'attaché aux données prenant en compte la totalité des projections dynamiques pour estimer directement la séquence 4-D d'une période de mouvement de l'objet, en injectant une régularisation à la fois spatiale de l'objet, favorisant un objet globalement lisse et conservant les hauts contrastes, mais aussi temporelle et n'ayant pour seule hypothèse d'information a priori que la continuité et la périodicité du mouvement, sans estimation ni compensation de mouvement.

Matériel et Méthode

L'acquisition des données en tomographie dynamique est corrélée au temps car l'orientation θ du détecteur est associée à une date t^θ . Ainsi, si l'on connaît la période T du mouvement de l'objet, ainsi que la date d'origine t_0 et les instants t^θ , et en faisant l'hypothèse qu'une acquisition est instantanée, on est en mesure de caler les projections sur la dynamique de l'objet. On peut alors en déduire un modèle spatio-temporel :

$$y^\theta = \mathbf{R}^\theta \cdot \mathbf{S}^{t^\theta} \cdot x \quad (1)$$

opérant une interpolation des tranches temporelles de l'objet \mathbf{S}^{t^θ} , positionnées aux dates $t_\ell \in [t_0, t_0 + T]$, à la date t^θ , suivie d'un opérateur de projection statique \mathbf{R}^θ . L'objet spatio-temporel x représente une seule période de mouvement. En fonction du temps total d'acquisition et de la couverture angulaire du détecteur, chaque projection sera donc associée à un certain nombre de tranches temporelles, affectées d'un coefficient d'interpolation adéquat. Par conséquent, pour une tranche temporelle donnée, le nombre de projections sera assez faible en comparaison du cas de la tomographie sur objet statique. À partir de ce modèle direct, nous formulons le problème inverse de la reconstruction, dont voici le critère à minimiser :

$$x^+ = \arg \min_{x \in \mathbb{X}} \sum_{\theta \in \Theta} \|y^\theta - \mathbf{R}^\theta \cdot \mathbf{S}^{t^\theta} \cdot x\|_{\mathbf{W}}^2 + \mu \mathcal{J}_{\text{prior}}(x) \quad (2)$$

$\mathcal{J}_{\text{prior}}(x)$ constitue notre terme de régularisation spatio-temporel, réglé par 2 hyperparamètres μ_{space} (spatial) et μ_{time} (temporel). La régularisation choisie est une variation totale relaxée :

$$\mathcal{J}_{\text{prior}}(x) = \sum_{k \in \mathbb{Z}^3} \left[\mu_{\text{space}} \sum_{l=1}^3 \left(\frac{\partial x_k}{\partial r_{kl}} \right)^2 + \mu_{\text{time}} \left(\frac{\partial x_k}{\partial t} \right)^2 + \epsilon^2 \right]^{1/2} \quad (3)$$

Résultats

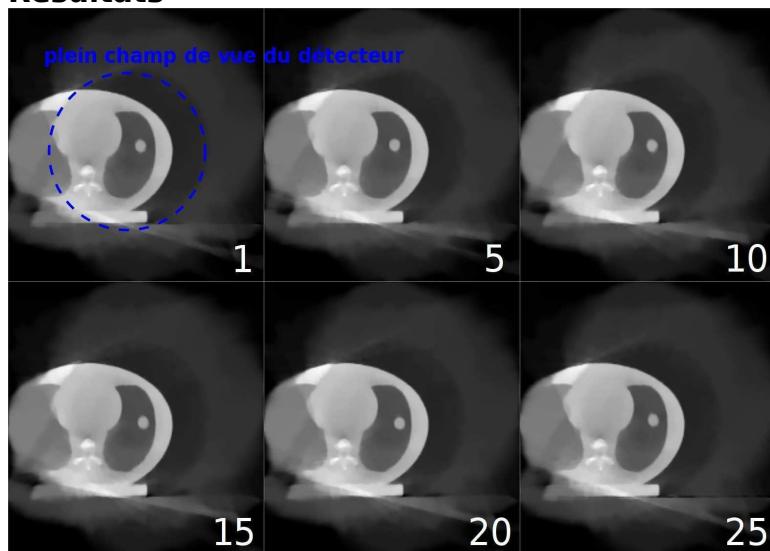


Figure 1. Reconstructions 225x225 avec 25 tranches temporelles d'un fantôme mécanique de thorax, acquises au Centre Léon Bérard, à Lyon, sur un scanner Elekta Synergy cone-beam CT, équipé d'un détecteur plan 512x512. Dans l'un des poumons, une petite sphère a été insérée, qui peut être animée d'un mouvement de translation circulaire dans le plan transversal, et rectiligne dans la direction crâno-caudale, reproduisant ainsi le mouvement d'une tumeur lors de la respiration. Seules les projections correspondant à la coupe transversale centrale ont été extraites pour effectuer des reconstructions 2-D en géométrie fan beam. Environ 600 projections sur 360° ont été acquises sur une durée de 120 secondes. L'objet est tronqué par le détecteur. La période du mouvement de l'insert est de 4 secondes. On montre 6 tranches temporelles de l'objet reconstruit avec les hyperparamètres spatio-temporels donnant une bonne qualité de reconstruction. Sur la première, on indique la zone correspondant au plein de champ de vue du détecteur, autrement dit la zone ne subissant pas l'effet de la troncature des données.

Conclusion

Nos objectifs futurs sont la mise en application de nos algorithmes dans le cas 3-D + temps. Pour le moment, notre approche n'est démontrée que dans le cas d'objets ayant des variations périodiques constantes. Or nous savons qu'en pratique, le mouvement respiratoire d'un patient n'est que pseudo-périodique. Nous devons donc développer encore nos algorithmes pour tenir compte de ces variations, notre objectif restant de pouvoir réaliser une reconstruction dynamique sans autre information que celle apportée par les projections, et sans chercher à estimer le mouvement. Enfin, nous prévoyons d'améliorer la régularisation dans ce type d'application, afin de prendre notamment en compte les lois de conservation de la masse dans le cas d'un objet subissant des déformations non rigides.

Références

1. L. Desbat et al. IEEE Transactions on Medical Imaging, 26:261-269, 2006.
2. E. Gravier et al. Physics in Medicine and Biology, 51:4603-4619, 2006.
3. A.A. Isola et al. Physics in Medicine and Biology, 63:6777-6797, 2008.
4. S. Rit et al. IEEE Transactions on Medical Imaging, 28:1513-1525, 2009.

Reconstruction non linéaire itératif des images de phase en rayons X

Valentina DAVIDOIU¹, Bruno SIXOU¹, Max LANGER^{1, 2} et Françoise PEYRIN^{1, 2}

¹ CREATIS, CNRS UMR5220; Inserm U630; INSA-Lyon; Université Lyon 1; Université de Lyon, Villeurbanne, France

²European Synchrotron Radiation Facility, Grenoble, France

Introduction

L'imagerie par contraste de phase en rayons X est une technique qui repose sur une mesure de l'intensité de Fresnel diffractée associée à un déphasage induit par l'objet. La restitution de cette phase est un problème inverse mal posé qui requiert une régularisation. Dans ce travail, nous avons étudié la résolution du problème inverse non linéaire avec un seuillage itératif des coefficients d'ondelette combiné avec une méthode non linéaire itérative associée à la régularisation de type Tikhonov, basée sur la dérivée de Fréchet de l'opérateur direct et sur des opérateurs de projection.

Matériel et Méthode - L'algorithme de récupération de la phase a été évalué en utilisant le fantôme 3D Shepp-Logan en présence de bruit. Cette approche a été mise en œuvre avec trois distances objet-détecteur sélectionnées de manière aléatoire, pour obtenir une bonne reconstruction.

Résultats - Les simulations numériques montrent que notre approche qui combine deux méthodes itératives améliore le schéma linéaire classique et les méthodes non linéaires sans l'étape de seuillage en ondelettes.

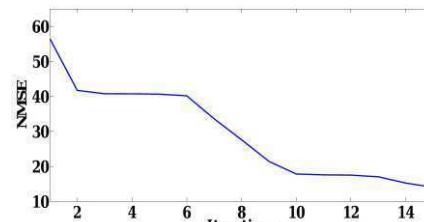
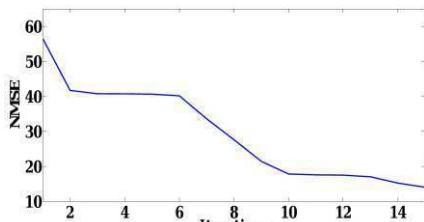


Fig. 1: NMSE (%) phase versus numéro de itérations avec l'initialisation (a) la solution Mixed et (b) la solution CTF

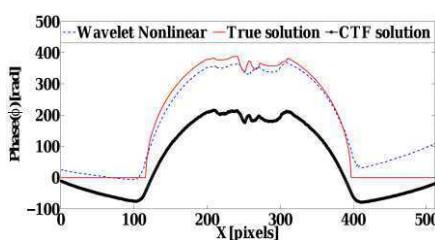
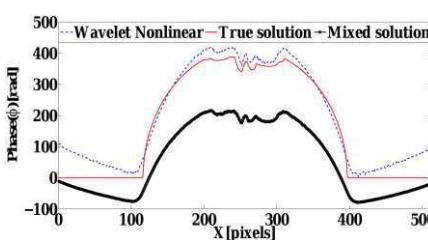


Fig. 4: Diagonal profils pour Shepp-Logan fantôme obtenus avec (a) la méthode Mixed et l'approche proposé (WNL) initialisé avec la solution Mixed, (b) la méthode CTF et l'approche proposé (WNL) avec l'initialisation CTF.

Conclusion - Cette approche est moins sensible au bruit et la restitution des hautes et basses fréquences est améliorée. Dans un travail ultérieur, notre méthode sera testée sur des données expérimentales, acquises à l'ESRF (European Synchrotron Radiation Facility, Grenoble, France). Elle devrait ouvrir de nouvelles perspectives pour l'étude d'échantillons biologiques.

Références

1. V. Davidou et al. IEEE Signal Processing Letters , vol.19 : 579 - 582 ,2012
2. V. Davidou et al. Optics EXPRESS, vol. 19 : 22809–22819, 2011.
3. J. P. Guigay et al. Optics Letters, vol32 : 1617-1619, 2007.
4. P. Cloetens et al. J. Phys. D.:Appl. Phys. vol 29 : 133-146, 1996.
5. J.R. Fienup Applied Optics, vol 21 : 2758-2769, 1982.
6. D. M. Paganin Oxford University Press, New York, 2006.
7. M. Langer, et al. J. Opt. Soc. Am. A, vol 28 : 1877-1882 (2009).

eRWT : une approche générique pour comparer différentes méthodes d'estimation de biomarqueurs à partir d'images médicales, en l'absence de vérité terrain

F Frouin¹, J Leibenberg^{1,2}, I Buvat³, A de Cesare¹, M Lefort¹, A Lalande⁴, M Garreau⁵ et le groupe GRIC-MedIEval

¹Laboratoire LIF, UMR_S 678 UPMC/Inserm, Paris, France

²Laboratoire PRIAM, ESME-Sudria, Ivry sur Seine, France

³Laboratoire IMNC, UMR 8165 CNRS, Université Paris-Sud, Orsay, France

⁴Laboratoire Le2i, UMR 6306 CNRS, Université de Bourgogne, Dijon, France

⁵Laboratoire LTSI, Inserm UMR 1099 Inserm, Université de Rennes 1, Rennes, France

Introduction

La méthode eRWT « extended Regression Without Truth » [1] permet de classer, par ordre de performance, différentes méthodes d'estimation d'un biomarqueur en l'absence de vérité terrain. Cette approche a été récemment mise en œuvre pour comparer différentes méthodes de segmentation du ventricule gauche dans le contexte de l'estimation de la fraction d'éjection. Son application à d'autres biomarqueurs est présentée ici, en s'appuyant sur des exemples d'imagerie cardiovasculaire. En fonction des expériences rapportées, plusieurs recommandations sont proposées pour généraliser son utilisation.

Matériel et Méthode

L'approche eRWT s'appuie sur les estimées θ_{nm} d'un biomarqueur Θ réalisées par M méthodes indépendantes ($1 \leq m \leq M$), sur N jeux de données ($1 \leq n \leq N$). Elle repose sur trois hypothèses : H1) chaque méthode fournit une estimée dépendant linéairement de la vraie valeur (gold standard Θ) et les paramètres de la relation linéaire sont inconnus; H2) les erreurs associées à ce modèle linéaire suivent une loi Gaussienne et sont indépendantes ; H3) la distribution du gold standard sur l'ensemble des données suit une loi de probabilité connue *a priori*. En pratique, les bornes de variation de chaque biomarqueur d'intérêt et les deux paramètres d'une loi Beta ont été fixés de façon empirique pour modéliser la distribution de probabilité associée au gold standard.

Dans une première étude, huit méthodes de segmentation du ventricule gauche [1] ont été comparées sur une base de données de 45 sujets [2]. Les volumes télodiastolique et télésystolique, le volume d'éjection, la fraction d'éjection et la masse myocardique ont été systématiquement analysés par eRWT. La seconde étude a porté sur la comparaison de trois méthodes d'estimation du volume d'éjection à partir de données vélocimétriques obtenues sur l'aorte ascendante chez 87 sujets. Ces trois méthodes correspondent à trois approches de complexité croissante pour une correction résiduelle du décalage du zéro sur les données de vélocimétrie.

Résultats

Pour la première étude, les résultats obtenus généralisent ceux récemment publiés [1] et montrent un classement cohérent des différentes méthodes de segmentation quel que soit le biomarqueur étudié. Généralement, les méthodes de segmentation manuelle (trois parmi les huit méthodes proposées) sont les mieux classées. Néanmoins, certaines méthodes de segmentation semi-automatique ont des performances égales aux méthodes de segmentation manuelle pour les volumes télodiastolique et télésystolique. La seconde étude prouve que des différences même faibles peuvent être mises en évidence par eRWT et suggère que la méthode de correction au premier ordre est la meilleure stratégie pour estimer les mesures de vélocimétrie. L'ensemble des résultats permet de valider *a posteriori* une approche simplifiée pour optimiser le choix des paramètres décrivant la distribution de probabilité associée au biomarqueur d'intérêt. Ces études montrent également que la définition des bornes de variation du biomarqueur doit être précise et que la présence de données hors norme pour l'ensemble des méthodes comparées peut conduire à des inversions de classement.

Conclusion

L'approche eRWT est pertinente pour comparer différentes méthodes d'estimation de biomarqueurs en l'absence de vérité terrain. Elle peut notamment s'appliquer à des études réalisées en imagerie *in vivo*, pour lesquelles l'obtention de référence n'est pas possible. Cependant, elle nécessite un échantillon de dimension supérieure ou égale à trente, un nombre de méthodes supérieur ou égal à trois, une connaissance précise des limites du biomarqueur étudié et une modélisation *a priori* de sa densité de probabilité sur le jeu de données observé.

Références

1. Leibenberg et al. IEEE Trans Med Imag, 31(8):1651-60, 2012
2. Radau et al. Cardiac MR Left Ventricle Segmentation Challenge, The Midas Journal, 2009

Reconstruction à angle limité en imagerie par rayons X du petit animal

H. Barquero^{1,2}, S. Maitrejean², D. Brasse¹

¹Université de Strasbourg, IPHC, CNRS UMR7178, 23 rue du Loess, 67037 Strasbourg, France

²BIOSPACE LAB, 13 rue Georges Auric, 75019 Paris, France

Introduction

Le recours systématique aux études précliniques, notamment dans les protocoles expérimentaux visant à observer l'évolution de tumeurs, justifie la conception de systèmes intégrés combinant plusieurs modalités d'imagerie. L'objectif est de fusionner une information sur la morphologie de l'animal (Imagerie par Résonance Magnétique (IRM), imagerie par rayons X) à une ou des information(s) fonctionnelle(s) sur la localisation et les mécanismes d'action de certaines molécules (imagerie optique, Tomographie par Emission Mono-Photonique(TEMP), Tomographie par Emission de Positrons(TEP)). Ce travail a pour objet le dimensionnement d'un système combinant une modalité d'imagerie par rayons X utilisant une géométrie d'acquisition pénalisante, ainsi que plusieurs modalités d'imagerie optique.

Matériel et Méthode

La reconstruction en imagerie par rayons X a été étudiée jusqu'à présent. On s'intéresse à un système d'imagerie de micro-tomographie (micro-CT) en géométrie « cone beam », constitué d'une source de rayons X à flux conique et d'une matrice plane de détecteurs permettant l'acquisition de projections radiologiques. Ces projections peuvent ensuite être utilisées pour estimer la distribution tri-dimensionnelle des coefficients d'atténuation des rayons X dans l'animal. La sélection de projections dans différents intervalles angulaires permet de se placer dans le cas d'une acquisition sur un intervalle angulaire limité.

Les algorithmes analytiques classiquement utilisés en tomographie par rayons X étant inappropriés dans le cas d'un intervalle angulaire limité, le problème nécessite une approche algorithmique spécifique. Certains algorithmes basés sur une formulation de la reconstruction comme un problème d'optimisation permettent en théorie une reconstruction satisfaisante même à partir de données limitées. L'algorithme ASD-POCS (Adaptive Steepest Descent – Projection Onto Convex Sets) a été implémenté. Cet algorithme itératif consiste en la résolution numérique d'un système algébrique associée à une boucle itérative visant à minimiser la norme TV (Total Variation) de l'image. Cette norme caractérise « l'éparsité » de l'image. En imagerie par rayons X, on peut faire l'approximation d'une image éparse, c'est-à-dire constituée d'objets homogènes distincts.

Les données sont de deux type, i) des projections simulées à partir d'un objet test numérique (fantôme), composé de différents objets auxquels sont attribués arbitrairement des valeurs réalistes de coefficient d'atténuation et ii) des projections radiologiques d'une souris, acquises au moyen du système micro-CT, avec une tension de 40kV et une intensité de 200uA.

Résultats

La figure 1 représente les résultats obtenus avec 1000 itérations de l'algorithme ASD-POCS à partir des données précliniques, avec plusieurs intervalles angulaires.

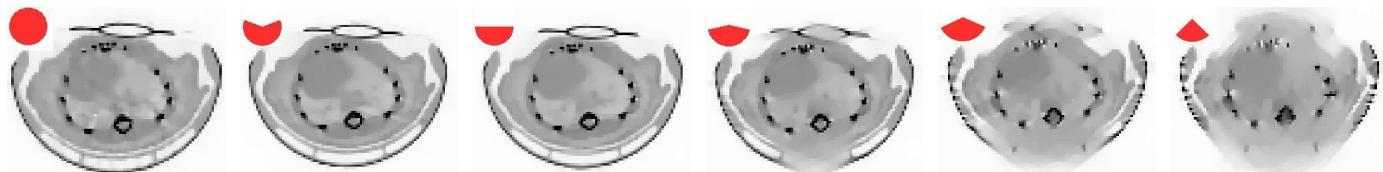


Fig. 1 : reconstruction « tranche centrale » d'une souris. De droite à gauche : 360, 225, 180, 150, 120 et 90°

Conclusion

Les résultats obtenus permettent de conclure que l'approche, qui donnait des résultats très encourageants pour la reconstruction d'objets mathématiques discrets, est limitée dans le cas des données précliniques, et qu'il est difficile d'en exploiter les reconstructions en dessous de 150° sans connaissance *a priori* sur l'objet imagé. D'autres formulations mathématiques ainsi que d'autres approches – par exemple le recalage sur atlas articulé – permettraient d'envisager une étude plus approfondie du problème.

Super resolution of the trabecular bone images with different regularization methods

A. Toma¹, B. Sixou¹, J. B. Pialat², F. Peyrin^{1,3}

¹Creatis, INSA de Lyon; CNRS 5022; INSERM U1044; Université de Lyon

²Inserm U1033, Lyon

³ESRF, Grenoble

Introduction

Despite the considerable progress in Computed Tomography, the investigation of 3D trabecular bone micro-architecture in vivo remains limited due to a lack of spatial resolution compared to the trabeculae size. To improve the description of trabecular bone from in vivo CT images, we propose the investigation of super resolution methods based on regularization strategies involving first and second-order differential operators.

Material and Method

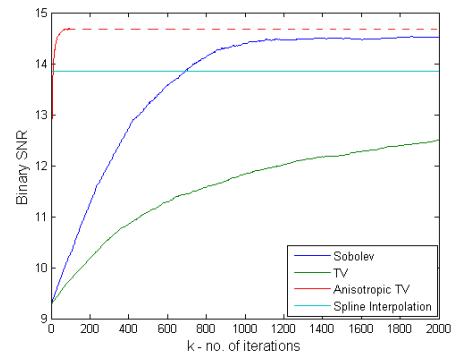
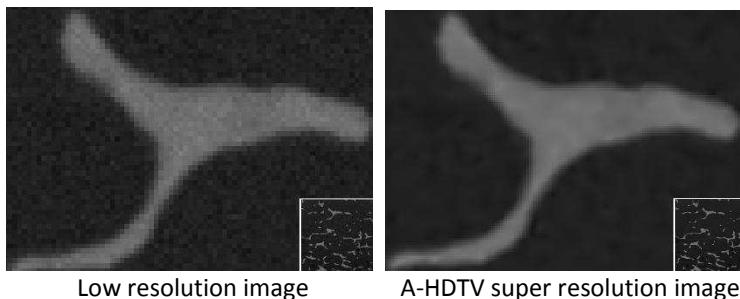
We consider the following mathematical model of the super resolution problem: $g = A(f) + w$, where g represents the low resolution image, f is the high resolution image we would like to obtain, A is a linear, non-invertible, blurring and down-sampling operator, and w is an additive Gaussian white noise.

Our approach for solving this ill-posed inverse problem is based on adding prior information and constructing a regularization functional. The solution will be given by the minimization of the functional. We start by applying the Sobolev and the classical Total Variation (TV) regularization methods with a gradient descent minimization. These regularizations are based on the squared L_2 norm, and the L_1 norm, respectively, of the gradient magnitude of the image. Moreover, we investigate the Anisotropic Higher Degree TV (A-HDTV) regularization method involving second-order differential operators. The HDTV methods have recently attracted the interest of scientists [1], [2] and are expected to avoid staircasing effects and be a good choice for biomedical images. The regularization functional is based on the L_1-L_1 norm of the image's directional derivatives. The minimization scheme is of the Iterated Reweighted Least-Square type. To observe how these methods can improve the segmentation, we apply the Otsu's thresholding method to the obtained super resolution images.

Results

The validation of the presented super resolution methods is performed with experimental Synchrotron micro-CT images of bone samples after simulating the effect of a loss of spatial resolution and adding Gaussian noise.

The Sobolev method offers good results considering the spatial resolution but also is very sensitive to noise. Due to the piecewise constant assumption of the image made in the case of the TV method, the results are less noisy but also present the staircasing effect.



The Anisotropic HDTV method avoids the staircasing effect and achieves better results than the Sobolev or TV regularization. The classical interpolation methods could not achieve the performance of the Sobolev and Anisotropic HDTV regularization methods.

Conclusion

We presented three regularization methods applied for solving the super resolution problem. We proved that for a well-chosen regularization parameter the A-HDTV is the best regularization method, considering the binary images. We also showed an improvement of the interpolation methods through the super resolution methods. These methods will be tested on in vivo HR-pQCT trabecular bone images.

References

- Y. Hu et al. IEEE Transactions on Image Processing, vol. 21, no. 5: 2559-2571, 2012
- S. Lefkimiatis et al. IEEE Transactions on Image Processing, vol. 21, no. 3: 983-995, 2012

3D MR – Histology Registration: examining the effects of shear, tilt and shrinkage

C Hughes^{1,2,3}, O Rouvière^{3,4}, F Mege-Lechavallier⁴ and R Prost²

¹CCITI, 14 rue Jean Giono, 21000 Dijon, France

²Université de Lyon, CREATIS; CNRS UMR5220; Inserm U1044; INSA-Lyon; Université Lyon 1, France

³Inserm, U1032, LabTau, 69003 Lyon, France; Université de Lyon, 69003 Lyon, France

⁴Hospices Civils de Lyon, Hôpital Edouard Herriot, Lyon, France

Introduction

Prostate cancer is the most common malignancy among men yet no current imaging method is capable of detecting with precision tumours within the gland [1]. The critical issue is distinguishing between benign and malignant tissue with the ground truth information contained in the histology slices of the prostatectomy specimen. In order to evaluate each imaging technique, the histology data must be precisely registered to the imaged data. Three significant effects, shear, tilt and shrinkage, need to be addressed in order to achieve this 3D registration.

Material and Method

After a radical prostatectomy, three fiducial needles are inserted into the fresh prostate specimen using the apparatus described in [2]. An MR acquisition of the specimen is performed, T2-weighted spin echo sequence, 3T clinical scanner (GE Healthcare, USA), voxel size 0.31x0.31x2mm, TE/TR = 116ms/4250ms. The three fiducial needles are visible in the MR images and create internal fiducial markers in the histology slices, enabling the slices to be automatically rigidly aligned, details in [2].

Three significant effects need to be considered when registering the histology to the MR images: shear, tilt and shrinkage. Considering first the shear, as the distance between any 2 points on a horizontal plane is unchanged by the application of a shear matrix T

$$T = \begin{bmatrix} 1 & 0 & \alpha \\ 0 & 1 & \beta \\ 0 & 0 & 1 \end{bmatrix}$$

the three needles generated at the end of the histology alignment process (and thus the aligned slices) may need to be shear-corrected before they can be registered to the MR images. Secondly, it cannot be assumed that the histology slices are cut along the same plane as the MR images were acquired, we denote the tilt angle and orientation at which the histology is sliced with respect to the MR acquisition as θ and ϕ respectively. Thirdly, the formaldehyde fixation of the prostate specimen causes a shrinkage of the specimen, there is thus a shrinkage compensation factor $s \geq 1$ to be applied to the histology data.

For each patient studied, we calculate the transformation to register the three histology needles with the MR needles that minimises the average perpendicular distance between the respective needles after the transformation has been applied. Four different registrations were tested for each patient: (i) the optimum value for the shrinkage parameter s is included in the optimum transformation calculation, (ii) the optimum values for the shrinkage and shear (s, α, β) are included, (iii) the optimum values for the shrinkage and tilt (s, θ, ϕ) are included and (iv) the optimum values for the shrinkage, shear and tilt ($s, \alpha, \beta, \theta, \phi$) are included. To quantify the quality of the registration for each scenario and each patient, the ejaculatory ducts were contoured in both the histology and MR images and the average distance between the ducts after registration was quantified.

Results

Five patient datasets were studied, the average registration accuracy at the needles and at the ejaculatory ducts results for each of the four registration scenarios is detailed in the table below.

Registration scenario	Average registration accuracy (mm) measured at the: fiducial needles	Average registration accuracy (mm) measured at the: ejaculatory ducts
(i) shrinkage (s)	0.94 ± 0.42	4.03 ± 0.37
(ii) shrinkage and shear (s, α, β)	0.58 ± 0.32	1.98 ± 0.45
(iii) shrinkage and tilt (s, θ, ϕ)	0.54 ± 0.30	1.17 ± 0.23
(iv) shrinkage, shear and tilt ($s, \alpha, \beta, \theta, \phi$)	0.45 ± 0.25	1.04 ± 0.21

When the shrinkage, shear and tilt were included in the calculation, the average optimum values for the shrinkage factor s was 1.07 ± 0.03 , and the tilt angle θ was $13.6 \pm 9.6^\circ$.

Conclusion

Correcting for the shrinkage, shear and tilt effects demonstrate a significant improvement in the MR - histology registration. The average registration accuracy of the ejaculatory ducts over the five patients (1.04 ± 0.21 mm) indicate that a method using these ducts, an anatomical landmark present in every prostate and visible both in MR and histology, could be developed to guide the MR – histology registration, enabling the registration to be applied to MR *in vivo* – histology. It is interesting to note that the angle at which the histology slices are cut with respect to the MR acquisition plane varies significantly ($13.6 \pm 9.6^\circ$). Further work should be carried to investigate if the shrinkage factor is approximately constant between prostate specimens and also whether it is, as we have assumed, homogeneous within the prostate specimen.

References

1. GJ Kelloff *et al.* AJR Am J Roentgenol, vol. 192, no. 6, pp. 1455-1470, 2009.
2. C Hughes *et al.* Proceedings SPIE, pp. 83141N, 2012.

Session 5 :
Diagnostic, thérapie et suivi médical assistés
par l'imagerie

New system for non-invasive exploration of synthesized collagen network inside biomaterials functionalized by mesenchymal stem cells dedicated to clinical implantation in cartilage lesion

C Henrionnet¹, D Dumas^{1,2}, S Hupont^{1,2}, E Werkmeister³, D Hentsch⁴, JL Vonesch⁴, P Netter¹, J Magdalou¹, JF Stoltz^{1,2}, P Gillet¹, A Pinzano¹

¹ Physiopathologie, Pharmacologie et Ingénierie Articulaires, UMR 7561 CNRS-Nancy Université , Faculté de Médecine, 9 avenue de la Forêt de Haye – BP 184 - F54505 Vandoeuvre-lès-Nancy, France

² Plate Forme d'Imagerie Cellulaire PTIBC-IBISA, UMR 7561 et FR3209 CNRS, Faculté de Médecine, 9 avenue de la Forêt de Haye - BP 184 - F54505 Vandoeuvre-lès-Nancy, France

³ MICPaL Facility - IFR142 CNRS UMR8161, Institut Pasteur de Lille, rue du Prof Calmette - 59021 Lille, France

⁴ Plate Forme Technologique d'Imagerie, IGBMC, 1 rue Laurent Fries - F67404 Illkirch, France

Introduction

One step of control and validation of collagen network inside functionalized biomaterials is crucial before clinical implantation in tissue engineering. Conventional optical techniques, like histology (Sirius red) and fluorescence (specific antibody), remained a reference for structural characterization but their invasive characters lead to development and validation of non-invasive techniques. Combined with multiphoton fluorescence excitation, second harmonic generation (SHG) microscopy has been demonstrated to be effective in numerous label-free tissue imaging applications. Collagen could be detected as a harmonophore by F-SHG index without an exogenous probe. The aim of this work was to test a new system to evaluate at macroscopic scale the collagen network inside mesenchymal stem cell (MSCs) functionalized biomaterials dedicated to cartilage engineering. This system was performed from a two photon excitation laser adapted to a optical macroscope.

Material and method

Cartilaginous like implant was generated with human MSCs issued from bone marrow seeded inside collagen sponge and cultured with chondrogenic growth factor (TGF- β 1 and ITS supplement) or not (ITS supplement alone) during 28 days. Collagen network was studied by our system at microscopic and macroscopic scale and the quality of synthesized matrix was confirmed by gold standard histological techniques or immunohistochemistry to visualize type II collagen. To combine multidimensional fluorescence data (time and spatial), we have considered a new multimodality imaging (SHG-TCSPC) based on Second Harmonic Generation (SHG) method to detect especially collagen matrix and Time Correlated Single Photon Counting (TCSPC) method to contrast signal (auto-fluorescence background, SHG and immunolabeling staining). For both SHG-TCSPC optical system (microscopy and macroskop), we introduced a F-SHG index based on decay time response measured by TCSPC for respectively fluorescence (F) and Second Harmonic Generation (SHG) values.

Results

Inside our biomaterials, F-SHG index permitted to discriminate signals of autofluorescence, native collagen of sponge and synthesized collagen by MSCs at the multi-scale (microscopy or macroskop). This index permitted to appreciate modifications of matrix collagen inside sponge over time and to differentiate the quality of collagen network between ITS and TGF- β 1 treatments. These observations were confirmed by histological and immunohistochemical analysis. Indeed, the quantity of synthesized matrix and of detected type II collagen inside sponge was less abundant with ITS in comparison with the chondrogenic condition TGF- β 1.

Conclusion

In this work, we showed for the first time that multiscale large field imaging (Macroskop) combined to multimodality approaches (SHG-TCSPC) could be an innovative and non invasive technique to monitor the state of network collagen in biomedical studies such as cartilage tissue engineering.

References

1. Su PJ et al. Biomaterials, 31(36) : 9415-21, 2010.

Tumor cell migration as detected by microscopic 3D-DTI and 2-photon microscopy

in a new mouse model of glioblastoma.

U.P.Y. Gimenez^{1,2}, T.-A. Perles-Barbacaru^{1,2}, B. van der Sanden^{1,2}, D. Wion^{1,2}, M.F. Nissou^{1,2}, F. Appaix²,

F. Berger^{1,2}, H. Lahrech^{1,2}

1) Clinatec, 17, rue des Martyrs, Grenoble, 2) Institut of Neuroscience Grenoble

Introduction

Glio6 is an orthotopic tumor model (1) derived from human glioma stem cells made fluorescent following infection with a GFP-expressing lentivirus. These cells are maintained in serum-free medium culture as floating neurospheres at 3% O₂ to maintain cancer stem cell features. They express the cancer stem cell marker CD133. They are very appropriate to study tumor cell migration and to develop new anti-migration treatments. Glio6 cells were assumed to migrate on the basal lamina of axon fibers in the corpus callosum. Here, the sensitivity of microscopic 3D-Diffusion Tensor Imaging (DTI) to detect this migration was assessed and validated using two-photon microscopy (2PM).

Material and Method

Nude mice were injected with 5.10⁵ Green Fluorescent Protein (GFP) transfected Glio6 cells (n=11) or with saline (n=5) in the striatum. The tumor growth was monitored *in vivo* every 15 days using T2-weighted MRI. At 60 days, the mice were fixed by transcardiac perfusion with 4% paraformaldehyde in phosphate buffered saline containing 6.25mmol/L Gd-DOTA in order to reduce relaxation times and the total acquisition time (Guerbet, France). Brains were preserved in Flomblin-oil (Solvay-Solexis, Italy).

3D-DTI was performed at 7T (Bruker, 600mT) using a spin-echo sequence (TE/TR= 16/90ms, NA=34). Diffusion gradients ($\delta=3.5\text{ms}$ $\Delta=8\text{ms}$) were applied in six different gradient diffusion directions ([1 1 0],[1 -1 0],[0 1 1],[0 1 -1],[1 0 1],[-1 0 1]) with a b-value 1500s/mm². The FOV and the spatial resolution were set to 20x8.5x11.5mm³ and 100x100x100mm³ respectively. Total acquisition time was 59 hours. The diffusion data was analyzed with MedINRIA software (INRIA, France). Fractional anisotropy (FA), parallel (Dpara) and perpendicular (Dperp) diffusivities were computed (2) for symmetrical ROIs in the corpus callosum. After MRI, mice brains were removed, cut into 300 μm coronal slices. Two-photon images were acquired using a LSM 7 MP ZEISS microscope with a 20x NA 1 water immersion objective using an 800nm excitation wavelength.

Results: In tumor bearing mice, thickening of the corpus callosum (Figure 1b) and changes in DTI parameters were observed. The DTI data showed a decrease of geometric organization in the tumor area and in the corpus callosum. The FA and Dpara were lower (not shown), because the anisotropy of fibers was disrupted. In 2PM images, indeed elongated green glioma cells (Figure 1c) migrated along axon fibers in the corpus callosum and invaded the cortex (not shown), but not the striatum.

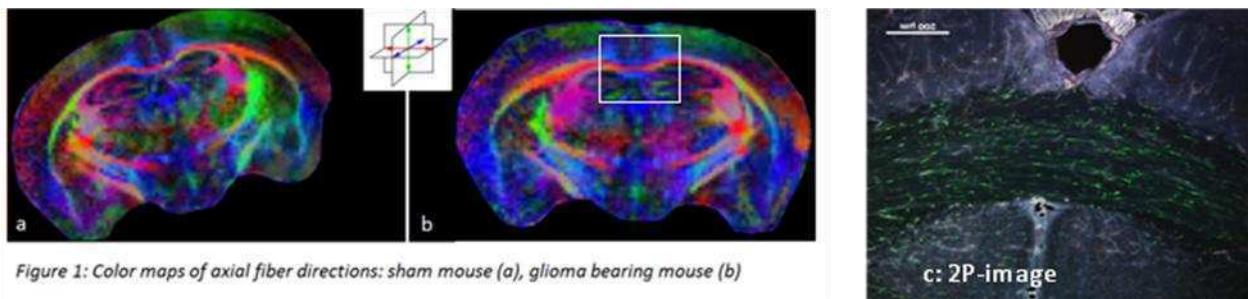


Figure 1: Color maps of axial fiber directions: sham mouse (a), glioma bearing mouse (b)

Conclusion

The 3D-DTI data showed a decrease of geometric organization in the tumor area and in the corpus callosum. The FA and Dpara were lower (-24%, -12%), and Dperp was higher (+27%) due to the presence of tumor cells between axon fibers. 3D-DTI is appropriate to study tumor cell migration as validated by 2PM. Rapid DTI acquisition are currently in development to enable *in vivo* imaging of tumor cell migrating

References

- Platet N, et al, Cancer Lett. 258(2), 286-90, 2007
- Pierpaoli C et al, Magn Reson Med. 36(6):893-906, 1996.

Aide au diagnostic du lymphome en imagerie hybride TEP/TDM : distinction entre fixations cancéreuses et inflammatoires

C. Lartizien¹, M. Rogez¹, E. Niaf¹, F. Ricard²

¹Université de Lyon, CREATIS ; CNRS UMR5220 ; Inserm U1044 ; INSA-Lyon ; Université Lyon 1, France.

²Hospices Civils de Lyon, Département de Médecine Nucléaire ; Hôpital Lyon Sud, France

Introduction

De nombreuses études cliniques montrent que la tomographie d'émission de positons (TEP) couplée à la tomodensitométrie (TDM) permet d'une part de diagnostiquer et caractériser les lésions cancéreuses à des stades plus précoce que l'imagerie anatomique conventionnelle, et d'autre part d'évaluer plus rapidement la réponse au traitement. Malgré ces performances déjà élevées, il est parfois difficile de discriminer les fixations du 18F-FDG (analogue du glucose marqué au fluor 18) liées à de simples phénomènes inflammatoires ou physiologiques (fixations graisseuses ou musculaires par exemple) (Fig. 1) et celles résultant d'une activité tumorale¹. Ces nombreux cas de figure constituent chaque fois un défi diagnostic pour le médecin nucléaire. Nous proposons un système d'aide à la décision qui intègre des caractéristiques extraites des deux modalités TEP et TDM et fournit un score de malignité fiable pour toute zone de l'image pointée par le médecin. La tâche diagnostique ciblée concerne la distinction des zones hypermétaboliques cancéreuses et des zones suspectes mais bénignes.

Matériel et Méthode

Nous avons proposé une stratégie efficace de système expert (CAD) basé sur un séparateur à vaste marge (SVM) couplé à une série de paramètres cliniques (e. g. SUV) et statistiques d'ordre 1 ou 2 calculés à partir de 4 types de matrice de texture². Notre hypothèse est que les variations de certains paramètres physiologiques à l'échelle cellulaire peuvent induire des variations de la texture de l'image et ainsi permettre de discriminer des zones pathologiques et saines. Dans cette étude nous évaluons l'impact de la multi-modalité en comparant les performances obtenues avec ou sans prise en compte des paramètres TDM. Cette évaluation repose sur une base de 25 acquisitions TEP/TDM de patients atteints de lymphome avant traitement, à partir desquelles nous avons extrait 156 régions d'intérêt (ROI) tracées sur des zones cancéreuses et 32 ROIs tracées sur des zones de fixations suspectes mais bénignes du FDG.

Résultats

La Fig. 2 représente les courbes ROC obtenues avec et sans sélection préalable des caractéristiques les plus discriminantes et en considérant, soit les caractéristiques TEP et TDM, soit les seules caractéristiques TEP. Les meilleures performances, caractérisées par la valeur de l'aire sous la courbe ROC (AUC), sont obtenues en sélectionnant un sous-ensemble de 9 caractéristiques TEP et 3 caractéristiques TDM, dont la mesure du SUV et le coefficient de kurtosis mesuré sur la TEP et 5 paramètres de texture mesurés sur la TEP et la TDM.

Conclusion

Cette étude confirme l'intérêt de combiner plusieurs modalités d'imagerie complémentaires afin d'accroître les performances diagnostiques du système expert. Seule une analyse ROC des performances humaines avec et sans l'aide du CAD pourra évaluer son intérêt clinique.

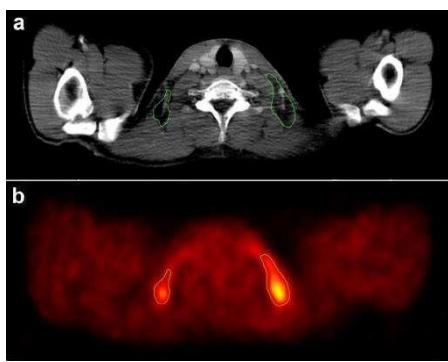


Fig 1. Coupes transverses d'une acquisition TDM (a) et TEP (b) d'un patient présentant une captation de FDG bénigne dans la graisse brune supraclaviculaire.

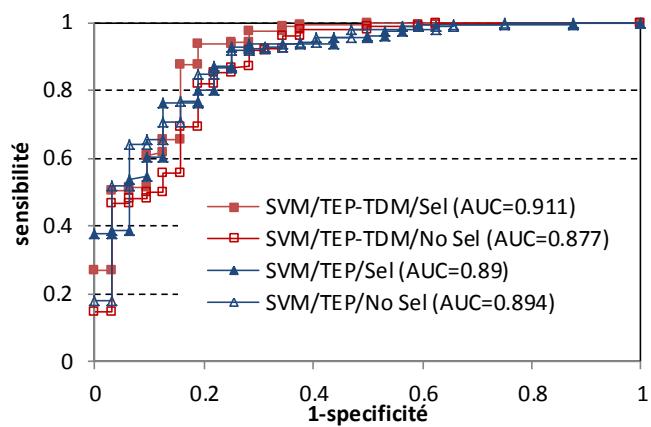


Fig 2. Courbes ROC pour le SVM combiné à des caractéristiques TEP/TDM ou TEP seules avec et sans sélection de caractéristiques

Références

1. L. Kostakoglu *et al*, Radiographics, 2004
2. C. Lartizien *et al*. IEEE International Symposium on Biomedical Imaging (ISBI), Barcelona, Spain, 2012

Treatment with bone marrow-derived alternatively activated macrophages after transient ischemia: a USPIO-enhanced longitudinal MRI study in rats

A Riou¹, F Chauveau¹, T-H Cho¹, M Marinescu¹, S Nataf², A Moisan³, C Remy³, E Barbier³,
N Nighoghossian¹, M Wiart¹, Y Berthezène¹

¹Université de Lyon, CREATIS ; CNRS UMR5220 ; Inserm U1044 ; INSA-Lyon ; Université Lyon 1 ; Hospices Civils de Lyon, Lyon.

²Université de Lyon , CRNL, ONCOFLAM ; CNRS UMR5292 ; INSERM U1028 ; Université Lyon 1, Lyon.

³Université Joseph Fourier, Grenoble Institut des Neurosciences ; INSERM U836 ; CEA-Grenoble, Grenoble.

Introduction

Cerebral ischemia results in a complex inflammatory cascade that involves cells from the mononuclear phagocyte system. Recent studies showed versatile and plastic character of microglia and macrophages (M/M) enabling them to adapt the inflammatory response to the local environment.¹ Magnetic resonance imaging (MRI) coupled with injection of ultrasmall superparamagnetic particles of iron oxide (USPIOS) has emerged as a promising tool for imaging of inflammation.² In this study, we sought to investigate for the first time treatment with alternatively activated macrophages (M2) by longitudinal USPIO-enhanced MRI.

Matériel et Méthode - Material and Method

On day 0, rats were subjected to a one-hour transient middle cerebral artery occlusion (tMCAO) or were sham-operated. They were intravenously treated by 2 millions M2 from a sacrificed littermate or PBS on day 4, after matching for lesion size and behavioral scores between groups. The 2-week longitudinal follow-up included i) 3 multiparametric MRI sessions (DWI; T1 + Dotarem®; Guerbet; T2* and T2 maps), each repeated before and after the injection of nanoparticles (P904, Guerbet) or saline, and ii) 3 sessions of behavioral examination. Hence, six groups of animals (n=3-5 each) were defined according to surgery (tMCAO or sham), treatment (M2 or PBS), and contrast agent (\pm P904).

Résultats - Results

Neither analysis of lesion size nor behavioral tests showed significant benefits of M2 treatment compared to placebo (PBS). Persistent blood-brain extravasation of gadolinium was found in 7 animals over 17 (Fig. 1A-B). Perilesional loss of signals were repeatedly observed on T2 after USPIO injection in 5 over 10 animals (Fig. 1C-D). These observations were not associated with treatment group. Immunohistochemistry reveals that M2 treatment tended to decrease the number of ED-1 activated macrophages in the perilesional area ($p=0.057$, Mann-Whitney test).

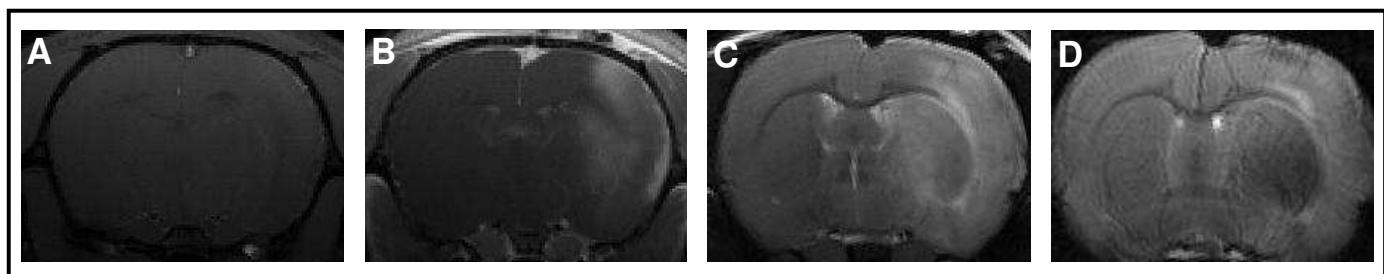


Figure 1. T1-wl pre (A) and post (B) Dotarem®; T2-wl pre (C) and post (D) USPIO

Conclusion

In contrast with previous bone-marrow derived cell-based neuroprotection studies,³ treatment with alternatively activated macrophages didn't show any benefit on lesion volume or recovery in this MRI-guided study. Specific USPIO-related signals were observed in this transient ischemia model, raising the possibility to non-invasively follow post-ischemic inflammation.

Références – References

1. Ho VW and Sly LM. Methods Mol Biol, 531:173-85, 2009.
2. Stoll G and Bendszus M. Neuroscience, 158(3):1151-60, 2009.
3. Hicks A, et al. Cell Stem Cell, 5(2):139-40, 2009.

Utilisation d'une camera TOF pour la synchronisation et la modélisation du mouvement respiratoire

T Wentz¹, H Fayad¹, J Bert¹, N Boussion¹, D Visvikis¹

¹ INSERM, UMR1101, LaTIM, CHRU Morvan, Brest F-29200, France

Introduction

La radiothérapie est à l'heure actuelle un maillon important du traitement des cancers mais reste extrêmement dépendante de la définition et du suivi de la cible tumorale. Lorsque celle-ci est associée à une dynamique telle que la respiration (tumeurs thoraco-abdominales), l'incertitude sur la localisation de la tumeur est prise en compte en définissant des marges autour des contours anatomiques, tenant compte de l'amplitude supposée du mouvement ("internal target volume", ITV). La conséquence est une irradiation des tissus sains inclus dans la zone de déplacement tumoral. Une solution pour empêcher cette irradiation supplémentaire serait de connaître en temps réel le mouvement tumoral en suivant le mouvement respiratoire. Nous proposons d'utiliser une caméra Temps-de-Vol (Time of Flight, ToF) afin (a) de caractériser le mouvement respiratoire externe en temps réel. (b) d'utiliser un modèle mathématique reliant mouvement interne-mouvement externe et (c) de prédire le mouvement réel de la tumeur tout au long du cycle respiratoire.

Matériel et Méthode

La caméra ToF SwissRanger 4k capture et représente une scène avec 25000 points mais la nature bruitée des mesures ($\approx 3\text{-}4\text{mm}$ d'incertitude) est incompatible avec l'amplitude du mouvement respiratoire externe (jusqu'à 5mm). Nous proposons donc de modéliser les surfaces par des fonctions B-Splines ce qui permet de réduire le bruit mais aussi d'apposer une grille de points 3D indépendamment des mesures. Cette manière de procéder permet aussi de valider l'estimation de mouvement par rapport à la seule vérité terrain disponible, l'imagerie scanner 4D. Trois patients subissant un examen scanner 4D sont observés par la caméra ToF (voir figure 1). Le mouvement estimé par la caméra ToF et celui mesuré grâce au scanner 4D dans différentes régions abdominales sont comparées. Dans un deuxième temps, le mouvement de points d'intérêt entre inspiration et expiration complète est extrapolé en utilisant le modèle "patient spécifique" développé par Hadi Fayad¹. Ce modèle permet, à partir d'un scanner 3D à expiration complète et d'un scanner 3D à inspiration complète, de construire les images scanner intermédiaires à l'aide d'un signal respiratoire externe capté au niveau de la surface de la peau.

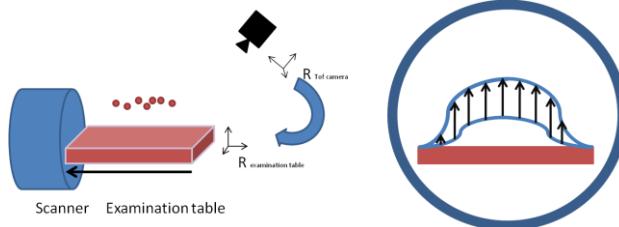


Figure 1

Résultats

La figure 2 illustre l'écart, pour un patient donné, entre l'estimation du mouvement respiratoire externe issue de la caméra ToF celle donnée par le scanner 4D. Les résultats sur 3 patients et 4 tailles de régions montrent une différence moyenne d'estimation de mouvement de $0.25 \pm 0.2\text{mm}$. Considérant 13 points caractéristiques de la cage thoracique (figure 3), l'erreur moyenne d'interpolation de leur mouvement est de $1.5 \pm 0.3\text{mm}$.

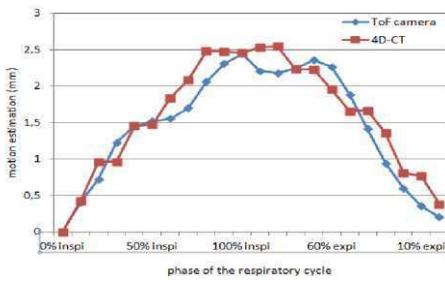


Figure 2

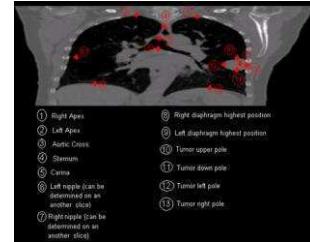


Figure 3

Conclusion

La caméra Temps-de-Vol est un instrument non-intrusif et non-irradiant qui permet d'interpoler et de prédire en temps réel le mouvement de tumeurs soumises au mouvement respiratoire. Il devient envisageable de limiter l'irradiation inutile des tissus sains entourant la cible mobile. L'aspect non-irradiant de l'appareillage ouvre la voie à d'autres applications : repositionnement quotidien du patient, signal externe pilotant le Gating respiratoire...

Référence

1. Fayad H et al. IEEE Nuclear Science Symposium and Medical Imaging Conference (NSS-MIC), 2594 – 2598 2009.
Journées scientifiques Nouvelles méthodologies en imagerie du vivant – Lyon, décembre 2012

Intratumor heterogeneity characterization in ^{18}F -FDG PET images predicts overall survival and recurrence in head and neck cancer

F Tixier¹, C Cheze-Le-Rest², M Hatt¹, T-C Yen³, L Corcos⁴, D Visviskis¹

¹INSERM, UMR 1101 LaTIM, CHU Morvan, Brest, France

²Department of Nuclear Medicine, CHU Milétrie, Poitiers, France

³Chang Gung Memorial Hospital and University, Taoyuan, Taiwan

⁴INSERM, UMR 1178, Faculty of Medicine, Brest, France

Introduction

Intratumor heterogeneity characterization using ^{18}F -FDG PET has been recently shown to be of interest for improved patient management, including prognosis and early therapy response prediction in several cancer types¹⁻³. Heterogeneity characterization for overall survival and recurrence prediction has however never been investigated for head and neck (H&N) cancer. The objective of this study was therefore to investigate the predictive value of volume-derived parameters and heterogeneity characterization of FDG tumor activity distribution on baseline PET scans. The value of these PET images derived indices were compared to current state of the art measurements such as the SUV_{max}.

Material and Method

66 patients with H&N cancer treated with radiotherapy followed by surgery were included in this retrospective study. A minimum of 3-year follow-up was available for all patients. Each patient underwent an ^{18}F -FDG PET scan before radiotherapy. A robust delineation algorithm (Fuzzy Locally Adaptive Bayesian) was used to determine metabolically active tumor volumes (MATV). The following image parameters of interest were derived using these MATVs (SUV_{max}, total lesion glycolysis (TLG), activity distribution heterogeneity based on textural features and intensity histograms. Kruskal-Wallis tests and Kaplan-Meier analysis were used in assessing the predictive power of each parameter for recurrence and overall survival. P values <0.05 were considered significant.

Results

SUV measurements and MATV did not show any statistically significant predictive value of for either recurrence or patient survival. On the other hand, several heterogeneity measurements (particularly those assessing local activity distribution heterogeneities) were found to be significantly associated with both reduced overall survival and increased recurrence probability.

Conclusion

Tumor heterogeneity characterization on baseline ^{18}F -FDG PET scans can predict both disease recurrence and overall patient survival in H&N cancer patients treated by radiotherapy followed by surgery.

References

1. F Tixier *et al.* J Nucl Med, 52:369-378, 2011
2. I El Naqa *et al.* Pattern Recognit. 42 :1162-1171, 2009
3. FH van Velden *et al.* Eur J Nucl Med Mol Imaging. 38:1636-1647, 2011

Can white matter [¹¹C]flumazenil and [¹⁸FDG] PET predict postoperative outcome after temporal lobe surgery in patients with hippocampal sclerosis?

J. YANKAM NJIWA^a, S. BOUWARD^{b,c}, H. CATENOIX^{c,d}, F. MAUGUIERE^{c,d,e}, P. RYVLIN^{c,d}, A. HAMMERS^{a*}

^aNeurodis Foundation, Lyon, France, ^bCERMEP-Imagerie du vivant, Lyon, France, Lyon, France, ^cUniversité Lyon 1, INSERM, CNRS, Centre de Recherche en Neuroscience de Lyon, France, ^dService de Neurologie Fonctionnelle et d'Epileptologie, Hôpital Neurologique Pierre Wertheimer, Hôpitaux Civils de Lyon, France, ^eUniversité de Lyon – Université Claude Bernard, Lyon, France

Purpose: One third of patients with hippocampal sclerosis (HS) undergoing epilepsy surgery fail to become seizure free (NSF); risk factors include bilateral pathology and frequent generalized seizures. At the group level, increased periventricular [¹¹C]flumazenil binding (indicating heterotopic neuron concentration) was associated with NSF outcome (Hammers et al. Epilepsia 2005;46:944-948). Here, we investigate in new larger cohorts whether preoperative white matter (WM) uptake of [¹¹C]flumazenil or the more widely used [¹⁸F]FDG predicts NSF outcome in individual patients.

Method: Sixteen patients with MRI-defined HS had preoperative [¹⁸F]FDG and [¹¹C]flumazenil PET, and at least 23 (median 68) months' postoperative follow-up. They were compared with 21 controls - who had both [¹⁸F]FDG and [¹¹C]flumazenil PET - using SPM8 with explicit periventricular WM masking. Global radioactivity concentrations were adjusted via group-specific ANCOVA. Different cutoffs for distinguishing NSF and seizure free (SF) patients were investigated.

Results: Eight patients were NSF (not Engel IA) during follow-up. NSF versus SF patients had periventricular increases predominating contralaterally on [¹¹C]flumazenil PET ($z_{max}=4.36$, 2.18cm^3), which were less marked on FDG PET ($z_{max}=3.66$, 1.13 cm^3). Against controls, NSF patients showed more prominent periventricular [¹¹C]flumazenil signal increases ($z_{max}=4.29$, 1.6 cm^3), than SF patients ($z=3.27$, 0.6cm^3). For FDG, NSF also showed mostly contralateral periventricular signal increases ($z_{max}=5.15$, 7 cm^3), much more pronounced than in SF patients ($z_{max}=3.48$, 0.5 cm^3).

For individuals, the thresholds for periventricular increases best differentiating NSF from SF patients when compared against controls were $z_{min}=3.5$ / $p_{max}=0.28$ for FMZ, and $z_{min}=3.5$ / $p_{max}=0.2$ for FDG. With these thresholds, increases were seen in 5/8 NSF patients for [¹¹C]flumazenil and 3/8 for [¹⁸F]FDG. No SF patients (0/8) showed periventricular signal increases for [¹¹C]flumazenil, versus 2/8 for [¹⁸F]FDG. Hence, the test performed had 63% sensitivity / 100% specificity for [¹¹C]flumazenil and 38% sensitivity / 88% specificity for [¹⁸F]FDG.

Conclusion: This study confirms the association between periventricular WM increases of [¹¹C]flumazenil and [¹⁸F]FDG binding with NSF after temporal resection for HS. If large numbers of control datasets are available, periventricular [¹¹C]flumazenil - but less so [¹⁸F]FDG uptake - may usefully predict individual postoperative outcome.

Keywords: Temporal lobe epilepsy, hippocampal sclerosis, FDG-PET, FMZ-PET.

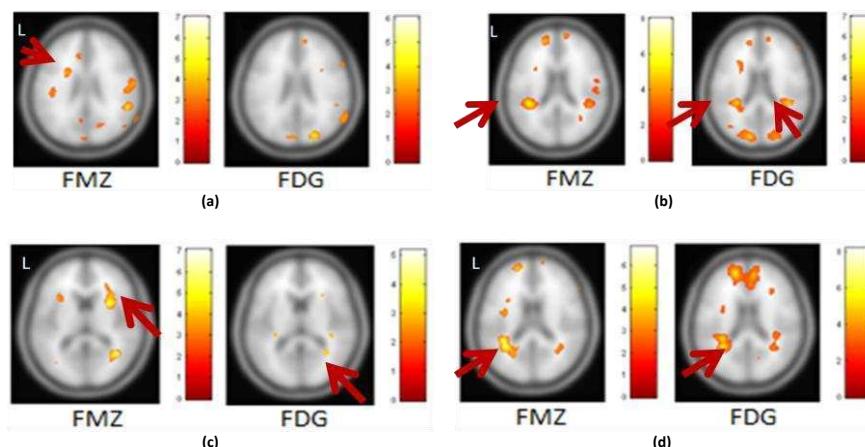


Fig.1: Unmasked statistical results overlaid on the SPM8 T₁-weighted template visualized at $p<0.01$. Maximum periventricular increases are highlighted with arrows. (a) Engel class IA, compared to controls (FDG: $z=2.89$, FMZ: $z=3.27$). (b) Suboptimal outcome (NSF; not Engel class IA), compared to controls (FDG: $z=5.15$, FMZ: $z=4.29$). (c) Increases in NSF patients compared to seizure free patient (FDG: $z=3.66$, FMZ: $z=4.36$). (d) Periventricular increases in an individual patient (#9), with a suboptimal outcome (FDG: $z=4.09$, FMZ: $z=4.42$).

Experimental observation of pre-focal heating patterns around the ribs in MRgHIFU trans-costal liver ablation

L Petrusca¹, M Viallon^{2,3}, V Auboiron¹, A Muller³, T Goget¹, C Becker², R Salomir^{1,2,4}

¹Faculty of Medicine, University of Geneva, Geneva, Switzerland;

²Department of Radiology, University Hospitals of Geneva, Geneva, Switzerland;

³CREATIS, Université de Lyon, Lyon, France;

⁴Inserm, ADR 05 Rhône Alpes, Lyon, F-69003, France

Introduction

High Intensity Focused Ultrasound (HIFU) is a therapeutic approach coupling flexibility and minimally-invasive features. MR technique offers on-line multi-planar thermometry of the sonicated tissue being an excellent tool for HIFU monitoring. The aim of the current study was to investigate the thermal effects generated by the HIFU beam's interactions with the ribs cage during trans-costal focusing in the liver.

Material and Method

The studies were performed using a 3T MRI scanner and a phased array MR compatible transducer for HIFU sonications (256 elements, operating at 1MHz). PRFS thermometry (Ishihara, MRM, 1995) method (1 mm in plane resolution) was used, 3 to 5 interleaved imaging planes being chosen to monitor both focal point and ribs cage. The ex vivo model was constituted by degassed liver tissue places on a specimen of thoracic wall. *In vivo* experiments were conducted in 2 sheep using respiratory gating for motion compensation. The transverse size of the ribs was in our study a factor of 6 to 8 larger than the acoustic wavelength.

Results

Nearly isotropic distribution of the thermal energy at ribs surface in the beam propagating plane was evidenced from high resolution MR thermometry data, decorrelated from the incidence direction of the HIFU beam. The temperature elevation at the front facet (in regard to transducer) and opposite (shadowed) facet of the ribs appear very similar (12% offset only). Moreover, superficial heat deposition was detected along the ribs outside the geometric aperture cone of the HIFU beam (Figure 1, a) (out of cone extension of heat deposition approximately 1 cm both sides). These effects are reported both *in vitro* and *in vivo* and cannot be explained by classical interference and diffraction mechanisms.

Conclusion

Past reports in literature (Eun Jung et al, Abdom Imaging, 2011) described numerous and significant pre-focal side effects on the rib cage during HIFU sonication in liver. Our study provides quantitative insights on the thermal build up accumulation under these conditions. Further studies are required to elaborate and to validate a predictive physical model for these effects.

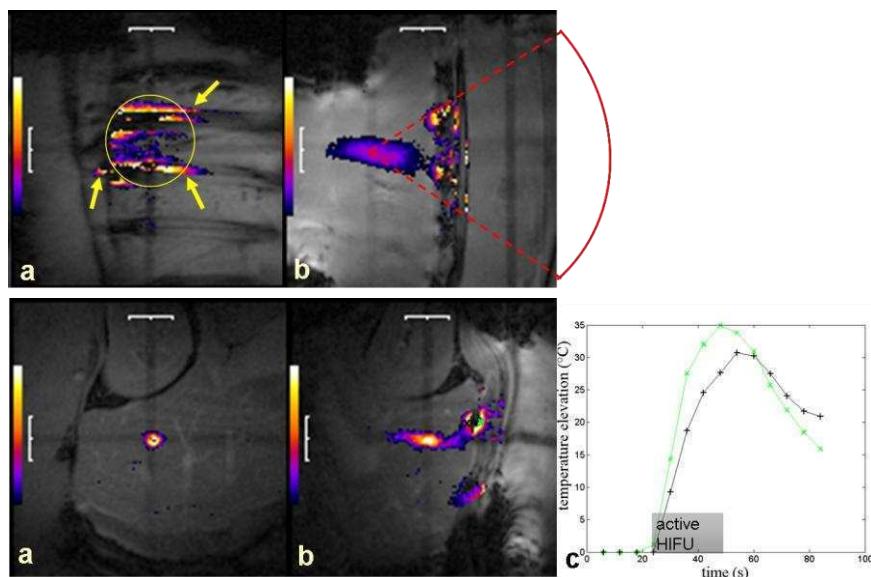


Figure 1. *In vitro* temperature elevation in 2 orthogonal planes: longitudinal (a) and perpendicular (b) to the ribs. Note the beam aperture in this plane (yellow circle).

Figure 2. *In vivo* temperature elevation at the end of HIFU sonication in 2 orthogonal planes (a and b). The temperature elevation in 2 symmetrical and opposite pixels with respect to the rib (as shown in frame b) is plotted in frame c.

Références – References

- Ishihara Y et al, MRM, 34(6): 814-23, 1995
- Eun Jung S et al, Abdom Imaging, 36:185–195, 2011

Estimation de Flux Sanguin par analyse de Contraste de Phase en ARM

O.Eker¹, L. Navarro², S.Hauss³ and G. Courbebaisse³

¹Département de Neuroradiologie – CHU de Montpellier

²CIS - ENSMSE Saint-Etienne

³CREATIS - INSA LYON - CNRS UMR 5220 - INSERM U1044 - UCBL1.

Introduction

La compréhension de l'anévrisme cérébral passe par l'étude des propriétés biomécanique et biologique de la paroi anévrismale, et des rapports entre paroi anévrismale et flux sanguin. Ce travail présente une méthode d'estimation et de quantification des flux sanguins en amont et en aval d'un anévrisme intracrânien avant et après traitement endovasculaire par technique de diversion de flux. Les flux sanguins ont été calculés à partir d'images d'angiographie par résonance magnétique en contraste de phase dynamique (ARM CP), basée sur la relation entre le déphasage de spins mobiles dans un champ magnétique et leurs vitesses. L'objectif principal est de corrélérer à terme l'évolution temporelle des flux sanguins avec la croissance du thrombus.

Matériel et Méthode

Quatre patients traités pour des anévrismes intracrâniens dans le Département de Neuroradiologie du CHU de Montpellier, partenaire de Thrombus (www.thrombus-vph.eu), ont été suivis. Les vitesses du sang du vaisseau porteur en amont et en aval de l'anévrisme ont été comparées. Les séquences ARM CP [1] (format DICOM) correspondaient à une section droite du vaisseau spatialement fixe et couvraient un cycle cardiaque entier (16 à 22 images ou phases). Les images obtenues se composaient : de deux images de Magnitude (non-soustraite = anatomique, et soustraite) et une image de Phase (fig.1). Après un prétraitement visant essentiellement à corriger les retournements de phase (fig. 1), la segmentation par contours actifs [2] méthode qui vise à minimiser l'énergie entre un masque de départ et l'objet devant être segmenté, a été réalisée afin de ne considérer que les pixels de codage du flux dans les vaisseaux (fig. 2). Les vitesses moyennes ont ensuite été calculées et les profils de vitesse 3D (fig. 3) reconstruits par triangulation de DeLaunay.

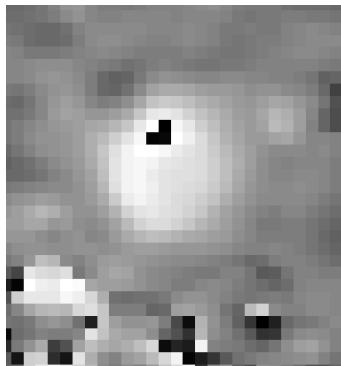


Figure 1. Image ARM CP

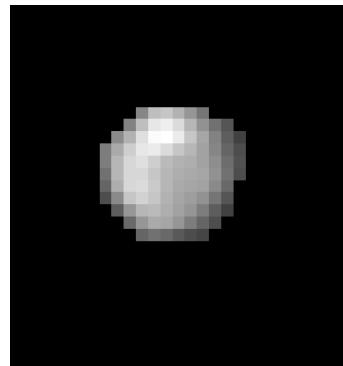


Figure 2. Profil de vitesse 2D

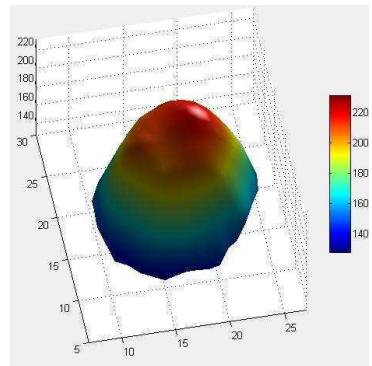


Figure 3. Profil de vitesse 3D

Résultats

Des couples d'images d'ARM CP 'amont-aval' ont été acquis avant et après le traitement de l'anévrisme (n=4 patients ; suivi = 4 mois). Les évolutions de la vitesse moyenne du sang en amont et en aval de l'anévrisme ont été quantifiées et comparées. Les profils dynamiques des vitesses ont été reconstruits en 3D afin de mieux appréhender l'évolution de la vitesse au cours du cycle cardiaque.

Conclusion

Les premiers résultats, pertinents en termes de quantification de vitesse moyennes et de reconstruction de profils de vitesse, objectivent une modification des profils des vitesses après traitement de l'anévrisme. L'étude d'un plus grand nombre de patients devrait permettre de valider l'hypothèse selon laquelle le profil de vitesse en aval de l'anévrisme doit évoluer en fonction de la croissance du Thrombus. Par ailleurs, ces mesures de vitesses seront utilisées comme conditions initiales pour la simulation numérique en mécanique des fluides des flux sanguins dans l'anévrisme intracrânien d'un patient spécifique.

Références

1. Balédent O. et al, Value of phase contrast magnetic resonance imaging for investigation of cerebral hydrodynamics, J Neuroradiol, 33(5):292-303, 2006.
2. Chan, T. F., & Vese, L. A., Active contours without edges. IEEE Transactions on Image Processing, 10(2), 266-277, 2001.

Acknowledgements: This research receives funding from the EU, 7th FP under grant agreement n°269966 - Thrombus.

Multimodal spinal cord MRI for temporal characterization of posttraumatic vascular, metabolic and structural events in a mouse model of spinal cord injury

V. Callot¹, J. Laurin², F. Barthelemy³, V. Prevost¹, M. Tachroud¹, A. Maues de Paula³, PJ Cozzzone¹, G. Duhamel¹

¹ Centre de Résonance Magnétique Biologique et Médicale (CRMBM, UMR 7339), CNRS, Aix-Marseille Univ, Marseille, France

² Institut des Sciences du Mouvement (ISM, UMR 6233), CNRS, Aix-Marseille Univ, Marseille, France

³ Service d'Anatomie Pathologique, Hôpital de la Timone, AP-HM, Marseille, France

Introduction : Spinal cord (SC) rodent contusion models are widely used to study human SC trauma. Being able to assess, *in vivo* and non invasively, the temporal cascade of events consecutive to the injury would be beneficial to the pathological description and the identification of adequate repair strategies. In this context, an optimized multimodal MRI approach, including diffusion, perfusion and spectroscopic analyses, was applied in a follow-up study dedicated to the characterization of structural, vascular and metabolic posttraumatic events occurring in a moderate and a severe mouse SC contusion model. The relevant MR parameters were correlated with physiologic and immunohistochemistry analyses.

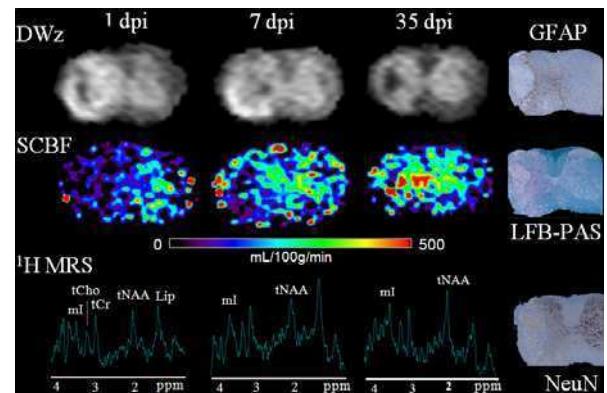


Fig.1- DWI, SCBF map, ¹H MRS and section staining for a 40-kdyn lesion.

Material and Method : SC injury were induced at the cervical level using a PSI IH impactor, (\varnothing tip 0.6-mm, force 20 and 40 kdyn, n=6 mice). Mice were scanned at 11.75T before (0) and 1, 3, 5, 7, 14, 21, 28, and 35 days post-injury (dpi) using T_2 -weighted [1], diffusion tensor (DTI-EPI [2]), and arterial spin labeling perfusion imaging (ASL) [3] as well as SC-optimized monovoxel ¹H-spectroscopy [4]. MR parameters and behavioral performance (grip strength and climbing test), were examined at each time-point. Animals were finally sacrificed for immunohistochemistry analysis.

Results : As shown on fig.1, both lateral white matter (WM) and gray matter (GM) were altered. After SCI, mice suffered from left fore-limb paralysis and their developed force decreased by 39% (20 kdyn SCI) and 71% (40 kdyn). In the acute phase (1dpi), the main MR features of the contusion models were: fiber disruption (FA \downarrow), ischemia (SCBF \downarrow), axonal ($\lambda_{/}\downarrow$), neuronal losses (NAA \downarrow) and cellular impairment (tCr, tCho \downarrow). In the early post-injury days (3<dpi<5), an increase of the ADC attributed to vasogenic edema was observed for the 20kdyn lesion, whereas for the 40 kdyn lesion a decrease of ADC, mostly attributed to cytotoxic edema and debris, was noticed. A rapid increase in SCBF values, attributed to angiogenesis, in response to fuel demand for tissue regeneration and debris evacuation, was also observed in both ipsi and contralateral side. The level of perfusion overreached the basal level for dpi>7. For the same period (dpi>7), ml concentrations and mean GM diffusivities presented higher values than controls suggesting gliosis phenomenon. Five weeks after injury, mice presented an incomplete recovery (structural, vascular and metabolic parameters \neq baseline), with defects and impairments confirmed by histology. A canonical discriminant analysis (JMP software) was finally performed (fig.2) in order to give a better and synthetic representation of the posttraumatic events. All dpi could clearly be distinguished, which should permit to build specific diagrams showing pathogenesis of posttraumatic spinal cord injury, as in Hall's diagram [5].

Conclusion: The multimodal MRI approach developed in this study allowed characterizing posttraumatic events following moderate and severe mouse SC injury. All MR parameters were modified, in correlation with histology and developed force, with an intensity time course and spatial extent dependant on the impact force. The sensitivity and specificity of the proposed multimodal MR approach should help to define the most relevant markers of disease and progression, and to identify posttraumatic diagrams.

References

- Callot *et al.* Magn Reson Mater Phy, 20:169, 2007.
- Callot *et al.* MRM, 63:1125, 2010.
- Duhamel *et al.* MRM, 62:430, 2009.
- Tachroud *et al.* MRM, doi: 10.1002/mrm.24360, 2012.
- Hall *et al.*, J Neurosurg, 64:951, 1986.

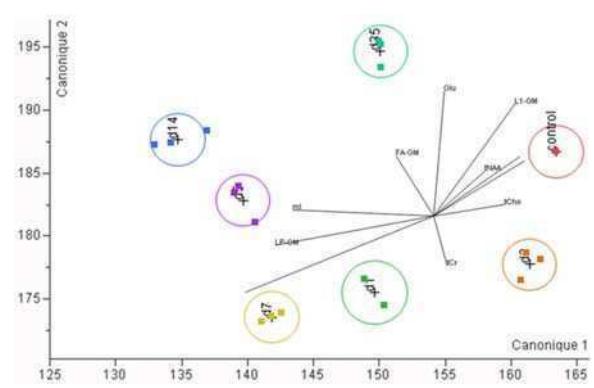


Fig.2- Canonical discriminant analysis for a moderate lesion using multimodal MR parameters.

CREANUIS : un nouvel outil de simulation ultrasonore dédié à l'imagerie non-linéaire

F. Varray, O. Basset, et C. Cachard

¹Creatis, Université de Lyon ; CNRS UMR5220 ; Inserm U1044 ; INSA-Lyon ; Université Lyon 1, Villeurbanne, France.

Introduction

Depuis de nombreuses années, l'imagerie ultrasonore est utilisée en application clinique de par son faible cout (équipement et contexte clinique), son caractère non-invasif et non ionisant et sa simplicité d'utilisation. En imagerie médicale, le recours à des outils de simulation permet de développer et de tester, de façon intensive de nouvelles méthodes d'imagerie. Dans le cadre de l'imagerie ultrasonore, des outils existent mais sont malheureusement basés sur la propagation dite linéaire des ultrasons dans les tissus. Cette propagation est une approximation de la réalité puisque de nombreux harmoniques apparaissent durant la propagation ultrasonore et sont utilisés de façon courante en imagerie dite harmonique ou de contraste. Cette modalité d'imagerie, cependant, ne dispose pas à l'heure actuelle d'outils performants de simulation avec prise en compte de la non linéarité. C'est que nous avons développé dans CREANUIS, logiciel librement téléchargeable sur Internet.

Matériel et méthode

Afin de simuler une image ultrasonore, deux étapes primordiales sont à prendre en compte. Dans un premier temps, le calcul du champ de pression non-linéaire, intégrant la déformation de l'impulsion ultrasonore, doit être considéré. Un outil rapide, porté sur GPU, a été utilisé pour calculer la distorsion non-linéaire [1-2]. Dans un second temps, un algorithme de reconstruction d'image doit être mis en place afin de coupler l'information non-linéaire avec les caractéristiques du milieu.

Résultats

L'image fondamentale obtenue avec CREANUIS a été comparé avec celle obtenue par FieldII [3], outil de référence en simulation linéaire ultrasonore. Une déviation moyenne de 8.1% a été obtenue ainsi qu'une distribution de probabilité plus proche du modèle de Rayleigh. En termes de temps de calcul, un facteur d'accélération de 2 à 4,8 est obtenu en fonction du caractère homogène ou non du coefficient de non-linéarité. De plus, CREANUIS calcule à la fois l'image fondamentale et l'image harmonique contrairement à FieldII qui est limité à l'image fondamentale.

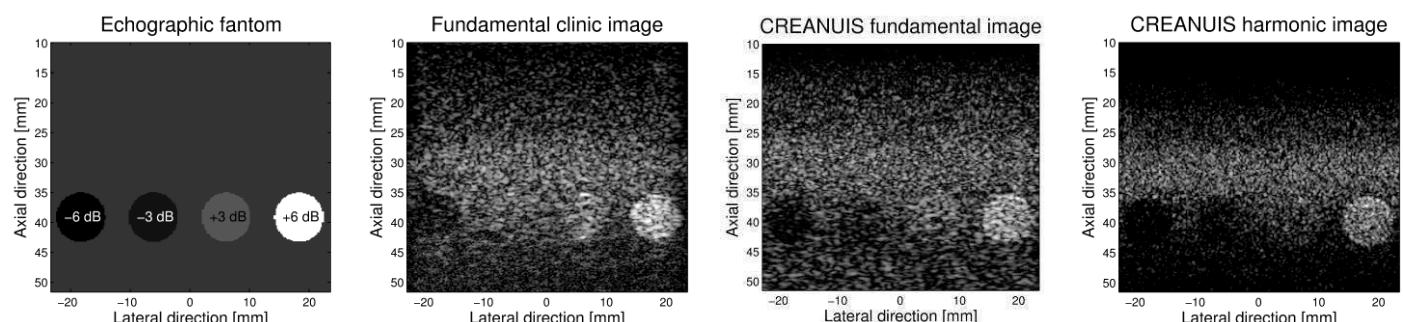


Image mode B obtenue sur un (a) fantôme échographique théorique avec (b) un échographe clinique et (c-d) avec CREANUIS. Les images ont une dynamique de 30 dB.

Conclusion

CREANUIS ouvre de nouvelles perspectives en termes d'imagerie et de développement de méthodes d'image harmonique. En effet, toutes les nouvelles modalités multi-impulsions avec des variations de phase et d'amplitude (inversion d'impulsion, modulation d'amplitude, ...) peuvent maintenant être simulées et évaluées. De plus, des milieux contenant de l'agent de contrastes et donc ayant une valeur de non-linéarité forte, peuvent aussi être simulés. Récemment, des travaux sur les oscillations transverses ont montré la possibilité d'améliorer l'estimation de mouvement et trouve une application directe dans le cadre de l'élastographie [4].

Références – References

1. Varray *et al.*, IEEE UFFC, 58(7):1366-1376, 2011.
2. Varray *et al.*, EURASIP, 17:1, 2011.
3. Jensen *et al.*, IEEE UFFC, 39(2):262-267, 1992.
4. Varray *et al.*, ISBI, 2012.

Evaluation clinique d'un système d'aide au diagnostic pour la caractérisation des zones suspectes en IRM multi-paramétrique de prostate.

E. Niaf^{1,2}, C. Lartizien², F. Bratan³, L. Roche³, M. Rabilloud³, F. Mège-Lechevallier³, O. Rouvière^{1,3}

¹Université de Lyon, LabTAU, INSERM U1032, France.

²Université de Lyon, CREATIS ; CNRS UMR5220 ; Inserm U1044 ; INSA-Lyon ; Université Lyon 1, France.

³Hospices Civils de Lyon, Département de Médecine Nucléaire ; Hôpital Lyon Sud, France

Introduction

Le cancer de la prostate est la deuxième cause de mortalité par cancer chez l'homme, en France. Actuellement, la méthode de référence pour son diagnostic reste la biopsie écho-guidée, qui souffre d'une sensibilité et spécificité faible. L'imagerie par résonance magnétique multi-paramétrique (IRM-mp) se positionne comme une alternative intéressante pour le diagnostic précoce de ce cancer et le traitement focal des cibles malignes. Cependant, l'IRM-mp reste difficile à interpréter, notamment lorsque les résultats des différentes séquences sont contradictoires et on observe une forte variabilité inter-lecteur. D'où l'intérêt porté au développement de systèmes experts (CAD) pour "accompagner" les radiologues dans leur tâche de diagnostic. Nous avons proposé une stratégie efficace de système CAD basé sur un séparateur à vaste marge (SVM) couplé à un ensemble de caractéristiques descriptives extraites de trois séquences IRM (imagerie T2-w, dynamique et de diffusion) et intégrant de l'information statistique, structurelle et fonctionnelle¹. Appuyant notre étude sur une base de données cliniques de 30 patients pour lesquels nous disposons d'une référence histologique, nous proposons d'évaluer l'impact de ce CAD sur les performances diagnostiques des radiologues en routine clinique. L'objectif est de discriminer 42 zones cancéreuses et 46 zones suspectes mais bénignes.

Matériel et Méthode

Le protocole d'évaluation, basé sur les performances de douze radiologues, de 6 mois à sept ans d'expérience, se déroule en trois lectures. Les deux premières lectures, séparées de 5 semaines, sont réalisées sans utilisation du CAD et permettent d'évaluer la variabilité intra-observateur. La série de 88 ROIs préalablement tracés est soumise à l'évaluation du lecteur qui doit fournir un score de suspicion de malignité sur une échelle de 0 à 4. Pour la troisième lecture, réalisée directement après la seconde lecture, le score du CAD est présenté au lecteur, qui a alors la possibilité d'amender le score affecté en deuxième lecture.

Résultat

La Fig.1, qui représente les courbes ROC moyennées sur les 12 lecteurs pour les 3 types de lecture, montre l'amélioration des performances diagnostiques (Aire sous le courbe ROC) avec l'utilisation du CAD. On observe également une amélioration de la confiance dans l'interprétation, reportée sur la Fig 2, même pour les radiologues les plus expérimentés. Cette tendance est caractérisée par une baisse de l'incertitude (score « 2 » moins attribué associé à un jugement plus tranché (score « 0 » plus attribué).

Conclusion

Cette étude confirme l'intérêt d'un système expert pour la caractérisation des zones suspectes en IRM de prostate, quel que soit le niveau d'expérience des radiologues.

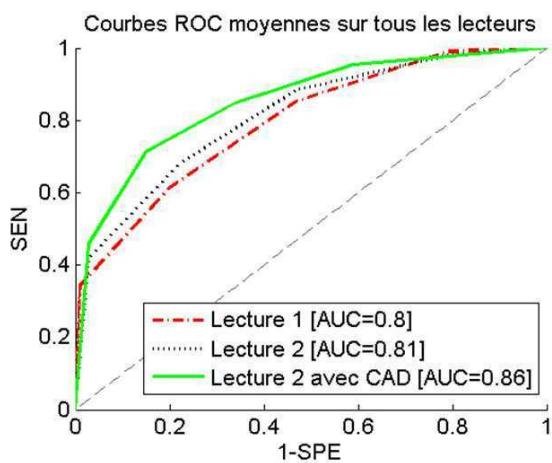


Fig 1. Courbes ROC moyennes sur tous les lecteurs correspondant aux 3 lectures.

	SENIOR	JUNIOR
# 0 Lecture 3-2	10	14
# 1 Lecture 3-2	-3	-4
# 2 Lecture 3-2	-4	-8
# 3 Lecture 3-2	-4	-4
# 4 Lecture 3-2	2	3

Fig 2. Variation (en %) du nombre total de chaque valeur de score {0,1,2,3,4} en moyenne pour les seniors et juniors

Références

1. E. Niaf et al, Phys Med Biol, vol 57, pp 3833-3851, 2012
- Journées scientifiques Nouvelles méthodologies en imagerie du vivant – Lyon, décembre 2012

Predictive value of tumor uptake heterogeneity spatial patterns in sequential ^{18}F -FDG PET for rectal cancer radio-chemotherapy response monitoring

M. Hatt¹, F. Tixier^{1,2}, C. Cheze Le Rest³, R. van Stiphout⁴, G. Lammering⁴, P. Lambin⁴, D. Visvikis¹

¹ LaTIM INSERM UMR 1101, Brest, France; ² INSERM UMR 1078, Brest, France

³ Département de Médecine Nucléaire, CHU Milletié, Poitiers, France ; ⁴ Department of Radiation Oncology (MAASTRO), GROW Research Institute, Maastricht, Netherlands

Introduction

The predictive value of sequential ^{18}F -FDG Positron Emission Tomography (PET)/Computed Tomography (CT) regarding response to radio-chemotherapy in rectal cancer has been recently evaluated by several investigators [1-2]. These recent studies however were limited to the use of standard image-derived indices such as the metabolically active tumor volume (MATV), the Standardized Uptake Values (SUV), either maximum (SUV_{\max}) or mean value (SUV_{mean}) in the tumor, or Total Lesion Glycolysis (TLG) combining MATV and SUV_{mean} . Other image-derived indices have been recently introduced in order to provide finer characterization of tumor uptake heterogeneity, namely textural [3-4] or cumulative-histogram [5] features and have demonstrated complementary value with respect to standard parameters. However these new indices were considered on baseline pretreatment scans only and have never been used on sequential PET images by considering their temporal evolution during treatment. The present retrospective study thus was conducted in order to compare the predictive value of these new image-derived indices for early prediction of pathological response in rectal cancer on sequential PET scans.

Material and Methods

28 patients with rectal cancer and treated with radio-chemotherapy from a previously conducted prospective study were retrospectively included. All patients underwent three ^{18}F -FDG PET/CT scans, one before initiating treatment (PET_1), a second one week after the start of therapy (PET_2), and one at 2 weeks (PET_3). Pathological tumor response grade (TRG) was assessed in histopathology on surgical specimen at the end of treatment according to xxx scale. Patients were subsequently classified as pathologic responders (TRG 1-2) and non-responders (TRG 3-5). Tumors on all PET scans were automatically delineated using the Fuzzy Locally Adaptive Bayesian (FLAB) method [6]. Several local and regional uptake heterogeneity parameters selected for their level of reproducibility according to previous studies [4,7] were subsequently extracted from these delineated volumes: homogeneity, entropy, SZNU (Size-Zone Non Uniformity), GLNU, as well as AUC calculated from cumulative histograms (AUC-CH) [5]. The predictive value of these parameters at baseline, as well as their evolution (Δ , %) at 1 and 2 weeks was evaluated using receiver operating characteristics (ROC) curves analysis, and were compared to standard parameters (volume, SUV).

Results

There were 12 responders (43%) and 16 non-responders (57%). Prediction of non-response to therapy using baseline values was associated with mediocre Area Under the Curve (AUC) values from 0.58 (homogeneity) to 0.75 (SUV_{mean}). SUV_{\max} was consistently of lower predictive value than the other parameters under consideration. Although results were not improved by considering the Δ at 1 week, the Δ at 2 weeks led to improved AUCs from 0.79 ($\Delta\text{SUV}_{\text{mean}}$, ΔTLG) to 0.88 for Δ homogeneity (94% sensitivity and 83% specificity). Considering the combination of entropy and homogeneity values at baseline and Δ at 1 and 2 weeks led to improved AUC of 0.89 (88% sensitivity and 92% specificity). Perfect prediction (AUC 1.0, 100% sensitivity and 100% specificity) could be reached by characterizing the tumor response using the overall evolution of homogeneity, entropy and SUV_{mean} (figure 1).

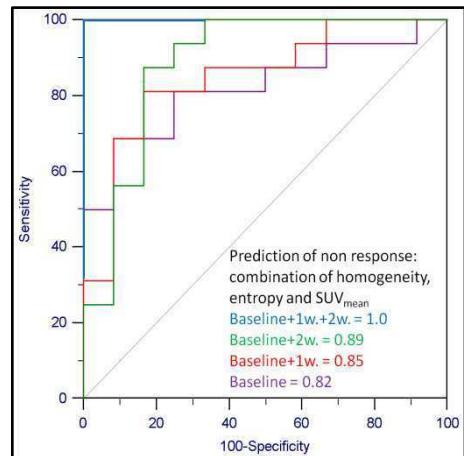


Figure 1

Conclusions

Our results suggest that the characterization of the tumor uptake spatial heterogeneity using novel image-derived indices calculated through textural features analysis can bring complementary information of added predictive value within the context of radio-chemotherapy response monitoring using sequential ^{18}F -FDG PET scans in the management of rectal cancer. These results now need to be confirmed in larger cohorts.

Références

- [1] Hatt M, et al. Early prediction of pathological response in locally advanced rectal cancer based on sequential ^{18}F -FDG PET. *Acta Oncol*. 2012
- [2] Everaert H, et al. Prediction of response to neoadjuvant radiotherapy in patients with locally advanced rectal cancer by means of sequential $^{18}\text{FDG-PET}$. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*. 2011.
- [3] E El Naqa I, et al. Exploring feature-based approaches in PET images for predicting cancer treatment outcomes. *Pattern Recognit*. 2009.
- [4] Tixier F, et al. Intratumor heterogeneity characterized by textural features on baseline ^{18}F -FDG PET images predicts response to concomitant radiochemotherapy in esophageal cancer. *J Nucl Med*. 2011.
- [5] van Velden FH, et al. Evaluation of a cumulative SUV-volume histogram method for parameterizing heterogeneous intratumoural FDG uptake in non-small cell lung cancer PET studies. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*. 2011
- [6] Hatt M, et al. A fuzzy locally adaptive Bayesian segmentation approach for volume determination in PET. *IEEE Trans Med Imaging*. 2009.
- [7] Tixier F, et al. Reproducibility of tumor uptake heterogeneity characterization through textural feature analysis in ^{18}F -FDG PET. *J Nucl Med*. 2012

PET imaging of remote metabolic disturbances following focal stroke in the non-human primate

Ebeline Bihel^{1,2,3}, Samuel Valable^{1,2,3}, Jérôme Toutain^{1,2,3}, Simon Rousset^{1,2,3}, Didier Divoux^{1,2,3}, Myriam Bernaudin^{1,2,3} and Omar Touzani^{1,2,3}.

¹CNRS, UMR ISTCT 6301, CERVOxy group. GIP CYCERON, Bd Henri Becquerel, BP5229, 14074 CAEN cedex, France. ²Université de Caen Basse-Normandie, UMR ISTCT 6301, CERVOxy group. GIP CYCERON, Bd Henri Becquerel, BP5229, 14074 CAEN cedex, France. ³CEA, DSV/I2BM, UMR ISTCT 6301, CERVOxy group. GIP CYCERON, Bd Henri Becquerel, BP5229, 14074 CAEN cedex, France.

Introduction : Reduction in brain metabolism in remote regions following focal stroke has been reported both in patients and animal models. The significance of this phenomenon in functional deficits and their recovery is not well understood. In the present studies, we addressed this issue through the use of longitudinal positron emission tomography (PET) investigations and behavioural tests in a model of transient ischemia in the non-human primate.

Material and Method : Under anaesthesia with isoflurane, 6 marmosets were subjected to 3 hour transient intraluminal middle cerebral artery occlusion (MCAO) (Bihel et al., 2010), and 4 marmosets were sham-operated. Each animal underwent 3 sessions of MRI (7T, Pharmascan; Bruker Biospin) at 60min, 7days and 42days following MCAO. Each MRI examination was followed by a PET scan (micro-PET INVEON Siemens) with [18F]-FDG. Glucose consumption (CMRGlu) was quantified in the ischemic lesion and in remote areas known to display diaschisis: thalamus, substantia nigra (SN) and cerebellum. During 42days following the occlusion, a battery of behavioral tests were performed weekly to analyse the evolution of sensorimotor deficits.

Results : In sham-operated animals, no abnormality has been observed on MRI and PET images. In these animals CMRglu values were similar to those reported in human's brain (25-35 μ mol/100g/min in the cortex). In animals subjected to ischemia, the MRI-defined lesion at the acute and subacute stages affected the striatum and in a lesser extent the cortex. At the chronic stage, no apparent lesion was visible on DWI and T2-MRI.

As early as 2 hours following the occlusion, a decrease in CMRglu was observed in the ipsilateral thalamus and substantia nigra (-9±3% and -5±1%, compared to the contralateral structures, respectively) and the contralateral cerebellum (-11±2% compared to ipsilateral one). These data reveal the presence of diaschisis early following stroke. In the subacute stage (i.e. 7 days following MCAO), these remote alterations of CMRglu were more pronounced (-13±5; -15±3), respectively in the ipsilateral thalamus and the ipsilateral SN. At the chronic stage (i.e. 42 days post-MCAO), there was an increase of CMRglu in the initially lesioned zone and the complete resolution of reduced CMRglu in the remote areas.

Transient focal stroke in the marmoset induced several sensorimotor deficits that recovered progressively but only partially. To examine the relationships between diaschisis and the evolution of the functional deficits, the persistent contralateral sensorimotor impairments were correlated with the magnitude of the decrease in CMRglu in distant structures. Several significant correlations were found between the subacute diaschisis and the functional deficits assessed at 1 week following the occlusion. Moreover, subacute diaschisis was also correlated with the chronic deficits assessed at 6 weeks following the occlusion .

Conclusions : The data show for the first time that the values of brain glucose consumption in anaesthetized marmosets are similar to those measured in the human brain. The data also suggest that the severity of functional deficits and the recovery after focal cerebral ischemia could be related to the magnitude of diaschisis.

Evaluation of a new qBOLD approach to map local blood oxygen saturation in arteriovenous malformation patients

J. Bouvier^{1,2,5}, F. Tahon³, I. Tropres⁴, O. Eker³, D. Chechin², J.F. LeBas^{3,4}, A. Krainik^{3,5}, E.L. Barbier^{1,5}

¹INSERM U836, Grenoble, Isère, France, ²Philips Healthcare, Suresnes, Ile de France, France, ³CHU, Grenoble, France, ⁴3T Facility, SFR Biomedical NMR and Neurosciences, Grenoble, France, ⁵Université Joseph Fourier, Grenoble Institute of Neurosciences, Grenoble, France

Introduction

Quantitative Blood Oxygen Level Dependent [1,2] allows quantitative evaluation of cerebral tissue hemodynamic parameters, such as the blood volume (BVf), deoxyhemoglobin concentration or local oxygen saturation (ISO_2). An approach that combines separate estimates of T_2 , T_2^* , BVf, and B_0 inhomogeneities has recently been proposed and validated in rats [2]. The aim of this study is to evaluate this approach in patients bearing an arteriovenous malformation (AVM) and evaluate the oxygenation status in the tissue surrounding the AVM nidus.

Material and Methods

Groups. Three AVM patients were studied after written informed consent was obtained.

Acquisition. The imaging protocol was carried out on a 3T TX Achieva MR scanner (Philips Healthcare®) using a whole-body RF transmit and 8-channel head receive coils. In addition to a 3DT₁ sequence used for tissue segmentation (TR/TE=9.8/4.6ms, resolution=0.5x0.5x1mm), three sequences were acquired with a FOV of 224x20x184mm: a 3D multi gradient echo (GE) sequence to obtain a T_2^* ; a multiple spin-echo experiment for T_2 mapping; a perfusion sequence with injection of a bolus of Gadolinium-DOTA (0.1mmol/kg, Guerbet, France) to map BVf based on the first passage approach.

Data Analysis. To correct for macroscopic magnetic field inhomogeneities, the 3D gradient echo sequence was spatially averaged. The final spatial resolution (resolution=2x2x4mm) was that of the multiple sin-echo sequence. T_2 and T_2^* maps were obtained by fitting a monoexponential decay to the corresponding MR images. Relative BVf maps were obtained by fitting a gamma-variate function to the change in $1/T_2^*$ over time during Gd-bolus passage. To obtain quantitative BVf maps, the mean brain blood volume was normalized to 5%. ISO_2 maps were eventually calculated pixelwise using [2]: $\text{ISO}_2=1-(4/3.\pi.\gamma.B_0.\Delta\chi_0.Hct.T_2'.BVf)-1$ where $1/T_2' = 1/T_2^* - 1/T_2$, $\Delta\chi_0=0.264\text{ppm}$ is the difference in magnetic susceptibilities between fully oxygenated and fully deoxygenated hemoglobin, Hct=0.42 is the hematocrit fraction, γ is the gyromagnetic ratio, $B_0=3\text{T}$ is the strength of the magnetic field. Then, using SPM8, gray (GM) and white matter (WM) masks were obtained from the 3DT₁ images [3]. The masks were realigned and resliced to match the T_2 map (1b). Seven regions of interest (ROIs) were manually delineated: one in the AVM nidus, 3 in the middle cerebral artery territory and 3 in the posterior cerebral artery territory. For each territory, the 3 ROIs were: one proximal to the nidus (M_{prox} and P_{prox}), one distal to the nidus (M_{dist} and P_{dist}), one in the contralateral territory (M_{contro} and P_{contro}).

Results

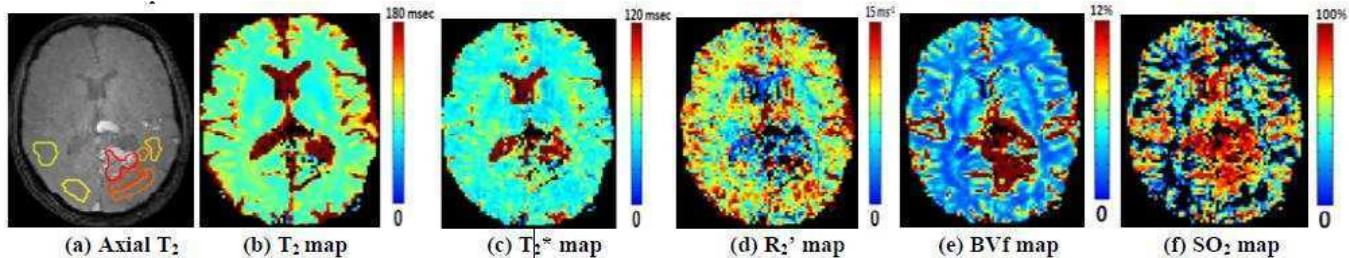


Fig. 1 shows representative parametric maps obtained from one patient. Average T_2^* and T_2 values measured in M_{contro} ($54.1 \pm 4\text{ms}$ and $97.5 \pm 5.7\text{ms}$) and in P_{contro} ($52.4 \pm 3.6\text{ms}$ and $91.8 \pm 1.8\text{ms}$) correspond to what has been reported in the literature [3]. T_2^* , T_2 increase when the distance to the nidus decreases. BVf increase in the nidus (Fig. 1e). ISO_2 values in the nidus, near and from a distance to the nidus were $82 \pm 2.8\%$, $52.1 \pm 3.5\%$, $40.1 \pm 6.5\%$ respectively.

Conclusion

Because the large blood volume of AVM nidus steals blood from the surrounding tissue, this latter is expected to be persistently hypoxic and balanced by increased angiogenesis. In the nidus, the ISO_2 is high, which is consistent with the high BVf. As expected, the ISO_2 decreases when the distance to the nidus increases. BVf and ISO_2 maps could provide useful information on angiogenesis and tissue oxygenation level around the nidus in addition to macrovascular structures obtained with angiography thus improving AVM therapeutic orientation.

Reference

- He et al. MRM 2007.
- Christen et al. NMR in biomed, 2011.
- Wansapura et al. NMR 1999.

Journées scientifiques Nouvelles méthodologies en imagerie du vivant – Lyon, décembre 2012

Traitement du cancer par Electro-chimio-Thérapie assistée par imagerie de fluorescence

JOSSERAND Véronique^{*1,2}, KERAMIDAS Michelle^{*1,2}, RIGHINI Christian^{1,2,3}, VOLLAIRE Julien^{1,2}, BELLARD Elisabeth^{4,5}, TEISSIE Justin^{4,5}, GOLZIO Murielle^{*4,5}and COLL Jean-Luc^{*1,2}

*Ces auteurs ont contribué également à ce travail.

¹ CRI-INserm U823, Thérapie ciblée, diagnostic précoce et imagerie du cancer, Institut Albert Bonniot, Grenoble, France

² Université Joseph Fourier, Grenoble, France

³ CHU de Grenoble, Grenoble, France

⁴ CNRS; IPBS Toulouse, France.

⁵ Université de Toulouse; UPS; IPBS; Toulouse, France

Introduction: Dans la plupart des cancers, la résection des tumeurs est l' indication thérapeutique avant la chimiothérapie ou la radiothérapie à condition que la tumeur soit opérable. La survie du patient dépenden grande partie de la résection de la tumeur primaire et également de la possibilité d'enlever les métastases ou de traiter par chimiothérapie

Dans ce travail, nous avons développé un modèle de micro-métastases très proche de la situation clinique dans laquelle les métastases apparaissent secondairement à la résection de la tumeur primaire. Ce modèle expérimental offre l'avantage d'être contrôlé par imagerie multimodale non-invasive (bioluminescence, fluorescence 3D et CT) aussi bien pour la croissance de la tumeur primaire que pour l'invasion métastatique. Ce modèle a été utilisé pour évaluer une nouvelle approche thérapeutique combinant le repérage des micrométastases par imagerie et l'électro-chimio-thérapie (ECT), c'est-à-dire l'utilisation d'impulsions électriques contrôlées (PE) pour augmenter la captation cellulaire d'un médicament cytotoxique (bleomycine).

Méthodes : Des souris BALB/C sont injectées avec des cellules d'adénocarcinome luc+ (TS/Apc-pGL3) sous la capsule rénale. Après 7 jours le rein tumorale est retiré. Après 6 jours l'imagerie multimodale permet l'évaluation de l'invasion métastatique péritonéale. Les souris sont alors randomisées en 3 groupes (G1: ECT; G2: contrôle; G3: Contrôle PE) et sont injectées par voie intraveineuse par du RAFT-(cRGD)₄-Fluo pour l'imagerie de fluorescence des tumeurs le jour suivant. A J15, les souris de G1 et G2 reçoivent une injection intraveineuse sub-optimale de bleomycine (5 mg/kg) tandis que G3 reçoit seulement du NaCl. 5 min plus tard, les souris subissent une chirurgie abdominale sous le champ de vision de la sonde portable Fluobeam® 700 pour la localisation et le comptage des métastases. Pour G1 et G3, chaque métastase visible est immédiatement soumise à l'électrostimulation à l'aide d'électrodes de contact de 1 mm. Après la chirurgie, la progression ou la régression tumorale est suivie par imagerie de bioluminescence non-invasive 2 fois par semaine jusqu'au sacrifice de la souris pour raisons éthiques.

Résultats :

Progression métastatique: A J18 soit 4 jours après la chirurgie abdominale, la charge tumorale dans G2 (contrôle) a explosé (+386%) et celle de G3 (contrôle PE) a augmenté de 132% tandis que celle de G1 (ECT) a diminué de 31%.

Etude de survie: Les souris des 2 groupes contrôles sont mortes rapidement, entre 21 et 27 jours pour G2 (contrôle Bléo) et à 25 jours (contrôle PE). Les souris de G1

(ECT) sont mortes entre J29 et J42 ce qui correspond à jusqu'à 18 jours supplémentaires par rapport à G2 (contrôle Bléo) et jusqu'à 17 jours supplémentaires par rapport à G3 (contrôle PE).

Conclusions: Nous avons développé un modèle de micro-métastases dans lequel les métastases apparaissent secondairement à la résection de la tumeur primaire. Le développement de la tumeur primaire et l'invasion de métastases ont été finement caractérisés par l'imagerie multimodale. Nous avons évalué une nouvelle approche thérapeutique combinant la localisation des tumeurs guidée par imagerie et l'électro-chimiothérapie et nous avons démontré l'efficacité du traitement ECT pour ralentir la progression métastatique et augmenter significativement la survie des animaux. Ces travaux montrent également que l'ECT classiquement utilisée dans le traitement des nodules superficiels au niveau de la peau, peut aussi clairement être bénéfique dans le cadre d'une chirurgie abdominale pour le traitement de nodules métastatiques inopérables chirurgicalement.

Nonlinear microscopy for the evaluation of liver fibrosis in chronic hepatitis C infection

SEVRAIN D¹, DOLMAN G.E.², ZEITOUN A. M.³, IRVING W. L.^{2,4}, GUHA I. N.², ODIN C.⁵, LE GRAND Y.¹

¹Université de Brest, UEB, EA 938 Laboratoire de Spectrométrie et Optique Laser, 6 avenue Le Gorgeu, C.S. 93837, 29238, Brest Cedex 3, France.

²NIHR Biomedical Research Unit Nottingham Digestive Diseases Centre

³Department of Histopathology, Nottingham University Hospitals.

⁴School of Molecular Medical Sciences, University of Nottingham

⁵IPR UR1/UMR CNRS 6251, Université de Rennes I, Campus de Beaulieu Bât 11A, 35042 Rennes Cedex France.

Introduction: Nonlinear microscopy has showed its ability to image unstained cellular components and molecular organisation through two-photon excited fluorescence (TPEF) and second harmonic generation (SHG)[1]. The use of this technique to study the liver fibrosis, linked to an overproduction of collagen without disposal, is motivated by the need of a fast and robust method to facilitate disease stratification and development of anti-fibrotic agents, complementary to standard semi-quantitative staging scales such as METAVIR and Ishak. By imaging the autofluorescence of hepatocyte cells and the SHG of fibrotic collagen, a robust process delivers the fraction of area occupied by the collagen, namely the SHG score[2,3], proposed as a relevant parameter in this study.

Material and Method: The study concerned a cohort of a hundred biopsies taken from patients infected by the Hepatitis C Virus. The TPEF and SHG images of the unstained 4µm FFPE histological cuts were realized by a femtosecond Ti:Sa pulsed source associated to an upright microscope. A post-acquisition image processing was performed with a home-made macro developed on Image J (NIH freeware), ensuring a fast assessment of the score so as a robust quantification method. The ratio of the area occupied by fibrotic collagen over the area covered by the biopsy gives the SHG score, which is finally compared with the Ishak and METAVIR stages for each biopsies.

Results: Among the 152 histological cuts, 110 were validated for the statistical study. The rest has been rejected due to imaging and histological considerations. The time spent from the imaging to the score is less than a minute. Box charts representation of the SHG scores as a function of the Ishak and METAVIR stages expose a good agreement between these quantities (fig.1). The strong variation of the score with the disease's level indicates the high sensibility of the method for the most advanced stages. Finally, a ROC representation is used has an indicator of the score ability to discriminate between the upper and the lower stages. The area under ROC (AUROC) is 0.83 [0.74 ; 0.91], proving the reliability of the SHG score.

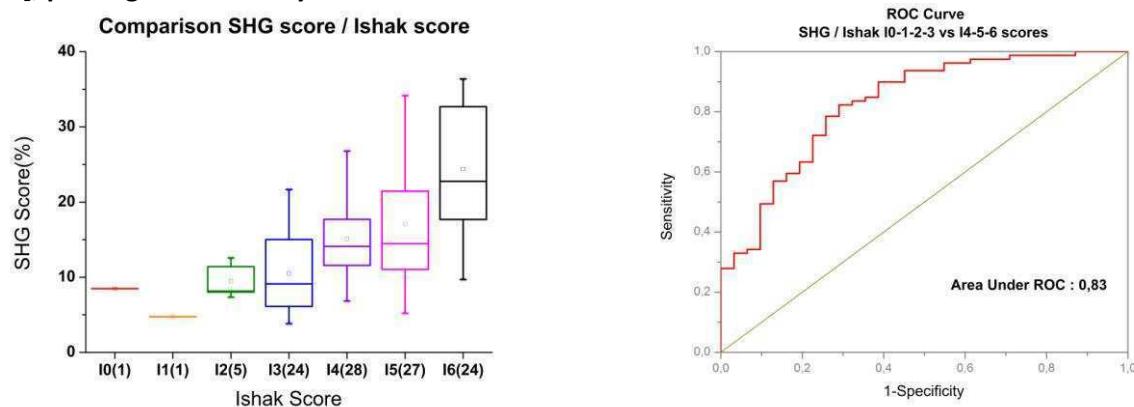


Fig. 1: Left : Box charts of SHG score vs. Ishak stages. Right: ROC curve splitting high and low fibrosis state in function of the SHG score.

Conclusion: The SHG scoring technique allows a robust and fast quantification of the relative area occupied by the collagen developed in liver fibrosis. The SHG score is showed to be both discriminative and reliable as a diagnostic tool. To complete this study, we should work on surgical specimens in order to evaluate the intra-patient score variability. Moreover, morphological aspects of the collagen deposit inside the biopsy have to be investigated to enhance the results.

References

- Zipfel WR et al. Nature Biotechnology, 21(11):1396-1377, 2003.
- Gailhouste L et al. Journal of Hepatology, 52:398-406, 2010.
- Guilbert T et al. Optics Express 18(25):25794-25807, 2010.

Evaluation of bio-integration of rat knee cartilage repair using *in vivo* MRI at 7T

J-C. Goebel¹, E. Roeder², A-L. Perrier¹, D. Grenier¹, P. Gillet², A. Pinzano², O. Beuf¹

¹Université de Lyon; CREATIS, CNRS UMR 5220 ; Inserm U1044 ; INSA-Lyon ; Université Lyon 1, Villeurbanne, France

²PPIA, UMR 7561 CNRS – Nancy Université, Vandœuvre-lès-Nancy, France.

Introduction

High-field Magnetic Resonance systems allowing high-resolution Magnetic Resonance Imaging (HR-MRI) is a powerful research tool to visualize and examine hyaline cartilage of small joints non-invasively. Different studies have shown that qualitative assessment of degenerative joint disease, derived from MR images, was reliable (1). The capability to show pathologic changes throughout the time course of the disease from three-dimensional (3D) datasets has also been demonstrated. However, *in vivo* quantitative imaging for an accurate determination of cartilage thickness and volume is challenging due to small size of rodent joints and dedicated coils are mandatory (2-3). Surgical articular cartilage repair therapies for cartilage defects such as osteochondral autograft transfer, autologous chondrocyte implantation or matrix associated autologous cell transplantation require non invasive technique to evaluate longitudinally the biointegration of the graft. The aim of this study was to follow using 7T MRI the biointegration of biomaterials colonized by mesenchymal stem cells or not after implantation in a calibrated full thickness focal lesion in the rat knee.

Material and Method

Ethics guidelines for experimental investigations in animals were strictly followed after acceptance by the animal experimentation ethics committee from Université de Lyon. The knee joint were exposed by medial parapatellar incision, and the trochlear groove were exposed by lateral dislocation of the patella. A 1.8 mm outer diameter drill was used to create osteochondral defects (1.8 - 2.0 mm). 24 adult male lewis rats (7-week-old animals) et 12 adult male nude rats underwent surgically a focal calibrated defect of their right femoral articular cartilage on the medial side according to a validated procedure: 12 lewis rats underwent a parapatellar incision without defect, 12 lewis rats underwent a full-thickness cartilage defect, 12 nude rats underwent a full-thickness cartilage defect treated by collagen sponges seeded with human mesenchymal stem cells. MR exploration of rat knee was performed at D7, D14, D28 and D120. After MR exploration, 3 rats were sacrificed at each time course and knees were fixed for further histological confrontation. A four-channel surface coil designed for the simultaneous acquisition of both knee joints of a rat on a Bruker 7T Biospec MR system was used. 3D HR-MRI of the rat knees were obtained using a 3D FLASH sequence with the following parameters: 30° flip angle, 50 ms TR, 3.6 ms TE, 27.8 kHz receiver bandwidth. A total of 256 partitions (98 µm thick) were acquired in two volumes, one for each knee, with a FOV of 1.25 x 1.88 cm². Due to the simultaneous signal acquisition of large matrix on four channels not handled by the proprietary Bruker Paravision 5.1 software, a home-made script using Matlab was written to obtain the reconstructed slices (in-plane pixel: 49 x 49 µm², thickness: 98 µm). The scan time for the FLASH sequence was 1h22 min. The 3D-MRI data sets were used to compute the femoral condylar groove as well as medial and lateral tibial plateaus cartilage volumes. The knee cartilage compartments were drawn directly on interactive touch-sensitive screen this screen using the pen provided. Manual contouring and pixel counting were done using AMIRA software.

Results

On sham group, volumes of femoral, medial and lateral tibial cartilages were comparable for the right (9.2 ± 0.5 ; 1.7 ± 0.5 ; 2.5 ± 0.4 mm³ respectively) and left (9.1 ± 0.7 ; 1.9 ± 0.2 ; 2.1 ± 0.6 mm³ respectively) rat knee joint and are constant over the time. Segmentation of rat cartilages with defect (with or without biomaterial) was more difficult to achieve. Rats with calibrated defect on the right knee showed a lower femoral cartilage volume at D7 compared to sham group. The femoral cartilage volume of the right knee was significantly lower compared to the left knee.

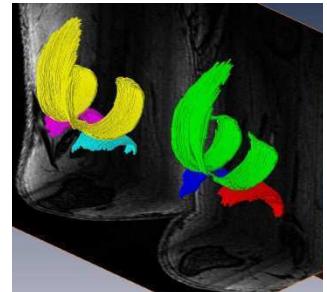


Fig.1: Segmented cartilage compartments of both knee in control rat.

Conclusion

The quality of the MR images obtained with the developed array coils allowed the segmentation of cartilage compartments and measurements of cartilage thickness and volumes. HR-MRI allowed the follow up of cartilage to evaluate *in vivo* therapeutical responses after chondrogenic biomaterial grafting. Additional information is however required to estimate the real bio-functionality of such biomaterial.

References

1. J. Tessier et al., *Osteoarthritis Cartilage* 11:845-53 (2003).
2. R. Bolbos et al., *Osteoarthritis Cartilage* 15:656-65 (2007).
3. JC. Goebel et al., *Rheumatology* 49:1654-1664 (2010).

Acknowledgment: This work is funded by ANR with grant ref. ANR-09-BLANC-0150-01.

Estimation 2D du mouvement de la paroi carotidienne sur des séquences d'images US RF tagguées

Sébastien Salles¹, Guillaume Zahnd¹, Hervé Liebgott¹, André Sérusclat², Didier Vray¹

¹Université de Lyon, CREATIS; CNRS UMR5220; Inserm U1044; INSA-Lyon; France,

²Hôpital CardioThoracique et Vasculaire Louis Pradel de Lyon, France

Introduction

Il a été montré récemment que le mouvement axial mais surtout longitudinal de la paroi artérielle est un indicateur de l'athérosclérose car il fournit un indicateur pertinent de la rigidité de l'artère. L'imagerie échographique (US) est aujourd'hui la principale modalité d'image utilisée en clinique pour la détection et la quantification locale de l'évolution des propriétés de la paroi vasculaire. Toutefois, les mesures réalisées en clinique sur les images US mode B manquent de fiabilité et de reproductibilité.

Nous présentons ici une nouvelle approche originale de formation de l'image ultrasonore dédiée à l'estimation du mouvement de la paroi vasculaire en introduisant des oscillations latérales de manière à permettre la mise en œuvre de méthodes d'estimation de mouvement basées sur la phase dans les 2 directions.

Matériel et Méthode

Tout d'abord, il s'agit de créer une nouvelle formation de voies dynamique temps réel en s'appuyant sur les travaux réalisés à CREATIS et de l'implanter sur un échographe de recherche. Cette formation de voie consiste à utiliser une onde plane en transmission et deux fenêtres de hanning en réception créant ainsi des oscillations dans les deux directions de l'image pour former ce que l'on appelle une « Image US tagguée ».

Nous avons développé également un estimateur de mouvement adapté à ce type d'image ultrasonore en exploitant l'information de phase tirée des images successives d'une séquence. Nous en déduisons la trajectoire des tissus biologiques à partir d'images acquises *in vivo*.

Résultats

Notre méthode a été implantée sur un échographe de recherche (ULA-OP, MSDLAB, università degli studi di Firenze) et les acquisitions ont été réalisées sur des carotides saines *in vivo*. Notre méthode permet de décrire de manière reproductible au cours du cycle cardiaque la trajectoire de la paroi carotidienne qui a une épaisseur d'environ 400-500µm chez un sujet sain. L'amplitude du mouvement radial mais également longitudinal est de l'ordre du mm. Nous avons pu également montrer que notre méthode donne de meilleures résultats en terme de reproductibilité au cours du cycle cardiaque.

Conclusion

La méthode proposée permet l'estimation du mouvement 2D au cours du temps de la paroi carotidienne. Les résultats prometteurs montrent l'importance du mouvement longitudinal pour mesurer l'élasticité de l'artère qui est un marqueur de l'athérosclérose. .

Références

- [Cinthio-05] Cinthio M, Ahlgren A, Jansson T, Eriksson A, Persson H, Lindstrom K, "Evaluation of an ultrasonic echo-tracking method for measurements of arterial wall movements in two dimensions", IEEE Trans Ultrason, Ferroelectr and Freq Control, 2005;52(8):1300–1311.
- [Basarab-09] Basarab A, Gueth P, Liebgott H, Delachartre P, "Phase-based block matching applied to motion estimation with unconventional beamforming strategies", IEEE Trans Ultrason Ferroelectr Freq Control, vol. 56, no. 5, pp. 945-957, 2009.

Reproductibilité des mesures d'élastographie de cisaillement dans le foie pathologique

M Labit¹, M Lefort¹, F Frouin¹, O Lucidarme^{1,2}, C Pellet-Barakat¹

¹Laboratoire d'Imagerie Fonctionnelle, UMR_S 678 UPMC/Inserm, Paris, France

²Service de Radiologie Polyvalente Diagnostique et Oncologique, CHU Pitié-Salpêtrière, Paris, France

Introduction

La mesure de la rigidité hépatique représente une alternative très intéressante à la biopsie pour le diagnostic de la fibrose chez les patients atteints de maladies hépatiques chroniques. L'objectif de ce travail est d'évaluer la fiabilité et reproductibilité des mesures de rigidité obtenues par élastographie de cisaillement (shear wave elastography, SWE) dans le cadre du diagnostic de la fibrose hépatique.

Matériel et Méthode

Dans une première étude, les différentes phases dépendant de l'opérateur pour la mesure de l'élasticité ont été recensées afin d'évaluer les causes de variabilité de la mesure de rigidité. Des recommandations pour une utilisation optimale de l'élastographie de cisaillement ont alors été proposées, puis utilisées pour mettre au point un protocole de reproductibilité. Toutes les données ont été acquises avec un échographe Aixplorer (SSI®), dans une version dédiée à la clinique. Les premières acquisitions ont été réalisées sur un fantôme de sein dédié à l'élastographie (CIRS®), reproduisant les propriétés mécaniques des tissus mous et contenant des inclusions rigides. Afin d'étudier l'influence de la position du transducteur, trois clips de dix secondes ont été systématiquement acquis autour de cinq inclusions du fantôme. Dans un second temps, une série d'acquisitions a été réalisée sur une population de 22 patients (âge moyen: 57±14 ans) atteints de pathologies hépatiques diffuses (fibrose, cirrhose). Pour cette étude de reproductibilité, trois clips d'une durée de dix secondes ont également été acquis dans les lobes hépatiques droit et gauche de chaque patient par un même opérateur.

Résultats

Les phases dépendant de l'opérateur incluent le positionnement du transducteur, le choix de la région d'insonification, le choix d'une image stable dans le clip et la sélection manuelle d'une région d'intérêt dans laquelle la mesure d'élasticité moyenne est estimée. L'élasticité moyenne a été calculée dans une région automatiquement extraite du clip en prenant en compte des critères d'homogénéité et de stabilité [1]. L'ensemble des mesures a été comparé à l'élasticité moyenne estimée dans une région sélectionnée par l'opérateur.

Dans les tissus mous (régions où l'élasticité est estimée entre 4 et 6 kPa), que ce soit sur le fantôme ou sur les études hépatiques, la reproductibilité des mesures intra-opérateur est très satisfaisante et la corrélation entre les mesures automatiques et celles réalisées par l'opérateur est élevée (corrélation autour de 0,95). Sur le fantôme, la reproductibilité est moindre dans les zones contenant les inclusions rigides. Finalement dans les lobes hépatiques les plus durs (présentant une valeur d'élasticité supérieure à 10kPa), les mesures sont les plus difficiles à reproduire.

Conclusion

Les mesures d'élastographie par ondes de cisaillement dans les tissus mous sont reproductibles à la fois sur le fantôme et sur les données cliniques mais elles présentent une plus grande variabilité dans les zones dures. Néanmoins cette variabilité n'a quasiment pas d'influence sur la classification en différents stades de la fibrose hépatique.

Références

1. Labit *et al.* Proceedings of ITEC Conference, Deauville, oct 2012,

IRM multi-échos 3D couplée à une technique de segmentation automatique :Quantification des fractions volumiques graisseuse et musculaire ainsi que les temps de relaxation T_1 et T_2^*

B. Leporq¹, A. Le Troter², Y. Le Fur², E. Salort-Campana³, P. Cozzone², O. Beuf¹, D. Bendahan²

¹Université de Lyon, CREATIS; CNRS UMR 5220; Inserm U1044; INSA-Lyon; Université Lyon 1; Villeurbanne, France.

²Aix-Marseille Université, CRMBM, CNRS UMR 6612, Marseille, France. ³Reference Center for Neuromuscular Disorders, Timone Hospital, Marseille, France.

Introduction: En raison de sa capacité à distinguer les tissus graisseux, musculaire ainsi que les phénomènes œdémateux et inflammatoires, l'IRM est considérée comme un outil de choix pour l'exploration des modifications tissulaires survenant dans le cadre des myopathies (1). Contrairement à la biopsie musculaire qui apporte des informations anatomo-pathologiques sur une zone de tissu restreinte, l'IRM permet une approche reproductible et non-invasive sur l'ensemble du volume musculaire. Plusieurs méthodes ont été développées afin de quantifier l'infiltrat graisseux du muscle, un indice myopathique communément utilisé. Les approches fondées sur une segmentation automatique par seuillage des images natives ont été proposées mais elles ne donnent pas une information suffisamment fiable lorsque de la graisse et les tissus musculaires sont présents dans le même voxel comme c'est le cas lors d'infiltrations (2). Les méthodes de séparation de l'eau et de la graisse basées sur le déplacement chimique (Dixon) souffrent de biais de quantifications induits par les temps de relaxation et la complexité spectrale des lipides (3). Cette étude présente une méthode originale combinant une segmentation automatique des fractions musculaires et graisseuses couplée à une acquisition multi-écho permettant *in fine* la mesure des temps de relaxation T_1 et T_2^* du tissu musculaire non infiltré.

Méthode: Acquisition: L'imagerie a été réalisée à 1.5T avec une séquence FLASH 3D multi-écho et triple angles de bascule. Les paramètres d'acquisition sont : 8 échos multiples de 2,38 ms ; 3 angles de bascule (5, 10 et 15°) ; un TR de 22 ms ; 32 coupes axiales de 4 mm; matrice de 128×256 pour un FOV de $180 \times 360 \text{ mm}^2$; 2 accumulations et une bande passante de 454Hz.pixel^{-1} .

Quantification de la Fraction Volumique de Graisse (FVG): Un algorithme dédié a été développé. Ce dernier inclut une correction des effets des temps de relaxation par estimation séparée des valeurs de T_1 et T_2^* des protons de l'eau et des lipides, une prise en compte des 5 composantes spectrales principales des lipides par précalibration (*connaissance a priori*) et une procédure permettant la levée l'ambiguité de composante dominante. Cette algorithme génère des cartographies de FVG, de densité protonique, des temps de relaxation T_1 et T_2^* de l'eau et de la graisse. **Segmentation:** Un algorithme de segmentation combinant les cartographies a été développé pour permettre la distinction de la graisse sous-cutanée, de la graisse de la moelle osseuse, de l'infiltrat graisseux pathologique et du tissu sain. Les segmentations permettent de quantifier la fraction de tissus graisseux infiltré (FTGI) défini comme le nombre de pixels classés comme tissu graisseux pathologique sur le nombre total de pixels constituant le volume musculaire (sain + pathologique). **Sujets:** 9 sujets sains (9H; $35 \pm 7,1$ ans; $74 \pm 7,3$ Kg) et 7 sujets porteurs de myopathies (3F, 4H; $50,1 \pm 18,2$ ans; $70,4 \pm 11,0$ Kg) formaient les groupes contrôle et patients respectivement.

Résultats: Dans le groupe contrôle, les temps de relaxation T_1 et le T_2^* moyens du tissu musculaire sont respectivement de 1107 ± 67 ms et $29,2 \pm 0,4$ ms et la FTGI de $5,5 \pm 2,6$ %. Chez les patients, la FTGI augmente significativement: $21,6 \pm 9,3$ % ; $p<0,001$ et varie selon les individus (CV intra-groupe de 43,2 %). Les temps de relaxation augmentent sensiblement par rapport au groupe contrôle (1164 ± 98 ms et $31,4 \pm 1,1$ ms) mais significativement (1217 ± 58 ms ; $p<0,05$ et $31,9 \pm 0,7$ ms; $p<0,01$ respectivement pour les temps de relaxation T_1 et le T_2^*) chez les sujets dont l'infiltrat graisseux est important (FTGI > 18 %).

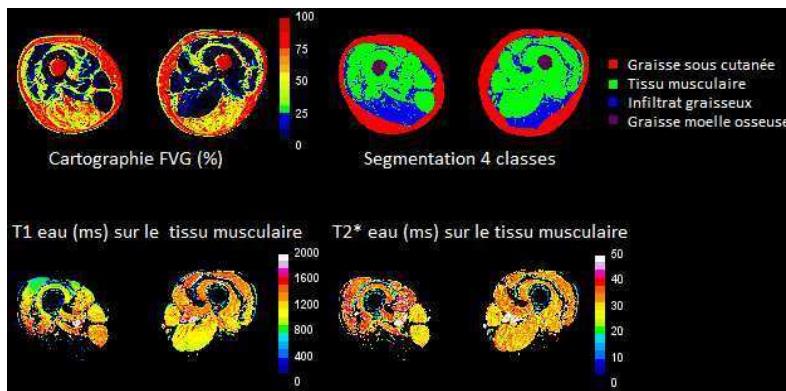


Fig 1: Cartographie de FVG chez un sujet porteur d'une myopathie et segmentation associée permettant de réaliser des cartographies T_1 et T_2^* des protons de l'eau sur le tissu musculaire encore sain ainsi que de quantifier la FTGI.

Discussion: Cette méthode permet de quantifier la FVG sans biais relatifs conditions d'acquisitions et ainsi de segmenter l'infiltrat graisseux pathologique (Fig. 1). En s'affranchissant des différents volumes graisseux comme le tissu adipeux sous-cutané et la moelle osseuse, un nouveau paramètre a pu être introduit: la fraction de tissus graisseux infiltré, qui pourrait être un bio-marqueur pertinent pour évaluer la sévérité d'une myopathie. D'autre part, grâce à l'estimation séparée des temps de relaxation de l'eau et des lipides, les valeurs de temps de relaxation de l'eau pourraient permettre de détecter l'inflammation ou l'œdème associés comme le suggère l'augmentation significative des temps de relaxation T_1 et T_2^* observée à travers cette étude en fonction de la pathologie. Un prochain travail consistera à appliquer cette méthode sur le volume 3D entier avec estimation des volumes.

[¹]Mercuri *et al.* JMRI 2007;25:433-40

[²]Positano *et al.* JMRI 2009;29:677-84

[³]Leporq *et al.* ISMRM-ESMRMB 2010 proceeding n°2581

Improved Quantification of Abnormal Aortic Flow in 3D compared to standard 2D Approach

M Sigovan^{1,2}, MD Hope¹, J Wrenn¹, P Dyverfeldt^{1,3}, D Saloner¹

¹ Department of Radiology and Biomedical Imaging, UCSF, CA, USA

² Lyon1 University, CREATIS Laboratory, Lyon, France

³ Linkoping University, Linkoping, Sweden

Introduction: With 4D MR flow imaging, eccentric flow has been reported in patients with bicuspid aortic valve (BAV) and investigated as a risk factor for ascending aortic (AsAo) aneurysms [1]. We have demonstrated that a new parameter, normalized displacement, quantifies the degree of flow eccentricity in the AsAo [2]. However, it only offers information on a single location in the AsAo. The aim of the current work was to extend the normalized displacement parameter to utilize the entire 4D flow information. We developed a 3D analysis method and analyzed the degree and pattern of eccentric systolic blood flow in the AsAo of individuals with different aortic pathologies.

Material and Method: A time-resolved 3D Phase-Contrast MRI pulse sequence was used to assess blood flow in the thoracic aorta. MR imaging was performed at 1.5T (Siemens Avanto, Germany, and Signa, GE, Milwaukee, WI). The protocol was approved by our institutional review board, and informed consent was obtained from all participants. Manual segmentation of the entire aorta was performed in Amira (Visage Imaging, Germany) on calculated PCMRA images, and the vessel centerline was then obtained. The automated flow analysis of the AsAo segment was performed in Matlab (The MathWorks Inc, Natick, MA). Cross-sectional planes were automatically placed along the centerline at equal spacing (Figure 1A). For each cross-section, normalized displacement, defined as the distance between the center of the lumen and the center of velocity of the forward flow, normalized to the diameter of the cross-section, was obtained. Finally, the Area under the curve of the Normalized Displacement plotted against the distance along the centerline was calculated, and normalized to the length of the investigated segment.

Results: 28 subjects were divided in 5 groups based on their aortic pathology: Normal (n=6), BAV without aortic stenosis (AS) or dilatation (n=7), TAV with AS, no dilatation (n=3), TAV with dilatation, no AS (n=6), and TAV with both AS and dilatation (n=6).

Representative plots of normalized displacement from multiple cross-sections through the AsAo as a function of distance along the AsAo are presented in Figure 1 for a BAV subject (B), and two TAV + AS & Dilatation subjects (C, D). Figure 1E presents the streamline visualization of the systolic flow pattern explaining the 3D displacement plot in Figure 1D.

The flow pattern had similar characteristics within a group of subjects. Generally, presence of AS was related to a rapid increase in normalized displacement, followed by a plateau. Normalized displacement variation along the AsAo for BAV subjects presented an increase followed by an immediate decrease of values, with absence of a plateau.

Average values of the area under the curve of normalized displacement were: 0.11±0.04 (Normal), 0.2±0.07 (BAV), 0.31±0.05 (TAV + AS), 0.28±0.12 (TAV + Dilatation), and 0.36±0.04 (TAV + AS & Dilatation).

Conclusion: The improved 3D flow displacement analysis allows visualization of the flow pattern along the ascending aorta, and enables detection of characteristics specific to different aortic pathologies. Furthermore, the 3D method better captures abnormal flow with aortic valve disease than the standard 2D analysis.

References

- Hope MD et al. Radiology, 255:53-61, 2010
- Sigovan et al. JMRI, 34 :1226-1230, 2011

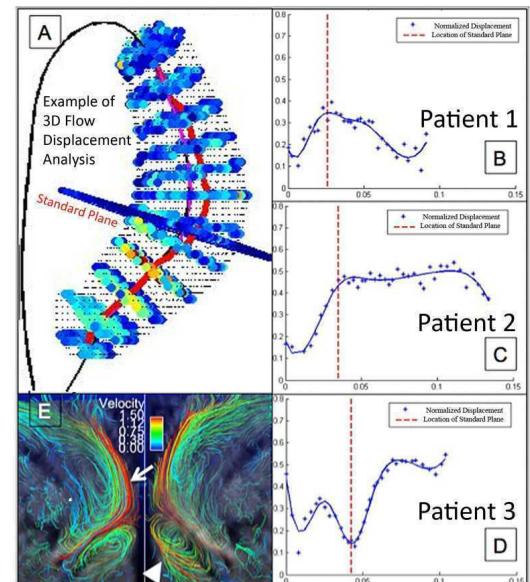


Figure 1. 3D flow displacement analysis: A - cross-sections are automatically placed along the vessel centerline (black), and normalized displacement is calculated for each cross-section (red line); Plots B-D present the variation of the normalized displacement for different patients. A standard plane was placed based on anatomic landmarks (red dashed lines). In some cases the standard plane can entirely miss the abnormal flow (D). Streamline visualization of the systolic flow pattern presented in inset E explains the displacement plot in D. Recirculation in the aortic root (arrow head) results in an early displacement peak, but then pushes flow centrally at the level of the standard plane, only to become markedly eccentric at the level of the pulmonary artery (arrow).

Session 6 :

Bases de données hétérogènes et calculs distribués

Design of an ontology for the annotation of object models used for medical image simulation

Bernard Gibaud¹, Germain Forestier², Hugues Benoit-Cattin³, Fredéric Cervenansky³, Patrick Clarysse³, Denis Friboulet³, Alban Gaignard⁴, Patrick Hugonnard⁵, Carole Lartizien³, Hervé Liebgott³, Johan Montagnat⁴, Joachim Tabary⁵, Tristan Glatard³

¹ Université de Rennes 1, LTSI; Inserm U1099, Rennes, France (bernard.gibaud@univ-rennes1.fr)

² Univ. Haute-Alsace, MIPS EA2332, Mulhouse, France

³ Université de Lyon, CREATIS; CNRS UMR 5220; Inserm U1044; INSA-Lyon; Univ. Lyon 1, France

⁴ CNRS / UNS, I3S laboratory, MODALIS team, Sophia Antipolis, France

⁵ CEA-LETI-MINATEC, Recherche technologique, Grenoble, France

Introduction

The Virtual Imaging Platform (<http://vip.creatis.insa-lyon.fr>) provides researchers with a platform gathering several image simulators of various modalities [1]. This work focuses on the sharing and reuse of the models used for medical image simulation. Currently, a barrier to the wide-scale use of these techniques is the difficulty of creating realistic models that are suited to the researchers' specific needs. Thus the VIP project aims at setting up a model repository to facilitate their sharing and reuse.

This paper describes an ontology for medical image simulation models, tailored to the needs of the SINDBAD, SIMRI, SORTEO and FIELD-II simulators integrated in VIP, but easily extensible to other simulators. This ontology, called OntoVIP is used to semantically annotate the models files (images, meshes, etc.)

Material and Method

- A. *Modularity and integration framework:* Our goal is to define a vocabulary that is likely to gather consensus in this community. Therefore, it is important to rely on existing ontologies rather than developing new ones. It is also important to ensure that the resulting application ontology will be consistent. Therefore, we decided to develop OntoVIP upon a common integration framework provided by a foundational ontology called DOLCE (Descriptive Ontology for Language and Cognitive Engineering), and successfully used in a previous project [2].
- B. *Reuse of external ontologies:* in the framework of the VIP project, we selected several existing ontologies, namely the Foundational Model of Anatomy (FMA), the Phenotypic Attribute and Trait Ontology (PATO), the Mouse Pathology ontology (MPATH), the Radiology Lexicon (RadLex) and the Chemical Entities of Biological Interest ontology (ChEBI).

To perform the extraction of the relevant subsets automatically, we used vSPARQL [3], a language allowing the design of sub-queries and recursive queries.

Results

The ontology allows precise semantics to be associated to information depicted in the images or meshes that compose a model. It models consistently all kinds of medical image simulation object models, especially with regards to the different imaging modalities (CT, MR, PET, US). The major features of the model are: (1) an organization in layers, allowing representing the various facets of a model, each of them represented by a model layer (e.g. anatomy, pathology, presence of an external agent, presence of a foreign body); (2) links with various physical properties of tissues or materials, which is required by simulation software; (3) capability to represent time-varying phenomena; (4) definition of a rich taxonomy of models facilitating their indexing, retrieval and use in image simulations.

Conclusion

The ontology is being used in the VIP platform's software: (1) for model annotation, when the users upload new models or modify existing ones; (2) for querying the models available in the repository; (3) to browse models' content at simulation time and check their compatibility with the different classes of simulators.

References

1. T. Glatard et al. "Multi-modality image simulation with the virtual imaging platform: Illustration on cardiac MRI and echography," IEEE International Symposium on Biomedical Imaging (ISBI), Barcelona, Spain, 2012.
2. L. Temal et al. "Towards an Ontology for Sharing Medical Images and Regions of Interest in Neuroimaging," Journal of Biomedical Informatics, vol. 41, no. 5, pp. 766-778, 2008.
3. M. Shaw et al. "vSPARQL: A view definition language for the semantic web." Journal of Biomedical Informatics, vol. 44, no. 1, pp. 102-117, 2011.

Shanoir :SHAringNeurOImaging Resources: 2 years of experience in managing data of a neuroimaging MRI research platform

*J. Guillaumont, G. Renard, E. Bannier, I. Corouge, C. Barillot
Visages U746, INSERM, INRIA, IRISA (CNRS 6074), University of Rennes 1*

Shanoir (<http://Shanoir.org>) is an open source software platform designed to structure, manage, archive, visualize and share neuroimaging data with an emphasis on multi-centric collaborative research projects. It provides common features of neuroimaging data management systems along with research-oriented data organization and enhanced accessibility.

Shanoir is a secured J2EE application running on a JBoss server, reachable via graphical interfaces in a browser or by third party programs via web services. It behaves as a repository of neuroimaging files coupled with a relational database holding meta-data. The data model, based on OntoNeurolog, an ontology devoted to the neuroimaging field, is structured around research studies whereof involved patients have examinations, which either produce image acquisitions or clinical scores. Each image acquisition is composed of datasets represented by their acquisition parameters and image files. The system only keeps anonymous data.

Image file imports are possible from various sources (DICOM CDs, PACS, image files in NIfTI / Analyze format) using either online wizards, with completion of related meta-data, or command line tools. Once de-identified during the import phase, DICOM header's content is automatically extracted and inserted into the database by a customizable feature. Shanoir can also record any executed processing allowing retrieving workflows applied to a particular dataset along with the intermediate data.

The clinical scores resulting from instrument-based assessments (e.g. EDSS scores in MS, neuropsychological tests) can also be entered and easily retrieved and exported in different formats (Excel, CSV, Xml). Scores and image acquisitions are bound together, which makes relationship analysis possible. The instrument database is scalable and new measures can be added in order to meet specific project needs, by use of intuitive graphical interfaces.

Using cross-data navigation and advanced search criteria, the users can quickly point to a subset of data to be downloaded. Client side applications have as well been developed to illustrate how to locally access and exploit data through the available web services. With regards to security, the system requires authentication and user rights are tunable for each hosted studies. A study responsible can thereby define the users allowed to see, download or import data into his study or simply make it public.

We will show how Shanoir at the Neurinfo platform (<http://www.neurinfo.org>) serves neuroimaging researchers in organizing efficiently their studies while cooperating with other laboratories. By managing patient privacy, Shanoir allows the exploitation of clinical data in a research context. It is finally a handy solution to publish and share data with a broader community. The current evolution concerns the use of the Shanoir environment in the context of the OFSEP cohort, which will gather within the next 10 years 30000 patients suffering of MS. The challenge will be to manage the imaging information coming from this cohort with the Shanoir environment, and how this environment will interoperate with complementary information coming from clinical and/or biological data.