

Table des matières

Introduction	1
La radiothérapie	1
La radiothérapie guidée par l'image	2
Les produits de contraste en radiothérapie	5
Les produits de contraste à base de nanoparticules	6
Les produits de contraste à base de liposomes	7
Les produits de contraste à base de nano-émulsions	9
Choix du produit de contraste	10
Buts de l'étude	10
Intérêt de l'étude	11
Matériel et méthodes	12
Considérations éthiques	12
Modèles d'études	12
Anesthésie	12
Expériences	13
Foie	13
Poumon	14
Détermination de la biocinétique du produit de contraste	15
Analyse visuelle	
Rehaussement	15
CNR	17
Influence des kV sur la qualité d'image	18
Résultats	19
Expérience Foie	19
Tolérance	19
Biocinétique de l'ExiTron nano 6000	
Analyse visuelle	
Rehaussement	21
CNR	23
Qualité d'image	
Influence des kV sur la qualité d'image	24



HESAV	
Expérience Poumon	25
Tolérance	
Analyse visuelle	
•	
Rehaussement	
Discussion	
Conclusion	
Liste de références bibliographiques	
Liste des références iconographiques	34
Annexes	35

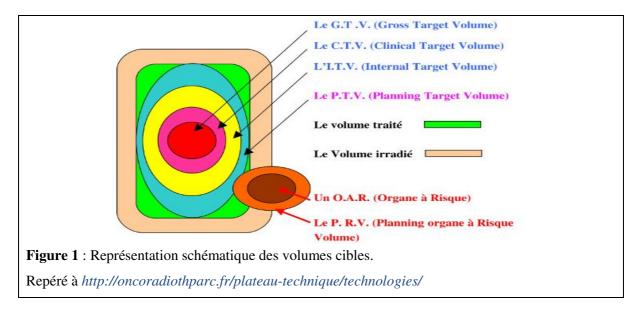


Introduction

La radiothérapie

La radiothérapie est un domaine de la santé dont l'évolution ne cesse de progresser. Ainsi les progrès technologiques ont permis de passer d'une radiothérapie conventionnelle avec une géométrie d'irradiation fixe à une radiothérapie rotationnelle avec modulation d'intensité (Intensity Modulated Radiation Therapy, IMRT) (Louvel et al., 2012). Cette dernière peut être assistée par des images au moment de la séance d'irradiation ce qui permet de vérifier la position de la tumeur pour le traitement et permet une radiothérapie guidée par l'image (Image Guided Radiation Therapy, IGRT).

Pour toute procédure de radiothérapie, la tomodensitométrie (TDM, ou Computed Tomography, CT) est la première modalité d'imagerie utilisée; elle sert à la planification et donc comme référence pour tout le traitement. Ces images sont acquises dans les conditions de traitement au moyen d'un CT spécifique à la radiothérapie (gantry plus large, constantes fixes, etc.), c'est pourquoi, on parle de CT-dédié. La planification est une étape pouvant être décomposée en plusieurs sous-étapes comprenant notamment le contourage, c'est-à-dire la définition des volumes à traiter, ainsi que la dosimétrie, phase de définition des doses à délivrer. L'objectif de cette planification est de pouvoir délimiter et distinguer les organes ainsi que la tumeur le plus précisément possible afin de garantir que la dose prescrite corresponde à la dose délivrée à la tumeur et que la dose aux organes à risques (Organs At Risk, OAR (Figure 1)) soit la plus faible possible (Cazoulat et al., 2011; Louvel et al., 2012). De ce fait, sur la base de ces images CT seront déterminés les différents volumes cibles tels que le volume tumoral brut (Gross Tumor Volume, GTV), le volume cible clinique (Clinical Target Volume, CTV), le volume cible de planification (Planning Target Volume, PTV) ainsi que les OAR (Figures 1 et 2). A partir de ces différents volumes, seront déterminés les gradients de dose et la géométrie des faisceaux de traitement (Grenier, [Cours TRM, HESAV, Présentation PowerPoint], 2013).





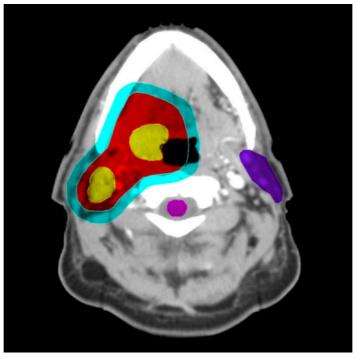


Figure 2: Représentation clinique des volumes cibles à partir d'un plan de traitement sur un cou. Repéré à http://titan.radonc.unc.edu/dose/aud41.lesson.tumor.01.html?all=1

Légende: GTV (jaune), CTV (rouge), PTV (bleu), OAR (violet et rose)

La radiothérapie guidée par l'image

Une fois la phase de planification achevée, l'IGRT joue un rôle prépondérant quant à la reproduction des conditions de traitements préétablies. En effet, les variations de position de la tumeur, résultant de modifications du volume tumoral ou des organes à risque, peuvent engendrer un sous-dosage tumoral et/ou un surdosage des OAR (Cazoulat et al., 2011 ; de Crevoisier et al. 2009). Ainsi, la dose délivrée risque de ne plus correspondre à la dose planifiée et d'augmenter les effets secondaires des rayonnements (toxicité) (Cazoulat et al., 2011 ; Louvel et al., 2012). C'est pourquoi, il est nécessaire d'effectuer régulièrement une imagerie de contrôle, grâce à l'IGRT.

L'IGRT peut être réalisée à partir de différents types d'appareils comme le système robotisé Cyberknife, la tomothérapie hélicoïdale (Mega Volts Computed Tomography, MVCT), ou encore la scanographie sur rails. Mais la modalité la plus répandue est la tomographie à faisceau conique (Cone Beam CT, CBCT) (de Crevoisier et al., 2009). Elle est utilisée de façon standard dans la pratique actuelle en Suisse (Office Fédéral de la Santé Publique [OFSP], 2013).





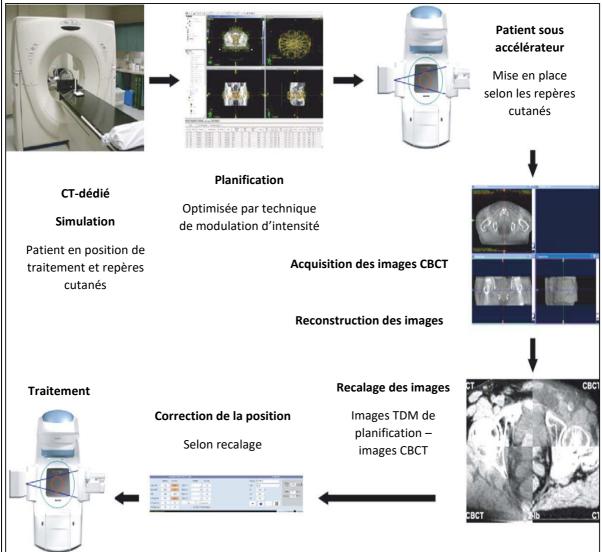


Figure 3 : Les différentes étapes de la radiothérapie guidée par l'image, tiré et adapté de Crevoisier et al. (2009).

À partir du système d'imagerie embarqué de l'accélérateur linéaire, il est possible d'obtenir des projections 2D ou de réaliser un CBCT.

Dans les deux cas, ces images sont superposées à leurs homologues issus du CT-dédié (de Crevoisier et al., 2009) dans le but de repositionner la tumeur le plus précisément possible, soit à l'aide de projections reconstruites digitalement (Digitally Reconstructed Radiograph, DRR) (Grenier, communication personnelle [Présentation PowerPoint], 2014), soit en utilisant directement les images en coupe obtenues. Une tomographie conique (Figure 3) peut être réalisée régulièrement au cours du traitement ; elle offre alors une aide précieuse pour cibler la tumeur (Cazoulat et al., 2011 ; de Crevoisier et al. 2009).

En effet, des modifications du volume tumoral et/ou des changements anatomiques du patient en cours de traitement peuvent éventuellement déboucher sur un déplacement du patient ou à une replanification du traitement. Dans ce dernier cas, il s'agit de radiothérapie adaptative (Louvel et al., 2012).

HESAV

Cependant, tout comme le CT à visée diagnostique, les images CBCT possèdent un contraste naturellement faible en ce qui concerne les tissus mous sains et tumoraux. La qualité des images acquises s'en trouve alors réduite. Par conséquent, le rehaussement de ces structures faiblement contrastées au moyen d'agents de contraste devient intéressant. Si l'utilisation des produits de contraste est fréquente en CT ainsi qu'en imagerie par résonance magnétique (IRM), en radiothérapie, les agents de contraste iodés ne sont pas utilisés de façon standard et systématique pour l'imagerie de planification. En effet, leur forte concentration en iode dénature les unités Hounsfield (Hounsfield Units, HU) des tissus et affecte par conséquent la dosimétrie (Xiao et al., 2010). Cependant, l'utilisation de produits de contraste est possible en radiothérapie. Les produits de contraste iodés ont ainsi récemment été utilisés chez l'homme lors de la phase de planification exclusivement et ont permis une meilleure délimitation du GTV (Xiao et al., 2010) ainsi qu'une réduction du PTV dans le poumon. Dans ce cas, les images générées avec produit de contraste ont été utilisées pour le contourage et les images natives pour la dosimétrie. Néanmoins, Pirault et al. (2015) ont comparé des planifications dosimétriques issues d'images avec et sans produit de contraste iodé et ont relevé des différences de dose inférieure à 1% pour les volumes cibles et 1,5% pour les organes à risque.

Dans la même idée, il serait possible, en IGRT, d'utiliser des images générées avec du produit de contraste avant chaque séance de traitement pour améliorer le repositionnement en visualisant directement les volumes cibles rehaussés et en ne se basant pas uniquement sur des structures anatomiques osseuses. Aussi, une étude sur un modèle animal a montré que l'utilisation ponctuelle d'injection de produit de contraste iodé lors du CBCT permet un repositionnement plus précis grâce à une replanification périodique basée sur le CBCT injecté tout en conservant une dose d'irradiation globale proche de la dose de prescription (Søvik et al., 2010). Toutefois, cette solution est limitée en clinique par la toxicité inhérente aux agents de contraste, comme la nephrotoxicité (Søvik et al., 2010).

Pour ces raisons, jusqu'à aujourd'hui, et à notre connaissance, l'utilisation de produits de contraste iodés conventionnels en radiothérapie est limitée à la phase de planification et ne concerne pas encore la phase de traitement. C'est pourquoi, afin de parvenir à des améliorations techniques et de trouver des réponses aux problématiques existantes, il est nécessaire de passer par une phase d'expérimentation préclinique sur des modèles animaux afin d'explorer des alternatives pour la clinique





Les produits de contraste en radiothérapie

Les agents de contraste iodés conventionnels peuvent être utilisés de manière préclinique en radiothérapie. Cependant, ils ont pour désavantage de limiter de manière significative les temps d'expérimentation en raison de leur très faible rémanence vasculaire (Clark & Badea, 2014; Liu et al., 2012).

Les limites identifiées de ces produits ont amené les chercheurs à développer de nouvelles molécules dont le poids moléculaire plus élevé et le temps de rémanence vasculaire accru permettent de réaliser de l'imagerie sur une durée prolongée (Clark & Badea, 2014). Le problème de la nephrotoxicité a également été étudié et de nouveaux modes d'élimination ont été exploités tels que les voies hépatobiliaires.

On peut classifier ces « nouveaux » produits de contraste précliniques en diverses catégories comme les nanoparticules, les liposomes ou encore les nano-émulsions (Tableau 1).

Tableau 1 : Synthèse des produits de contraste et de leurs principales caractéristiques (Boll et al., 2011 ; Lalwani et al., 2013 ; Li et al., 2012, 2014 ; Willekens et al., 2008)

Structure phys	ico-chimique	Nom commercial	Temps de rémanence vasculaire [h]	Voie de distribution	Voie d'élimination		
Nano-ém	nulsion	Fenestra LC	4				
Liposom	ne iodé	Non-commercialisé Synthétisé en laboratoire	3-4	Vasculaire	Hépatobiliaire		
	à base d'or	AuroVist 15 nm	15-20	EPR			
Nanoparticule	à base de métal alcalino-terreux	ExiTron nano 6000 / 12000	4-8				

Les produits de ces trois catégories ont comme caractéristique commune de pouvoir être utilisés pour un ciblage passif des tumeurs grâce à un effet de perméabilité vasculaire et de rétention tumorale accrues (Enhanced Permeability and Retention Effect, EPR effect : Figure 4). La perméabilité des nouveaux vaisseaux sanguins générés grâce à la capacité d'angiogenèse des tumeurs est plus importante que pour les vaisseaux constitués. Ce phénomène s'accompagne également d'une absence de drainage lymphatique produisant une rétention accrue du PDC au niveau tumoral (Li et al., 2014 ; Lee et al., 2013).

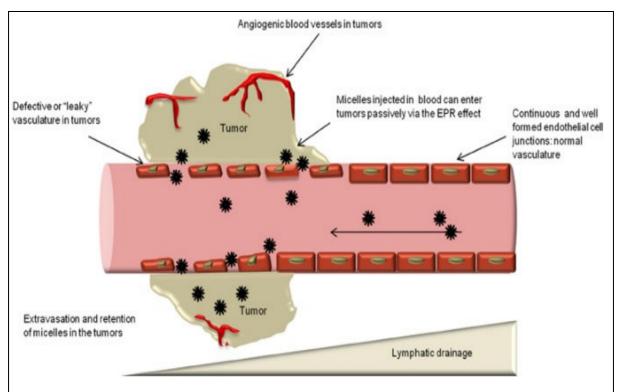


Figure 4 : Représentation schématique de l'effet EPR. Repéré à http://journal.frontiersin.org

Les produits de contraste à base de nanoparticules

HESAV

Les nanoparticules sont des particules nanométriques résultant fréquemment de l'association d'un métal de haut numéro atomique (or, bismuth, métal alcalino-terreux, lanthanides, etc.) et de molécules comme le polyéthylène-glycol (PEG) (Figure 5). Cette association offre l'avantage majeur de permettre de nombreuses combinaisons adaptées en fonction du type de cancer avec un temps de rémanence pouvant atteindre 20 heures tel que pour les nanoparticules à base d'or par exemple (Hainfeld et al., 2011) (Tableau 1). Aussi, la capsule de PEG permet aux nanoparticules de ne pas être reconnues par le système immunitaire et par conséquent de ne pas être éliminées prématurément (Li et al., 2014).



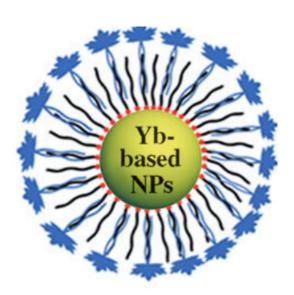


Figure 5 : Composition d'une nanoparticule d'Ytterbium (lanthanide). Tiré de Liu et al. (2012).

L'utilisation des nanoparticules est polyvalente du fait de leur capacité d'adaptation et de leur pouvoir de biocompatibilité, c'est-à-dire leur capacité à être tolérée par l'organisme sans causer d'effets indésirables (Li et al., 2014 ; Liu et al. 2012). Les nanoparticules peuvent s'associer avec beaucoup d'autres molécules offrant une possibilité de ciblage spécifique aux organes (Li et al., 2014 ; Lee et al., 2013 ; Lusic & Grinstaff, 2013). De plus, les métaux de haut numéro atomique possèdent une densité plus élevée que celle de l'iode, leur conférant un pouvoir de rehaussement plus important à concentration équivalente (Hainfeld et al., 2011 ; Lee et al., 2013 ; Lusic & Grinstaff, 2013).

Les nanoparticules à base d'or se distinguent des autres produits de contraste précliniques par une plus grande sensibilité à l'effet EPR (Hainfeld et al., 2004) ainsi que par leur capacité de radiosensibilisation. En effet, les matériaux de haut numéro atomiques sont davantage sujets à l'effet photoélectrique qui produira par conséquent plus d'électrons de basses énergies à l'origine du dépôt de la dose dans les tissus (Jeremic, Aguerri & Filipovic, 2013)

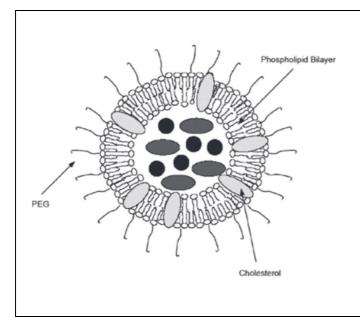
Les produits de contraste à base de liposomes

Pour les produits de contraste à base de liposomes (Figure 6), le noyau des molécules est composé d'un agent iodé hydrosoluble entouré d'une capsule de PEG qui lui confère un fort pouvoir de rémanence vasculaire de l'ordre de 3 à 4 heures (Tableau 1). Au-delà de cette période, le processus d'élimination s'effectue par voie hépatobiliaire et non plus par voie urinaire comme c'est le cas pour les produits de contraste iodés conventionnels (Li et al., 2014 ; Lee et al., 2013).

L'utilisation des produits de contraste iodés à toxicité réduite a été étudiée pour le rehaussement de petites structures sur la base de l'imagerie en micro-CT sur des modèles murins (Mukundan et al., 2006).



Il a été démontré qu'il était possible, grâce à ces agents de contraste liposomaux, de hautement opacifier des petites structures pendant un temps prolongé et sans aucune clairance rénale ni nephrotoxicité apparentes, indiquant ainsi la faisabilité d'utilisation des produits de contraste avec l'imagerie sur micro-CT (Mukundan et al., 2006).



HESAV

Figure 6: Structure d'un liposome, tiré de Lee et al. (2013). Les liposomes sont de petits compartiments formés d'une bicouche lipidique qui encapsule un noyau aqueux (Mukundan et al., 2006). Ces molécules possèdent une importante flexibilité d'utilisation due à leur surface facilement modifiable avec diverses molécules telles que radio-isotopes, anticorps ou des molécules comme le polyéthylène-glycol (PEG).



Les produits de contraste à base de nano-émulsions

En ce qui concerne les nano-émulsions utilisées comme agent de contraste (Figure 7), le noyau est fréquemment composé de vitamine E iodée encapsulée par du PEG qui augmente la stabilité de la molécule et donc accroît son temps de circulation.

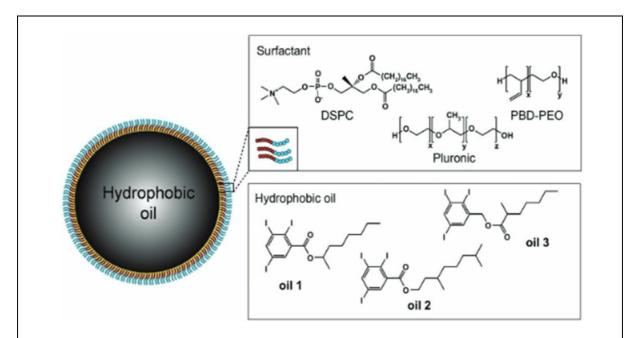


Figure 7 : Structure d'une nano-émulsion, tiré de Lee et al. (2013). Les nano-émulsions sont des molécules composées d'une monocouche solide lipidique qui enveloppe un noyau liquide lipidique. On peut les apparenter aux émulsions classiques consistant au mélange de deux phases qui ne sont en principe pas miscibles.

L'avantage du noyau à base de vitamine E réside dans le fait qu'il limite la toxicité des nano-émulsions et qu'il cible une accumulation ainsi qu'une élimination hépatobiliaire. La demi-vie biologique est de l'ordre de 9 heures (Li et al., 2014 ; Lee et al., 2013) et le temps de rémanence vasculaire est de l'ordre de 3 heures (Tableau 1).

Un agent de contraste à base de nano-émulsion permet un rehaussement prolongé du foie en micro-CT sans toxicité avérée et offre une possibilité d'utilisation économique pour des tests précliniques (Li et al., 2012).





Pour ce travail de Bachelor, l'étude portera sur deux types d'organes différents, le foie et le poumon. Ainsi, il est nécessaire d'utiliser des produits de contraste adaptés à l'organe imagé. Parmi les nouveaux produits de contraste existants, le choix s'est porté sur un produit à base de nanoparticules de métal alcalino-terreux (ExiTronTM nano 6000; Miltenyi Biotec, Bergisch-Gladbach, Allemagne: Annexe I) pour l'étude hépatique. Le choix se justifie par la forte spécificité d'accumulation du produit de contraste dans le foie, de son pouvoir de rehaussement prolongé plus important que celui engendré par certains autres produits commercialisés (Mannheim et al., 2016; Boll et al., 2013: Annexe I) et de sa taille (100 nm) lui conférant la capacité de ne pas être éliminé par filtration glomérulaire mais uniquement par élimination hépatobiliaire. Il s'agit d'un avantage quant aux problèmes de nephrotoxicité que possèdent les produits de contraste iodés (Li et al., 2014).

Concernant l'étude pulmonaire, il a été choisi d'utiliser un produit de contraste similaire à celui utilisé pour l'étude du foie mais avec une concentration en métal alcalino-terreux deux fois plus élevée (ExiTronTM nano 12000; Miltenyi Biotec, Bergisch-Gladbach, Allemagne: Annexe I), afin d'atteindre une haute résolution angiographique, grâce à sa composition optimisée.

Buts de l'étude

L'utilisation des produits de contraste récemment développés a principalement été étudiée en micro-CT sur des modèles murins (Boll et al., 2011 ; Lalwani et al., 2013). La question se pose quant à l'application de nouveaux produits de contraste en IGRT et, *in fine*, chez l'homme. Ainsi, notre étude comporte différents buts : d'une part, évaluer la faisabilité d'utilisation en IGRT de nouveaux agents de contraste à long temps de résidence dans les tissus de souris et d'autre part optimiser l'utilisation de ces produits de contraste pour l'imagerie du foie et du poumon. Pour cela, il s'agit de déterminer la faisabilité de l'utilisation de ces produits de contraste, d'étudier leur biocinétique ainsi que de déterminer le temps d'imagerie post-injection optimal en regard de la qualité d'image.





Si ce travail s'avère concluant, il ouvrira potentiellement de nouvelles perspectives de recherche comme par exemple sur l'optimisation des plans de traitement actuels.

En effet, les techniques d'irradiation stéréotaxiques (Stereotactic Body Radiation Therapy, SBRT) sont de plus en plus utilisées en tant que technique d'irradiation non-invasive, sûre et efficace pour l'ablation de tumeurs non-opérables comme cela peut être le cas dans certains cancers hépatique (Kirichenko et al., 2015) ou pulmonaires (Ceniceros et al., 2015). Elles sont également employées pour les traitements palliatifs afin d'augmenter la qualité de vie des patients (Braam, Lambin & Bussink, 2016). Il s'agit donc d'une modalité nécessitant une grande précision de traitement en raison des fortes doses administrées en une fraction unique. Ainsi, cela demande une imagerie de bonne qualité tant pour la planification que pour le traitement.

De plus, l'utilisation de nouveaux produits de contraste en IGRT sur des petits animaux permettrait, par exemple, de réaliser des études visant à prévenir les effets néfastes dus au traitement (ex : phénomène de fibrose (Bentzen, 2006)) et une meilleure compréhension des mécanismes positifs qu'engendrent les rayonnements sur le système immunitaire (Formenti & Demaria, 2009, 2013 ; Schaue, Ratikan, Iwamoto & McBride, 2012).

Notre étude est importante pour le technicien en radiologie médicale (TRM) qui est présent lors de la simulation, de la planification ainsi qu'au moment du positionnement du patient sous l'accélérateur. Le TRM est garant d'une qualité d'image suffisamment bonne pour permettre la plus grande précision possible lors de la phase de planification. Au moment de cette dernière, la précision du contourage dépend fortement de la qualité de l'imagerie acquise au CT-dédié. Par extension, la dosimétrie est directement liée à la finesse de la délinéation des volumes cibles.

En qualité d'expert en radioprotection, le travail du TRM doit permettre de définir une dosimétrie optimale. En tant que promoteur de la santé, il doit pouvoir limiter au maximum les effets secondaires dus à l'irradiation en agissant de la meilleure façon possible sur le contrôle tumoral qui dépend en outre de la qualité de l'IGRT puis, à terme, du traitement. La compréhension des bases de la recherche actuelle permettra au TRM de demain de mieux comprendre les enjeux pour sa pratique, d'évoluer ainsi que de contribuer à l'évolution du domaine de la radiothérapie.





Considérations éthiques

Ce travail de Bachelor est effectué au sein du laboratoire de recherche de radiobiologie du CHUV, sous la direction et le contrôle du Dr. Marie-Catherine Vozenin et de Mr. Benoît Petit, selon les pratiques éthiques en vigueur dans le canton de Vaud. Ces expériences font partie des protocoles suivant Foie : VD 2959 ; poumon : VD 2704.

Modèles d'études

Des souris de type C57BL6 (BL pour « black », Figure 8) ont été utilisées pour les expérimentations sur le foie et les poumons. Ces souris découlent d'une lignée de souris sauvages (Wild Type, WT). Elles sont principalement utilisées comme modèle physiologique et pathologique pour les expérimentations in vivo (Labome, 2015).



Figure 8 : Souris C57BL6. Repéré à http://janvier-labs.com.

Anesthésie

Afin de pouvoir réaliser l'injection de produit de contraste ainsi que l'imagerie par CBCT, les souris ont été soumises à une anesthésie par ventilation d'Isoflurane 1-5% avant le début de chaque expérience. L'anesthésie a été maintenue durant les acquisitions. Pour limiter les effets toxiques de l'anesthésie (refroidissement corporel), elle doit rester de l'ordre de l'heure.





Foie

Pour l'étude hépatique, un volume de $100 \,\mu\text{l}/25g$ de poids de souris de produit de contraste (ExiTronTM nano 6000), a été administré. Il est similaire au volume utilisé par Boll et al. (2011) et recommandé par l'Institutional Animal Care and Use Committee de l'Université du Michigan (2013: Annexe II). L'injection a été réalisée par voie intraveineuse retro-orbitaire en une injection unique au temps T = Injection, juste avant les acquisitions CBCT pour 5 souris sur 6. Pour une des souris, une tentative d'injection dans une veine de la queue a été effectuée sans succès.

La réalisation des images radiologiques des souris a été effectuée au moyen d'un appareil de traitement de précision par émissions de rayons X guidée par l'image. Il s'agit d'un modèle d'irradiateur X-Rad 225Cx (Figure 9) de la société PXI dans lequel les souris sont positionnées sur un support horizontal en procubitus. L'imagerie de planification et de contrôle est effectuée à l'aide du CBCT embarqué de l'appareil. Les acquisitions effectuées au moyen du CBCT ont été paramétrées de la manière suivante : 360° de rotation sur 60 secondes, 40 kV, 3 mA, reconstruction en temps réel du volume acquis en coupes de 0,1 mm d'épaisseur. Puis une seconde série d'acquisition identique mais à 80 kV et 1.5 mA.



Figure 9: Irradiateur X-Rad 225Cx.

Repéré à http://medicalphysicsweb.org/cws/article/research/52713

Ainsi, afin de déterminer à quel temps est obtenue l'image optimale, trois lots de deux souris ont été imagés à des temps différents déterminés sur la base de l'étude de Boll et al. (2011) qui ont utilisé le même produit de contraste sur le même organe mais avec un micro-CT. Le premier lot a été imagé avant-injection dans le but d'avoir une base de comparaison sans produit de contraste (Référence), puis à 2h et 4h post-injection (p.i.), le deuxième lot directement après injection (0min p.i.), à 1h, 8h, 4j, 9j et 40j p.i. et le dernier à 30min p.i. (Figure 10). Le but étant de pouvoir imager à la fois la phase vasculaire ainsi que l'accumulation dans le foie.

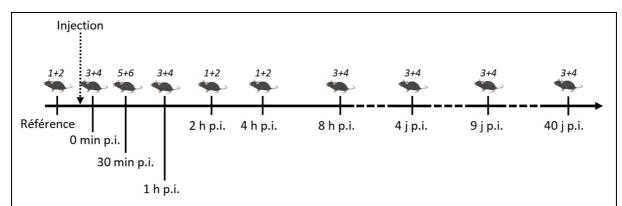


Figure 10 : Schématisation du protocole d'acquisition pour l'étude biocinétique du produit de contraste hépatique sur souris saines. Les chiffres indiquent le numéro des souris imagées au temps donné.

Poumon

HESA\

L'étude portant sur le poumon a consisté à effectuer des acquisitions d'images tomodensitométriques avec injection de produit de contraste (ExiTronTM nano 12000). Deux souris saines ont été injectées avec un volume de $100 \,\mu\text{l}/25g$ de poids de souris, tel qu'utilisé par Lalwani et al. (2013) et recommandé par l'Institutional Animal Care and Use Committee de l'Université du Michigan (2013: Annexe II). L'injection a été réalisée par voie intraveineuse retro-orbitaire en une injection unique au temps T = Injection, juste avant les acquisitions CBCT.

Les deux souris ont été imagées avant injection (Référence) puis directement après l'injection (0min p.i.), 15min, 60min, 2h, 4h et 24h p.i (Figure 11) afin de pouvoir imager la phase vasculaire dans son entier.

Sur la base des résultats obtenus lors de l'expérience portant sur le foie, toutes les acquisitions ont été effectuées grâce au CBCT de l'irradiateur sur 360° durant 60 secondes, à 80 kV et 1.5 mA. Le volume acquis a été directement reconstruit en coupes de 0,1 mm d'épaisseur.



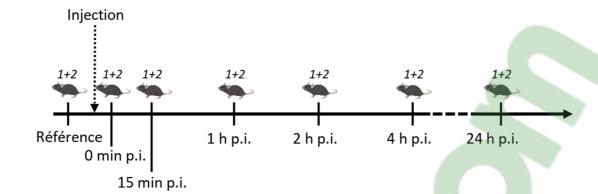


Figure 11 : Schématisation du protocole d'acquisition pour l'étude biocinétique du produit de contraste sur souris saines.

Détermination de la biocinétique du produit de contraste

Analyse visuelle

Chacune des acquisitions du foie et du poumon ont été soumises à une évaluation visuelle. Pour les deux organes, les différentes étapes de biodistribution du produit de contraste au fil du temps ont été identifiées. À partir de cette évaluation visuelle, le temps d'imagerie optimal a été déterminé.

Rehaussement

Afin d'étayer l'analyse visuelle, une méthode d'analyse quantitative a été utilisée. La biocinétique a donc été illustrée au moyen d'une représentation graphique du rehaussement des vaisseaux et des organes en fonction du temps. Pour ce faire, des valeurs de contraste absolu ont été estimées sur la base de régions d'intérêt circulaires (Region Of Interest, ROI) sur chacune des acquisitions et sur une même coupe d'une acquisition à l'autre.

Pour le foie, des ROIs ont été placées au niveau de la veine cave inférieure ainsi que dans une zone homogène du parenchyme hépatique à proximité de la vésicule biliaire (Figure 12). Le rehaussement a été calculé par la différence entre la valeur des ROIs sur les acquisitions avec produit de contraste et une valeur de référence issue des images sans produit de contraste. Cette valeur de référence est obtenue par la moyenne des valeurs des ROIs effectuées sur les images des deux acquisitions sans produit de contraste (Figure 13).





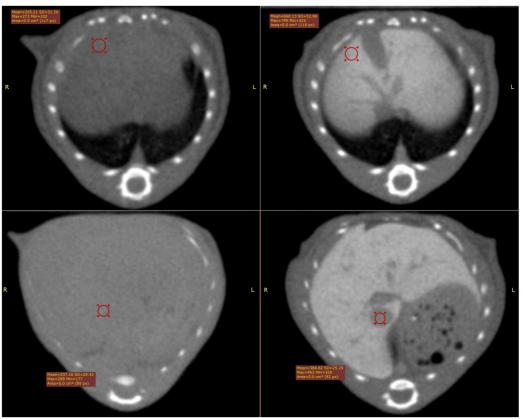


Figure 12: Placement des ROIs hépatiques (haut) et vasculaires (bas) sur les coupes axiales noninjectées (gauche) et injectées (droite).

$$Rehaussement_{(t)} = UH_{(t)} - UH_{réf}$$

$$UH_{réf} = \left(\frac{UH_{(sans\ PDC)_1} + UH_{(sans\ PDC)_2}}{2}\right)$$

- $UH_{(t)} = Valeur$ moyenne des pixels dans l'organe au temps t après injection
- UH_{réf} = Valeur de pixels de référence de l'organe
- $UH_{(sans\ PDC)1,2} = Valeur\ moyenne\ des\ pixels\ dans\ l'organe\ avant\ injection$

Figure 13: Formule du rehaussement.

En ce qui concerne le poumon, le même procédé a été utilisé. Les ROIs ont été disposées dans le ventricule gauche du cœur ainsi que dans la région la plus homogène possible du parenchyme pulmonaire droit (Figure 14).



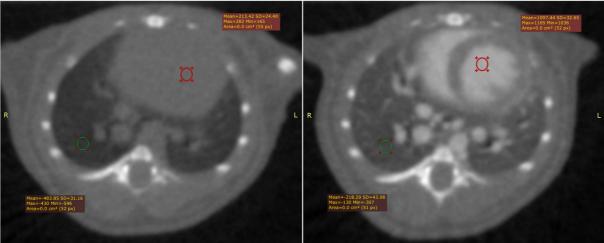


Figure 14: Placement des ROIs pulmonaires (vert) et vasculaires (rouge) sur les coupes axiales noninjectées (gauche) et injectées (droite) du thorax.

CNR

L'objectif étant de quantifier la détection du foie par rapport au reste de l'abdomen, la qualité de l'image a été évaluée quantitativement par des mesures de contraste sur bruit (Contrast to Noise Ratio, CNR : Figure 15) à l'aide de deux régions d'intérêt circulaires sur chacune des acquisitions et sur une même coupe d'une acquisition à l'autre. Pour mettre le contraste en lien avec le niveau de bruit, ce dernier a été mesuré dans les mêmes ROIs sur chacune des images. Les ROIs ont été définies de façon à présenter un contenu homogène et une taille adaptée à la structure ciblée.

Les valeurs de densité et de bruit du parenchyme hépatique ont été prises dans les mêmes ROIs. Ces valeurs ont été mises en relation avec des ROIs placées dans une région homogène de la cavité abdominale (Figure 16).

Le CNR a été calculé par le rapport du contraste (mesuré entre l'objet et le fond de l'image à côté de l'objet) sur le bruit donné par l'écart type des valeurs des pixels du fond de l'image et dans l'objet (Monnin, cours de radiophysique médicale, Volume 5 : Imagerie médicale, 2014).

$$CNR = \frac{\left| UH_{foie} - UH_{abdomen} \right|}{\sqrt{\frac{\sigma_{foie}^2 + \sigma_{abdomen}^2}{2}}}$$

Figure 15: Formule du CNR

- CNR = Rapport contraste / bruit
- UH_{organe} = Valeur moyenne des pixels dans l'organe
 - σ_{organe} = Ecart-type des valeurs pixels dans l'organe





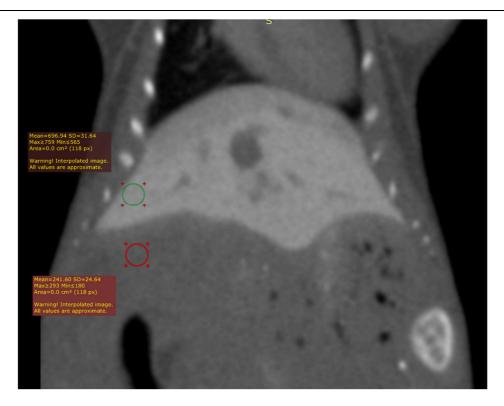


Figure 16 : Placement des ROIs hépatique (vert) et abdominale (rouge) sur les coupes coronales.

Influence des kV sur la qualité d'image

Cette étape n'a pas été effectuée pour le poumon car toutes les acquisitions ont été réalisées avec les mêmes paramètres d'exposition. Ainsi, l'influence des kV a été analysée uniquement pour l'expérience portant sur le foie. La qualité d'image a été appréciée sur des critères purement subjectifs (netteté, contraste, bruit) en comparant les images à 40 kV et à 80 kV acquises au même temps. Chaque acquisition a été visualisée dans les mêmes conditions (fenêtrage, environnement, écran).





Expérience Foie

Tolérance

Toutes les souris ont bien supporté l'injection d'ExiTron nano 6000. Aucun effet secondaire n'a été observé dans les quatre mois suivant les manipulations. Cependant, deux injections ont échoué, la première a été effectuée en paraveineux au niveau de la queue et la seconde en rétro-orbitaire où une petite quantité de produit de contraste a fui. De ce fait, la décision a été prise de ne pas considérer et analyser les données associées aux souris concernées pouvant constituer un biais. Il en résulte qu'à certains temps d'imagerie (30min p.i., 2h p.i. et 4h p.i.), une seule souris a été prise en compte.

Biocinétique de l'ExiTron nano 6000

Analyse visuelle

Les images à 40 kV et 80 kV ayant été acquises à la suite et sur les mêmes souris, la cinétique du produit de contraste est décrite en commun pour les deux types d'acquisition car elle résulte des mêmes phénomènes.

Avant injection, les structures abdominales telles que le foie, les reins, les intestins, la rate ou encore les vaisseaux ne sont pas ou très peu distinguables les uns des autres (Figure 17, A). Dès l'injection, un rehaussement vasculaire est observable grâce au passage du produit de contraste dans la veine cave inférieure (Figure 17, B). Entre 30min et 8h p.i., deux phénomènes peuvent être mis en évidence : d'une part, une diminution progressive du rehaussement vasculaire qui atteint un aspect comparable à l'image sans injection de produit de contraste et d'autre part, une accumulation du produit de contraste dans le foie ainsi que dans la rate. Le rehaussement du foie semble maximum à 8h (Figure 17, G), diminue dès 4j (Figure 17, H) et paraît se stabiliser entre 9j et 40j p.i. (Figure 17, I et J). Toutefois, il apparaît que la rate continue d'accumuler du produit de contraste au-delà de 8h, se révélant plus dense sur les images que le foie à 4j, 9j et 40j p.i. (Figures 17 et 18).





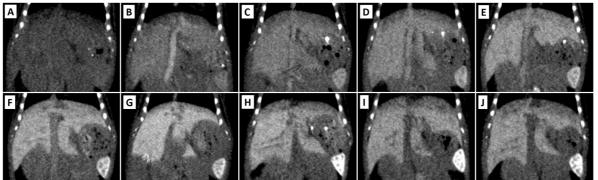


Figure 17: Biocinétique de l'ExiTron nano 6000 à 40 kV et 3 mAs. Coupes coronales native (A), lors de l'injection (B), à 30 minutes p.i. (C), 1 heure p.i. (D), 2h p.i. (E), 4h p.i. (F), 8h p.i. (G), 4j p.i. (H), 9j p.i. (I) et 40j p.i. (J).

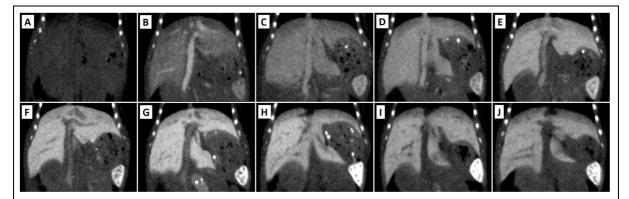


Figure 18: Biocinétique de l'ExiTron nano 6000 à 80 kV et 1,5 mAs. Coupes coronales native (A), lors de l'injection (B), à 30 minutes p.i. (C), 1 heure p.i. (D), 2h p.i. (E), 4h p.i. (F), 8h p.i. (G), 4 jours p.i. (H), 9j p.i. (I) et 40j p.i. (J).

Sur la base de la biocinétique observée, nous pouvons identifier trois phases distinctes : une phase vasculaire (Figure 19, A à E) où le produit de contraste transite directement dans les vaisseaux de la cavité abdominale jusque dans les vaisseaux hépatique. En conséquence et parallèlement à cela, nous identifions une phase parenchymateuse hépatique et splénique durant laquelle le produit de contraste quitte progressivement le réseau vasculaire pour s'accumuler dans les tissus (Figure 19, C à G). Enfin, nous pouvons remarquer une phase d'élimination hépatobiliaire. En effet, le volume de produit de contraste dans le foie diminue sans se retrouver dans le système urinaire (Figure 19, H à J).



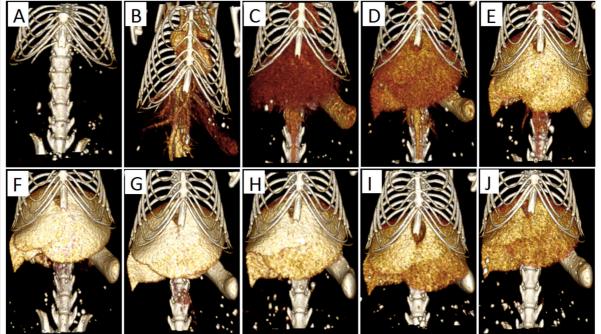


Figure 19 : Biocinétique de l'ExiTron nano 6000 à 80 kV et 1.5 mAs. Reconstructions volumiques native (A), lors de l'injection (B), à 30 minutes p.i. (C), 1 heure p.i. (D), 2h p.i. (E), 4h p.i. (F), 8h p.i. (G), 4 jours p.i. (H), 9j p.i. (I) et 40j p.i. (J).

La phase d'élimination par la rate semble toutefois décalée dans le temps en comparaison avec celle du foie. Après 40 jours, nous notons une perte de contraste nettement moindre. Ainsi, il semblerait que la biocinétique du foie et de la rate soit différente (Figures 17, 18 et 19, B à J).

Rehaussement

Avant l'injection (T = Référence), la densité des vaisseaux et du foie sont relativement similaires à 40 kV et s'élèvent à environ 30 UH (Figure 20, annexe III). Toutefois, cela n'est pas le cas à 80 kV où la valeur de ces nombres diffère à 205 UH et 290 UH (Figure 21, annexe III).

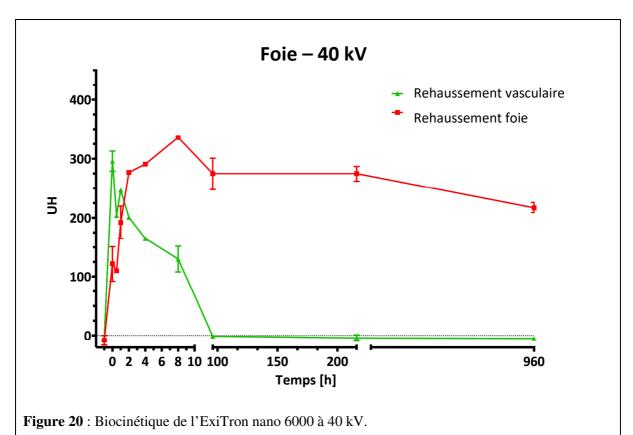
Vaisseaux hépatiques :

Directement après l'injection (T = 0), on mesure un pic de rehaussement vasculaire avec une valeur moyenne (n = 2) d'environ 300 UH à 40 kV et de 375 UH à 80 kV. Il s'en suit une diminution du rehaussement. Pour les deux tensions, le rehaussement des vaisseaux est encore mesurable jusqu'à 8h p.i. (Figure 20). Après ce temps-ci, on retrouve une valeur moyenne de rehaussement nulle à 4j, 9j et 40j p.i. pour 40 kV et 80 kV (Figures 20 et 21, annexe III).



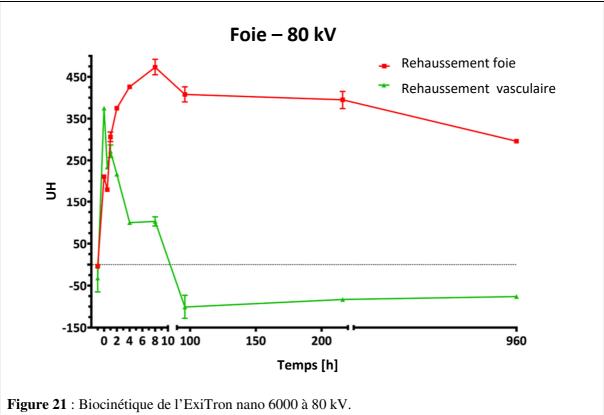


Une accumulation hépatosplénique de produit de contraste est détectable à partir de 30 min p.i.. À ce temps-là, le rehaussement hépatique atteint une valeur de 110 UH à 40 kV et 180 UH à 80 kV. Ensuite, le rehaussement croît pour atteindre son maximum 8h p.i. avec une valeur de 335 UH à 40 kV. À 80 kV, on mesure un rehaussement maximum de 470 UH 8h p.i. Nous notons ensuite une diminution du rehaussement une fois les 8h p.i. écoulées. Après ce temps-ci, les valeurs décroissent à 40 ainsi qu'à 80 kV jusqu'à 40j p.i. (Figures 20 et 21, annexe III).



22



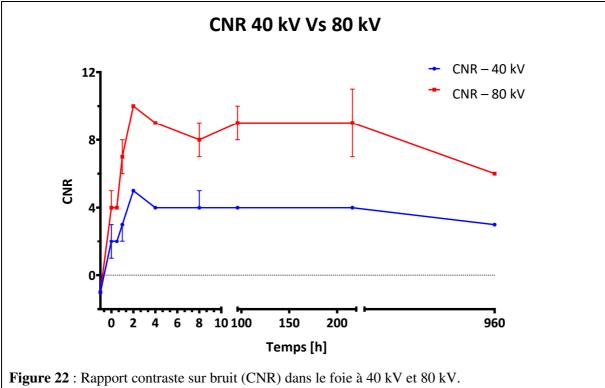


CNR

Les résultats suivants ont été obtenus suite à l'analyse quantitative ayant pour but d'objectiver la détectabilité du foie au sein de l'abdomen. Les valeurs de CNR calculées croissent jusqu'à 2h p.i. où elles atteignent leur valeur maximale (CNR = 5 à 40 kV et CNR = 10 à 80 kV ; Figure 22). Il s'ensuit une faible diminution jusqu'à environ 4h p.i. avant que les valeurs de CNR n'atteignent un plateau (CNR = 4 à 40 kV et CNR \approx 9 à 80 kV ; Figure 22) qui se poursuit jusqu'à 4j p.i. Enfin, les valeurs ont tendance à diminuer jusqu'à 40j p.i. (Figure 22, annexe 3).



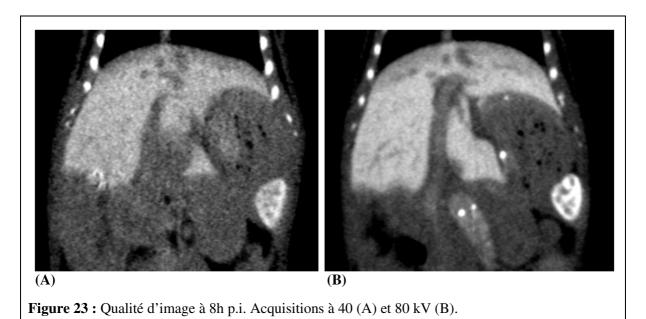




Qualité d'image

Influence des kV sur la qualité d'image

La qualité d'image apparaît visuellement supérieure à 80 kV qu'à 40 kV (Figure 23). En effet, l'acquisition à 80 kV produit des images moins granuleuses avec une netteté accrue. De plus, le contraste entre les différents organes abdominaux est également visuellement plus prononcé sur ces images-là.





Tolérance

Les deux souris utilisées pour cette étude ont également bien supporté l'injection de l'ExiTron nano 12000. Pour cette expérience, il n'y a pas eu de problème d'injection. De ce fait, les deux souris ont été utilisées à chaque temps pour l'analyse.

Analyse visuelle

Sur les images sans produit de contraste, il est difficile d'identifier correctement les structures vasculaires au sein du parenchyme pulmonaire (Figure 24, A). Seuls les gros vaisseaux et le cœur sont clairement distinguables grâce à leur contraste naturel avec les poumons. Dès l'injection (Figure 24, B), le rehaussement apparaît rapidement dans les vaisseaux et il est possible de voir même des petites structures vasculaires en périphérie des poumons. La visualisation de ces structures est possible jusqu'à 4h p.i. (Figure 24, F). Toutefois, les structures s'effacent progressivement (Figure 24, B à F) mais sans grande différence de rehaussement perceptible à l'œil nu entre l'injection et 4h p.i. À 24h (Figure 24, G), on retrouve une image comparable à l'image sans produit de contraste mais avec encore un très léger rehaussement du cœur et des gros vaisseaux. Enfin, à l'instar de l'ExiTron nano 6000 utilisé pour l'expérience du foie, l'ExiTron nano 12000 présente également une accumulation hépatosplénique graduelle s'effectuant en parallèle à la vidange des vaisseaux (Figure 24, B à G).

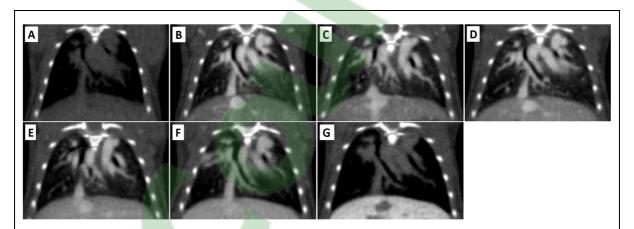


Figure 24: Biocinétique de l'ExiTron nano 12000. Coupes coronales native (A), lors de l'injection (B), à 15 minutes p.i. (C), 1 heure p.i. (D), 2h p.i. (E), 4h p.i. (F) et 24h p.i. (G), acquises à 80 kV et 1,5 mAs.

A contrario du foie, nous ne retrouvons qu'une seule et même phase vasculaire. En effet, le rehaussement des vaisseaux s'effectue rapidement dès l'injection et aucun rehaussement du parenchyme pulmonaire n'est visuellement détectable tout au long de l'expérience. Toutefois, nous constatons que l'ExiTron nano 12000, tout comme l'ExiTron nano 6000, s'accumule dans le foie.



Enfin, il semble que la meilleure visualisation des structures est possible entre 15 min et 1h p.i. car c'est dans cette fourchette de temps que l'on distingue le plus de structures vasculaires pulmonaires avec le rehaussement le plus intense (Figures 24, C et D). Néanmoins, une visualisation suffisamment détaillée reste possible jusqu'à 4h p.i. (Figures 24, F).

Rehaussement

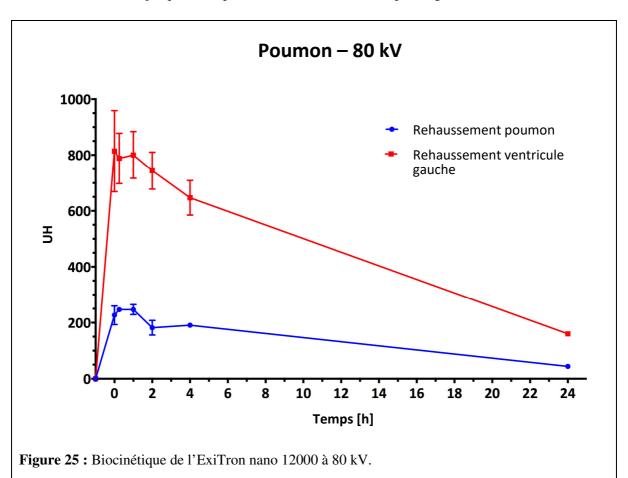
HESAV

Vaisseaux pulmonaires:

Dans le ventricule gauche du cœur, le rehaussement s'effectue directement à l'injection (T = 0) avec une valeur de 815 UH. Cela représente également le pic de rehaussement vasculaire. Ce pic de rehaussement est suivi d'un plateau à environ 790 UH s'étendant de 15min p.i. à 1h p.i.. La diminution du rehaussement débute directement après ce plateau et se poursuit à 2h p.i. avec 740 UH et atteint 650 UH 4h p.i.. Enfin, il persiste un faible rehaussement de 160 UH à 24h p.i. (Annexe IV).

Poumons:

En ce qui concerne le parenchyme pulmonaire, on peut observer un léger rehaussement relativement stable dès l'injection du produit de contraste et jusqu'à 4h p.i. d'environ 200 UH. Dès 4h, ce rehaussement diminue jusqu'à être quasiment nul (44 UH) à 24h p.i. (Figure 25, annexe IV).





De nos jours, l'évolution des protocoles de traitement en radiothérapie tend vers une augmentation des doses d'irradiation et une diminution du nombre de séances de traitement comme cela est le cas pour la radiothérapie stéréotaxique. Pour ce type de traitement, les images de planification et de contrôle doivent disposer d'une qualité suffisante, particulièrement du point de vue du contraste. Nos résultats montrent que l'ExiTron nano 6000 et 12000 sont de bonnes alternatives à l'utilisation de produits de contraste iodés pour l'imagerie tomodensitométrique et montrent leur compatibilité avec l'imagerie en CBCT. En effet, leur fort pouvoir de rehaussement ainsi que leur biocinétique permettent la visualisation de structures anatomiques durant une période prolongée. Notre étude montre que l'ExiTron nano 6000 est capable de produire un rehaussement important du foie et de la rate durant plusieurs semaines. Son utilisation permet une visualisation aisée de ces organes au sein de la cavité abdominale. Concernant l'imagerie du poumon, l'utilisation de l'ExiTron nano 12000 montre principalement un rehaussement vasculaire durable pendant plusieurs heures. Les deux produits de contraste possèdent la même biocinétique mais un pouvoir de rehaussement différent.

L'optimisation de l'imagerie CBCT permettrait d'augmenter la qualité d'image et par conséquent la visualisation des différentes structures telles que des lésions tumorales. Le rapport contraste sur bruit (Contrast to Noise Ratio, CNR) nous permet de quantifier la qualité d'image en considérant à la fois le contraste et le niveau de bruit. L'analyse des résultats obtenus montre des valeurs de CNR plus importantes à 80 kV (1.5 mA) qu'à 40 kV (3 mA). Cela s'explique par le fait que les images acquises à 80 kV disposent d'un signal plus élevé qu'à 40 kV. À 80 kV, le nombre de photon arrivant au détecteur est certainement plus élevé. Cela contribue donc à la diminution du niveau de bruit de l'image.

La tension modifie le signal des structures sur l'image en modifiant leurs unités Hounsfield. Nos résultats ont montré pour l'ExiTron nano des courbes de rehaussement inversées à 40 kV et 80 kV par rapport à nos attentes. Ainsi, le rehaussement est plus élevé à 80 kV qu'à 40 kV. L'augmentation de la tension améliore visuellement la qualité de l'image et par conséquent la lecture de l'image. En effet, les structures apparaissent avec davantage de signal et sont mieux contrastées. Cependant, la différenciation des organes abdominaux tels que le foie, la rate ou les intestins est aisément réalisable sur la base des images à 40 kV. La diminution de la tension lors de l'acquisition des images permet ainsi de réduire la dose d'irradiation à la souris.



Hormis les paramètres techniques, l'optimisation de l'imagerie CBCT peut se faire par le choix du produit de contraste utilisé. Mannheim et al. (2016), ont étudié divers produits de contraste précliniques commercialisés : l'eXIA 160 (binitio™), l'eXIA 160 XL, le Fenestra LC (MediLumine™), le Fenestra VC, l'ExiTron nano 6000 (Miltenyi BiotecTM) et l'ExiTron nano 12000. Pour le foie, leur étude a montré que l'ExiTron nano 6000 et 12000 présentent le rehaussement le plus important avec un rehaussement maximum jusqu'à 20h p.i.. En comparaison, les quatre autres agents de contraste produisent un rehaussement maximal entre 3h et 4h p.i. qui décroit rapidement jusqu'à une valeur nulle environ 50h p.i.. Concernant le système vasculaire, tous les agents de contraste étudiés génèrent un rehaussement maximum autour d'1h p.i.. Le rehaussement vasculaire produit apparaît comme persistant jusqu'à 10h p.i.. L'ExiTron nano 12000 se démarque par un rehaussement plus important suivi de l'eXIA 160 et de l'ExiTron nano 6000. Enfin, l'existence d'une relation entre le volume de produit de contraste injecté et le niveau de rehaussement a pu être établie. En effet, à volume constant (100μl/25g), l'ExiTron nano présente un pouvoir de rehaussement plus important et plus durable que tous les autres produits de contraste étudiés, indépendamment de la concentration respective des agents de contraste. En d'autres termes, pour un rehaussement équivalent, les autres produits de contraste nécessitent un volume plus important ou un plus grand nombre d'injections.

HESAV

Les résultats de notre étude sur l'imagerie du poumon sont similaires à ceux de Lalwani et al. (2013) sur micro-CT en termes de biocinétique (durée et pic de rehaussement) ainsi que d'intensité de rehaussement. Concernant l'imagerie hépatique, nos résultats sont similaires à la cinétique obtenue par Boll et al. jusqu'à 40 jours p.i.. Nous n'avons pas de résultats au-delà de cette durée mais Boll et al. décrivent un rehaussement persistant jusqu'à 206 jours. De par la concordance de nos résultats sur les 40 premiers jours suivant l'injection, nous pouvons supposer que cette durée de rehaussement serait également visible en CBCT. Cependant, notre rehaussement s'avère légèrement plus élevé que celui décrit par Boll et al. qui rapportent une valeur relative maximale de 175% alors que nous sommes à 230%.

De plus, le choix du produit de contraste est également à effectuer en fonction de l'organe à visualiser. En effet, l'ExiTron nano 12000 semble plus adapté à l'imagerie angiographique. La visualisation de structures vasculaires fines nécessite un contraste plus élevé. Quant à l'imagerie hépatique, le niveau de rehaussement produit par l'ExiTron nano 6000 est suffisant pour une visualisation optimale du foie. Toutefois, les études de Boll et al. (2011) et Mannheim et al. (2016) ont montré que l'utilisation de l'ExiTron nano 12000 est également possible en micro-CT pour l'imagerie du foie avec une biocinétique équivalente à l'ExiTron nano 6000 mais un rehaussement davantage important en raison de sa plus grande concentration. Comme les deux produits de contraste possèdent la même biocinétique, il serait possible d'utiliser l'ExiTron nano 6000 pour la visualisation de structures vasculaires, mais avec un rehaussement moins prononcé. Aussi, nous supposons que cela reste valable pour l'imagerie CBCT grâce à la concordance de nos résultats avec la littérature.

Notre étude étant basée sur des modèles sains, il est pertinent de s'intéresser à la possibilité de visualiser des lésions au sein des organes étudiés. Bien que nos résultats ne nous permettent pas de nous prononcer sur ce point concernant l'imagerie CBCT, Lalwani et al. (2013) ont montré la possibilité d'imager des lésions pulmonaire en micro-CT à l'aide d'ExiTron nano 12000. Boll et al. (2011), Fiebig et al. (2012) ainsi que Nittka et al. (2014) ont pour leur part mis en évidence des lésions hépatiques en micro-CT moyennant l'injection d'ExiTron nano 6000. La qualité d'image ainsi que le rehaussement obtenu lors de notre étude nous laisse penser qu'il serait possible de détecter des lésions hépatiques par contraste négatif et des lésions pulmonaires grâce à leur néo-vascularisation, de manière similaire aux résultats obtenus en micro-CT. Dans le cas où notre hypothèse s'avère erronée, d'autres modalités telles que l'imagerie moléculaire ou l'imagerie par résonance magnétique sont à même de permettre la visualisation de lésions hépatiques et pulmonaires. Cependant, si l'ExiTron nano permet effectivement la détection de lésions par imagerie tomodensitométrique, il pourrait s'agir d'une modalité alternative ou complémentaire aux autres.

HESAV

Dans cette optique, il est intéressant de s'interroger sur la compatibilité de nos résultats chez l'être humain et par extension avec les traitements de radiothérapie. Bien que l'utilisation de produits de contraste iodés n'interfère que très peu avec la dosimétrie (Pirault et al., 2015), il n'est pas encore possible de se prononcer pour l'ExiTron nano car cela n'a pas encore été étudié à notre connaissance. De plus, nos résultats ne sont pas directement transposables en raison de la différence de métabolisme entre l'Homme et les modèles murins.



L'ExiTron nano 6000 s'avère être un agent de contraste prometteur pour l'imagerie du foie. Quant à l'ExiTron nano 12000, il s'est révélé être adapté pour l'imagerie vasculaire des poumons. Les deux expériences ont également montré la possibilité d'utilisation de ces nouveaux produits de contraste à long temps de résidence en CBCT au moyen d'une injection unique.

La visualisation de lésions tumorales grâce à l'ExiTron nano mériterait d'être étudiée lors de futures recherches. Néanmoins, nous sommes en mesures de supposer sur la base de nos résultats que la qualité d'image en CBCT serait suffisante pour la visualisation des tumeurs. La durée de rehaussement obtenue permettrait alors un suivi de l'évolution de la taille des tumeurs.

Dans le cas où l'ExiTron nano permettrait une visualisation optimale des tumeurs, il pourrait être intéressant de déterminer si son utilisation est envisageable lors d'un traitement de radiothérapie. Pour cela, il serait nécessaire d'étudier la compatibilité de ce produit de contraste avec les systèmes de planification actuels. À notre connaissance, ce type d'étude n'a pas encore été réalisé.

Enfin, dans la mesure où les étapes précédentes aboutiraient à un résultat positif, il faudrait établir la compatibilité du produit de contraste chez l'Homme. Nos premiers résultats ne nous permettent pas de nous prononcer sur ce point-là. En effet, ils ne sont pas directement transposables chez l'être humain car son métabolisme diffère de celui des souris. Ainsi, la biocinétique (intensité et pic de rehaussement) serait certainement différente. Toutefois, la possibilité d'utiliser ces produits de contraste sur les souris reste intéressante pour les études précliniques et la recherche.



Liste de références bibliographiques

Bentzen, S. M. (2006). Preventing or reducing late side effects of radiation therapy: radiobiology meets molecular pathology. *Nature Reviews Cancer*, *6*, 702-713.

Boll, H., Nittka, S., Doyon, F., Neumaier, M., Marx, A., Kramer, M., Groden, C., Brockmann, M. A. (2011). Micro-CT Based Experimental Liver Imaging Using a Nanoparticulate Contrast Agent: A Longitudinal Study in Mice. *Journal Plos One*, 6.

Braam, P., Lambin, P., Bussink, J. (2016). Stereotactic versus conventional radiotherapy for pain reduction and quality of life in spinal metastases: study protocol for a randomized controlled trial. *Trials*, 17, 61-66.

Cazoulat, G., Lesaunier, M., Simon, A., Haigron, P., Acosta, O., Louvel, G., Lafond, C., Chajon, E., Leseur, J., de Crevoisier, R. (2011). De la radiothérapie guidée par l'image à la radiothérapie guidée par la dose. *Cancer / Radiothérapie*, *15*, 691-698.

Ceniceros, L., Aristu, J., Castrañón, E., Rolfo, C., Legaspi, J., Olarte, A., Valtueña, G., Moreno, M., Gil-Blazo, I. (2016). Stereotactic body radiotherapy (SBRT) for the treatment of inoperable stage I non-small cell lung cancer patients. *Clinical and Translational Oncology*, *18*, 259-268.

Clark, D. P., Badea, C. T. (2014). Micro-CT of rodents: State-of-the-art and future perspectives. *Physica Medica*, *30*, 619-634.

de Crevoisier, R., Louvel, G., Cazoulat, G., Leseur, J., Lafond, C., Lahbabi, K., Chira, C., Lagrange, J.-L. (2009). Radiothérapie guidée par l'image : pourquoi, comment et résultats. *Bulletin du Cancer*, *96*, 123-132.

Fiebig, T., Boll, H., Figueiredo, G., Kerl, H. U., Nittka, S., Groden, C., Kramer, M., Brockmann, M. A. (2012). Three-Dimensional *In Vivo* Imaging oft he Murine Liver: A Micro-Computed Tomography Based Anatomical Study. *Journal Plos One*, 7.

Formenti, S. C., Demaria, S. (2009). Systemic effects of local radiotherapy. *The Lancet Oncology, 10,* 718-726.

Formenti, S. C., Demaria, S. (2013). Combining Radiotherapy and Cancer Immunotherapy: A Paradigm Shift. *Journal Of the National Cancer Institute*, 105, 256-265.

Hainfeld, J. F., O'connor, M. J., Lin, P., Liu, W., Powell, R. D., Smilowitz, H. M. *Gold nanoparticle contrast agents for microCT applications*. Repéré à www.skyscan.be/company/UM2011/abstract_12.pdf

Hainfeld, J. F., Slatkin, D. N., Smilowitz, H. M. The use of gold nanoparticles to enhance radiotherapy in mice. *Physics in Medicine and Biology*, *49*, 309-315.



Jeremic, B., Aguerri, A. R., Filipovic, N. (2013). Radiosensitization by gold nanoparticles. *Clinical and Translational Oncology*, *15*, 593-601.

HESAV

Kirichenko, A., Gayou, O., Parda, D., Kudithipudi, V., Tom, K., Khan, A., Abrams, P., Szramowski, M., Oliva, J., Monga, D., Raj, M., Thai, N. (2015). Stereotactic body radiotherapy (SBRT) with or without surgery for primary and metastatic liver tumors. *Hepato-Pancreato-Biliary Journal*, *18*, 88-97.

Labome, Le monde des laboratoires. (2015). *Souris et Rats de Laboratoire*. Repéré à http://www.labome.fr/method/Laboratory-Mice-and-Rats.html

Lalwani, K., Giddabasappa, A., Li, D., Olson, P., Simmons, B., Shojaei, F., Van Arsdale, T., Christensen, J., Jackson-Fisher, A., Wong, A., Lappin, P. B., Eswaraka, J. (2013). Contrast Agents for Quantitative MicroCT of Lung Tumors in Mice. *Comparative Medicine*, *63*, 482-490.

Lee, N., Hong Choi, S., Hyeon, T. (2013). Nano-Sized CT Contrast Agents. *Advanced Materials*, 25, 2641–2660.

Li, X., Anton, N., Zuber, G., Zhao, M., Messaddeq, N., Hallouard, F., Fessi, H., Vandamme, F. T. (2012). Iodinated α-tocopherol nano-emulsions as non-toxic contrast agents for preclinical X-ray imaging. *Biomaterials*, *34*, 481-491.

Li, X., Anton, N., Zuber, Guy., Vandamme, T. (2014). Contrast agents for preclinical targeted X-ray imaging. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 76, 116-133.

Liu, Y., Ai, K., Liu, J., Yuan, Q., He, Y., Lu, L. (2012). A High-Performance Ytterbium-Based Nanoparticulate Contrast Agent for In Vivo X-Ray Computed Tomography Imaging. *Angewandte Chemie International Edition*, *51*, 1437-1442.

Louvel, G., Cazoulat, G., Chajon, E., Le Maître, A., Simon, A., Henry, O., Bensadoun, R. J., de Crevoisier, R. (2012). Radiothérapie guidée par l'image et adaptative. *Cancer / Radiothérapie*, 16, 423-429.

Lusic, H., Grinstaff, M. W. (2013). X-Ray Computed Tomography Contrast Agents. *Chemical Reviews*, 113, 1641-1666.

Mannheim, J. G., Schlichthaerle, S., Kuebler, L., Quintanilla-Martinez, L., Kohlhofer, U., Kneilling, M., Pichler, B. J. (2016). Comparison of small animal CT contrast agents. *Contrast Media & Molecular Imaging*.

Miltenyi Biotec Inc. (2010). *ExiTron* TM nano 6000. CT contrast agent for pre-clinical imaging. Repéré à http://www.miltenyibiotec.com/~/media/Images/Products/Import/0001900/IM0001911.ashx

MediLumine, Inc. (2015). Fenestra® LC. Repéré à https://www.medilumine.com/products/fenestra-lc/

MediLumine, Inc. (2015). Fenestra® VC. Repéré à https://www.medilumine.com/products/fenestra-vc/

HESAV

Mukundan, S., Ghaghada, K. B., Badea, C. T., Kao, C.-Y., Hedlund, L. W., Provenzale, J. M., Allan Johnson, G., Chen, E., Bellamkonda, R. V., Annapragada, A. (2006). A Liposomal Nanoscale Contrast Agent for Preclinical CT in Mice. *American Journal of Roentgenelogy*, 186, 300-307.

Nanoprobes, Inc. (2011). *AuroVistTM-15 nm. Product Information and Instructions*. Repéré à http://www.nanoprobes.com/instructions/Inf1115-AuroVist-II-15-nm-Instructions.pdf

Nebuloni, L., Kuhn, G. A., Müller, R., (2013). A Comparative Analysis of Water-Soluble and Blood-Pool Contrast Agents for in vivo Vascular Imaging with Micro-CT. *Academic Radiology*, 20, 1247-1255.

Nittka, S., Krueger, M. A., Shively, J. E., Boll, H., Brockmann, M. A., Doyon, F., Pichler, J. B., Neumaier, M. (2014). Radioimmunoimaging of Liver Metastases with PET Using a ⁶⁴Cu-Labeled CEA Antibody in Transgenic Mice. *Journal Plos One*, *9*.

Office Fédéral de la Santé Publique (OFSP). (2013). Rapport final sur les audits en radio-oncologie. Repéré à http://www.bag.admin.ch/themen/strahlung/10463/index.html?lang=fr

O'Neill, K., Lyons, S. K., Gallagher, W. M., Curran, K. M., Byrne, A. T. (2010). Bioluminescent imaging: a critical tool in pre-clinical oncology research. *Journal of Pathology*, 220, 317-327.

Pirault, N., Boisselier, P., Bedos, L., Molinier, J., Morel, A., Siméon, S., Aillères, N., Azria, D., Fenoglietto, P. (2015). Influence de l'injection d'un produit de contraste (Ioméron) sur la dosimétrie de la sphère ORL. *Cancer / Radiothérapie*, 19, 696.

Schaue, D., Ratikan, J. A., Iwamoto, K. S., McBride, W. H. (2012). Maximizing Tumor Immunity With Fractionated Radiation. *International Journal Of Radiation Oncology Biology Physics*, 83, 1306-1310.

Søvik, A., Rødal, J., Skogmo, H. K., Lervag, C., Eilertsen, K., Malinen, E. (2010). Adaptative radiotherapy based on contrast enhanced cone beam CT imaging. *Acta Oncologica*, 49, 972-977.

Willekens, I., Lahoutte, T., Buls, N., Vanhove, C., Deklerck, R., Bossuyt, A., de Mey, J. (2009) Time-Course of Contrast Enhancement in Spleen and Liver with Exia 160, Fenestra LC, and VC. *Molecular Imaging and Biology*, 11, 128-135.

Xiao, J., Zhang, H., Gon, Y., Fu, Y., Tang, B., Wang, S., Jiang, Q., Li, P. (2010). Feasibility of using intravenous contrast-enhanced computed tomography (CT) scans in lung cancer treatment planning, *Radiotherapy and Oncology*, *96*, 73-77.





Figure 1: Centre d'Oncologie et Radiothérapie du parc (2015). Repéré à http://oncoradiothparc.fr/plateau-technique/technologies/

Figure 2: DOSE: Dosimetry Online Supplemental Education (2013). Repéré à http://titan.radonc.unc.edu/dose/aud41.lesson.tumor.01.html?all=1

Figure 3: de Crevoisier, R., Louvel, G., Cazoulat, G., Leseur, J., Lafond, C., Lahbabi, K., Chira, C., Lagrange, J.-L. (2009). Radiothérapie guidée par l'image : pourquoi, comment et résultats. *Bulletin du Cancer*, 96, 123-132.

Figure 4: Jhaveri, A. M., Torchilin, V. P. (2014). Multifunctional polymeric micelles for delivery of drugs and siRNA. *Frontiers in pharmacology*, *5*, 1-26. Repéré à http://journal.frontiersin.org/article/10.3389/fphar.2014.00077/full

Figure 5: Nanoprobes, Inc. (2015). Repéré à http://www.nanoprobes.com/Images/ImgGold_Fig1.jpg

Figure 6: Lee, N., Hong Choi, S., Hyeon, T. (2013). Nano-Sized CT Contrast Agents. *Advanced Materials*, 25, 2641–2660

Figure 7: Lee, N., Hong Choi, S., Hyeon, T. (2013). Nano-Sized CT Contrast Agents. *Advanced Materials*, 25, 2641–2660

Figure 8: Janvier Labs (2015). Repéré à http://www.janvier-labs.com/par-especes/souris-consanguines/product/c57bl6jrj.html

Figure 9: Medical Physics Web (2013). Repéré à http://medicalphysicsweb.org/cws/article/research/52713





Annexe I	Tableau argumentatif des choix de produits de contraste
Annexe II	Extrait du Michigan State University Institutional Animal Care and Use Committee
Annexe III	Tableau récapitulatif des données pour l'expérience portant sur le foie
Annexe IV	Tableau récapitulatif des données pour l'expérience portant sur le poumon





	Produit de contraste		Avantages	Inconvénients
Produits de contraste iodés utilisés en clinique (Ioméron, Omnipaque, Isovue,)	s en clinique (Ioméron, Omnipa	ıque, Isovue,)	- Disponibilité	Diffusent rapidement hors du système circulatoire Elimination rénale avec clairance de l'ordre de quelques secondes Temps d'imagerie très limité Nephrotoxicité
Liposomes (Li et al., 2014 ; Lee et al.	st al., 2013)		- Temps de rémanence vasculaire accu à plusieurs heures - Possibilité d'imagerie prolongée - Elimination hépatique - Absence de nephrotoxicité	Pas disponibles sur le marché Nécessitent d'être synthétisés en laboratoire
Nano-émulsions (Li et al., 2014; Lee	. Lee et al., 2013)			
Fenestra LC	Fenestra VC	ExiTron nano		
Très spécifique au foie (www.medilumine.com) Injections répétées nécessaire pour Rémanence vasculaire plus atteindre un rehaussement de durée grande que Fenestra LC (www.medilumine.com) (Boll et al., 2013) Prix : 12 doses = 394 USD Nanoparticules d'or (Li et al., 2014; Lee et al., 2013) AuroVist AuroVist AuroVist AuroVist Prix : 5 doses = 1221 USD	Rémanence vasculaire plus grande que Fenestra LC (www.medilumine.com) Prix: 12 doses = 405 USD 114; Lee et al., 2013) ist te l'iode à concentration)	Meilleur rehaussement que Fenestra (Boll et al., 2013) Possible rehaussement prolongé par injection unique Spécifique au foie (www.miltenyibiotec.com) Prix: 5 doses = 284 USD Mvivo Au Mrivo Au	Temps de rémanence vasculaire accn à plusieurs heures Possibilité d'imagerie prolongée Très faible toxicité Accumulation hépatique Elimination hépatique Absence de nephrotoxicité Possibilité d'imagerie prolongée Ciblage tumorale passif grâce à une sensibilité particulière à l' « EPR effect » Stable et polyvalent, possibilité de ciblage spécifique selon le marquage Elimination hépatique Bibmination hépatique Absence de nephrotoxicité	Peut ne pas bien être supporté par la souris (rarement)

 $Annexe\ I$: Tableau argumentatif des choix de produits de contraste.



DRUGS AND/OR AGENTS

The drugs that are listed below MUST also be listed in the relevant AUF

Drugs that are not pharmaceutical grade should be identified as such. The use of non-pharmaceutical grade compounds must be scientifically justified. In addition, if non-pharmaceutical grade compounds are to be used the PI should take precautions to maintain aseptic conditions and the drugs should be:

- of the highest purity available
- adjusted to ensure a pH level as close to neutrality as possible
- constituted in a sterile solution for administration to the animal
- kept in a sterile, sealed container after constitution for a limited period of time
- administered with sterile syringes

A1. List all drugs and/or agents that will be given to animals that will be used for this SOP. A permanent record of drug names, dosages, routes of administration, dates (times where appropriate) of administration, and initials of the person administering the drug must be maintained See "Surgical / Anesthetic Recordkeeping for Animals Used in Research and/or Teaching" at http://www.iacuc.msu.edu/policies and guidelines/IG007.pdf

Anesthetics, Analgesics: Pre-operative and post-operative analgesia is required. Post-surgical analgesia is required for: **24 hours for minor surgical procedures** such as placement of subcutaneous pumps, surgical implantation of catheters or castration; **48 hours for major surgery** such as opening an abdominal cavity; **72 hours for potentially very painful procedures** such as extensive orthopedic surgery, burns, thoracic surgery. If providing this will adversely affect your study, or if analgesia cannot be given at all, please give a scientific justification below.

4		Fill in bo	th columns			duratio n of
if not pharmaceutical grade	drug name(s) (generic only)	volume	route of administration	frequency of administration	treatm ent (# of days or hours)	
	Isoflurane	1-5%	In oxygen	inhale	constant	1 hour
	AuroVist (15nm)	100 μL /25 g	200 mg iodine/mL	Retro-Orbital and Tail Vein	Once per Scan	Once
	ExiTron nano 1200	100 μL/25g	1200 mg iodine/kg	Retro-Orbital and Tail Vein	Once per Scan	Once
	ExiTron nano 6000	100 μL/25g	640 mg iodine/kg	Tail Vein	Once per Scan	Once
	Visipaque 320	500 μL/25g	83–105 mg iodine/mL	Retro-Orbital and Tail Vein	Once per Scan	Once



	Omnipaque 300	300 μL/25g	300 mg iodine/mL	Tail Vein	Once per Scan	Once
	Isovue® 370	100 μL/1hr	370 mg iodine /mL	Tail Vein	Once per Scan	Once
	eXIA 160XL	150 μL/25g	160 mg iodine/mL	Tail Vein	Once per Scan	Once
	Fenestra™ VC	125 μL/25g	50 mg iodine/mL,	Tail Vein	Once per Scan	Once
	Fenestra™ LC	500 μL/25g	50 mg iodine/mL,	Tail Vein	Once per Scan	Once
Non-pharma grade	Polymer encapsulated Bismuth nanoparticles	500 μL/25g	50 mg Bi/mL	Retro-Orbital and Tail Vein	Once per Scan	Once

Justify use of Non-pharmaceutical grade compounds:

Polymer encapsulated Bismuth nanoparticles are being fabricated in the Shapiro laboratory and have the potential for clinical utility in CT. These will be made available to the research community at MSU but are non-pharma grade. They are reconstituted in sterile media and will be administered using sterile syringes.

Ple	ase indicat	e any	y non-ph	arma	colog	gic	agents to b	e us	sed to alleviate p	ain	and	distress		
X	Warming Pad		Fluid replacen	nent	X	Н	iding places	Х			Blankets			
	Other (Pleas	se spe	ecify):											
A2.	Para	alytics	s associa	ated v	vith t	his	SOP							
	drug nam	,			ages		route of administration	on	frequency of dosages	duration of treatment (# of days or ho				
Coio	ntifically ive	~+:f、, ,	<u> </u>	nood	to		a paralitici							
Scie	nuncany jus	sury v	wriy you	need	เบ นร	se	a paralytic:							

Annexe II : Extrait du Michigan State University Institutional Animal Care and Use Committee, STANDARD OPERATING PROCEDURE FORM (2013). Repéré à research.rad.msu.edu/_forms/CTSOPapproved.doc



								_	_	_	_	_	_	_	_	_	_	_	_	_									
	Moyenne CNR foie/abdomen	,	-1		4		4	٢	,	ç	TO	c	y	o	×o	·	6	ď	2	4	0								
	CNR Moyenne CNR foie/abdomen	-1	0	4	5	0	4	8	9	8	10	9	6	6	7	8	10	11	7	6	9								
mA	Moyenne rehaussement VCI [UH]	,	-32	32.0	3/5	100	724	יבני	7//7		717	100	700	103	103	101	-101	60	-02	92	-/0								
80 kV / 1.5 mA	Rehaussement veine cave inférieure [UH]	-65	0	375	375	-65	234	287	257	184	217	125	100	114	92	-73	-128	-80	-85	-72	-81								
8	Moyenne rehaussement foie [UH]		-4		717	180	180	300	300	250	3/3	368	470	473	4/3	900	400	300	333	300	230								
	Moyenne CNR Rehaussement foie foie/abdomen	-7	0	215	207	37	180	318	295	273	375	358	426	492	455	426	390	415	374	297	295								
	Moyenne CNR foie/abdomen	,	1.	,	7	,	7	·	°.	ı	C		4	,	4		+	,	+	·	2								
	CNR foie/abdomen	-1	0	3	1	0	2	3	2	3	5	3	4	4	5	4	4	4	4	3	3			9h59 (T216h)	9h49 (T216h)		13h45 (T4h)	13h53 T(4h)	
mA	Moyenne rehaussement VCI [UH]		†	500	967	200	507	247	747	****	707	176	COT	120	130	,	7	·	ŧ	u	?			9h34 (T96h)	9h41 (T96h)		13h45	13h53	
40 kV / 3 mA	Rehaussement veine cave inférieure [UH]	6-	0	279	313	15	204	247	248	185	201	154	165	152	108	3	-5	1	6-	-5	9-		Heures d'acquisition	17h39 (T8h)	17h29 (T8h)	9h53 (T0,5h)	.zh)	.2h)	10h01 (T0,5h)
	40 Moyenne Reh rehaussement foie v		-۵	***************************************	777	710	TTO	103	761	T.C.	117	200	167	336	330	350	6/7	320	617	740	/17		Heures	10h46 (T1h)	10h33 (T1h)	946	11h50 (T2h)	11h57 (T2h)	10h
	Rehaussement foie [UH]	-16	0	151	92	33	110	220	165	225	777	214	291	335	337	301	248	287	262	226	209			9h52 (T0h)	9h30 (T0h)		9h18 (T-1h)	9h25 (T-1h)	
	Temps p.i. [h]	-1	-1	0	0	0.5	0.5	1	1	2	2	4	4	8	8	96	96	216	216	096	096		Heure d'injection	9h52	9h30	9h18	9h41	9h42	9h25
	ID Souris	MCV2649	MCV2670	MCV2591	MCV2592	MCV2648	MCV2671	MCV2591	MCV2592	MCV2649	MCV2670	MCV2649	MCV2670	MCV2591	MCV2592	MCV2591	MCV2592	MCV2591	MCV2592	MCV2591	MCV2592	1	\neg	MCV2591	MCV2592	MCV2648	MCV2649	MCV2670	MCV2671
																						_							

Annexe III : Tableau récapitulatif des données pour l'expérience portant sur le foie. Les données en rouges sont liées aux souris pour lesquelles un problème d'injection s'est produit.



																	13h49 (T4h) 9h49 (T24h)	13h57 (T4h) 9h56 (T24h)
	Moyenne Rehaussement cœur [UH]	٥	0	V 10	014	882	/00	008	900	VVL	/44	243	047	091	100	uisition	11h45 (T2h)	11h57 (T2h)
	Rehaussement cœur [UH]	0	0	626	699	878	869	884	717	810	678	709	585	164	156	Heures d'acquisition	10h47 (T1h)	10h57 (T1h)
80 kV / 1.5 mA	Moyenne rehaussement poumon [UH]	·	0	200	177	LVC	747	LVC	747	193	707	101	121	77	444		10h02 (T0.25h)	10h12 (T0.25h)
80 kV /	Rehaussement poumon [UH]	0	0	260	193	251	243	265	229	208	156	194	188	48	40		9h44 (T0h)	9h57 (T0h)
	Temps p.i. [h]	-1	-1	0	0	0.25	0.25	1	1	2	2	4	4	24	24	Heure d'injection	9h44	9h57
	ID Souris	MCV2648	MCV2649	ID Souris	MCV2649	MCV2648												

Annexe IV: Tableau récapitulatif des données pour l'expérience portant sur le poumon.

