



HAL
open science

Imagerie et Spectroscopie par Résonance Magnétique appliquées à l'étude du petit animal

Laurent Lemaire

► **To cite this version:**

Laurent Lemaire. Imagerie et Spectroscopie par Résonance Magnétique appliquées à l'étude du petit animal. Ingénierie biomédicale. Université d'Angers, 2003. tel-00129097

HAL Id: tel-00129097

<https://theses.hal.science/tel-00129097>

Submitted on 5 Feb 2007

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

UNIVERSITE D'ANGERS

Habilitation à Diriger des Recherches

Spécialité génie Biologique et médical

Imagerie et Spectroscopie par Résonance Magnétique appliquées à l'étude du petit animal

Présentée par

Laurent LEMAIRE

Date de soutenance : 17 décembre 2003

Membres du jury :

Pr BENDERBOUS Soraya, Université Tours

Pr COZZONE Patrick, Université Aix-Marseille II

Pr LE JEUNE Jean-Jacques, Université Angers

Pr AKOKA Serge, Université Nantes

Pr JALLET Pierre, Université Angers

Pr SEGUIN François, Université Poitiers

Année universitaire 2003/ 2004

REMERCIEMENTS

C'est avec fierté que j'ai reçu vos réponses positives à ma sollicitation à juger ce travail. Que vous, Madame et Messieurs les membres du jury, soyez donc assurés de ma plus profonde reconnaissance.

Plus je tente de me souvenir de tous les amis, collègues ou relations à qui je veux exprimer ma reconnaissance, plus je m'aperçois que la liste est longue et les oublis inévitables. Néanmoins, que vous collègues et amis Toulousains, Londoniens, Marseillais, Nantais et Angevins soyez remerciés.

Enfin, je remercie affectueusement mes parents, mes deux 'crushers' Adrien et Léo, et bien sûr Florence sans qui bien peu de choses auraient une telle saveur.

TABLE DES MATIERES

1. FICHE SIGNALÉTIQUE SUCCINCTE.....	2
2. INTRODUCTION.....	3
3. ACTIVITES D'ENSEIGNEMENT	5
4. PARTICIPATION A L'ENCADREMENT D'ETUDIANTS	6
5. ACTIVITES DE RECHERCHE	7
5.1. Métabolisme, cardiotoxicité et activité antitumorale du 5-fluorouracile.....	8
5.1.1. <i>Cardiotoxicité du 5-fluorouracile (1989-1993)</i>	<i>9</i>
5.1.2. <i>Activité antitumorale du 5-fluorouracile sur un modèle de tumeurs mammaires chimiquement induites chez le rat (1995-1996)</i>	<i>11</i>
5.1.3. <i>Efficacité thérapeutique de microsphères de 5-fluorouracile (1998-2003).....</i>	<i>14</i>
5.2. Pathologies cérébrales : Détection, caractérisation et thérapeutiques.....	23
5.2.1. <i>Modifications morphologiques dans un modèle murin de dépression.....</i>	<i>23</i>
5.2.2. <i>Métabolisme cérébral et neuro-dégénérescence.....</i>	<i>23</i>
5.2.3. <i>Ischémie transitoire.....</i>	<i>24</i>
5.3. Agents de contrastes particuliers superparamagnétiques.....	25
5.3.1. <i>Relaxivités de différents agents de contraste de 0,47T et 7T.....</i>	<i>25</i>
5.3.2. <i>Evaluation de nanoparticule d'oxyde de fer dans un modèle de SEP</i>	<i>27</i>
5.3.3. <i>Evaluation de la viabilité myocardique dans le post-infarctus du rat à l'aide d'agents de contraste particuliers.....</i>	<i>28</i>
5.4. Développements méthodologiques.....	35
5.4.1. <i>Spectroscopie quantitative in vivo pour les petits volumes d'observation.....</i>	<i>35</i>
5.4.2. <i>Pseudo-signal RMN et mesure quantitative en IRM.....</i>	<i>37</i>
6. TRAVAUX FUTURS (2003-2007).....	38
6.1. Post-génomique et IRM.....	38
6.1.1. <i>Evolution anatomique de la souris in utero</i>	<i>38</i>
6.1.2. <i>Imagerie rénale fonctionnelle in utero.....</i>	<i>39</i>
6.2. Nanoparticules et lésion de la BHE	40
6.3. Systèmes particuliers et marquage cellulaire	41
7. CONCLUSIONS.....	43
8. CURICULUM VITAE.....	44
9. PUBLICATIONS	45
9.1. Publications.....	45
9.2. Communications.....	47
10. LISTE DES ILLUSTRATIONS	54

1. FICHE SIGNALÉTIQUE SUCCINCTE

- ⇒ né le 12 Février 1968, marié, 2 enfants
- ⇒ Docteur en Sciences, Spécialité Pharmacologie et Toxicologie (1993).
- ⇒ Lauréat du prix de recherche clinique du XIème forum de cancérologie, (Paris, 1991)
'Etude de la cardiotoxicité du 5-fluorouracile par Résonance Magnétique Nucléaire.'
- ⇒ Stage Post-doctoraux
 - 2 ans à l'Université de Londres (1994-1996).
 - 1 an à la Faculté de Médecine de Marseille (1997)
- ⇒ Professeur Contractuel de l'Université d'Angers, 1998 – 2001.
- ⇒ Ingénieur de Recherche de l'Université d'Angers, Depuis Septembre 2001.
- ⇒ Familier des techniques IRM et SRM.
- ⇒ Habilité à l'expérimentation animale.
- ⇒ Thème de recherche :
Métabolisme tumoral et cérébral – Thérapeutique – Imagerie.
- ⇒ 22 publications ; 51 communications dont 32 internationales.

2. INTRODUCTION

En 1987, j'ai eu la chance de rencontrer le Pr. P.J. Cozzone qui assurait la coordination de l'enseignement de Biophysique au sein de la maîtrise de Biochimie de la Faculté des Sciences de Marseille où il nous initiait alors aux applications de la Résonance Magnétique Nucléaire tant *in vitro* qu' *in vivo*.

Mon premier projet de recherche scientifique a été mené sous la direction du Pr. M-C. Malet-Martino (Université Paul Sabatier, Toulouse) et a fait l'objet de mon DEA (1990) et de ma thèse (1993) Par cette étude, nous avons alors mis en évidence l'origine du phénomène de cardiotoxicité associé aux chimiothérapies par le 5-fluorouracile. L'utilisation d'un modèle de cœur isolé perfusé (perfusion rétrograde selon le modèle décrit par O.Langendorff) a permis de reproduire le phénomène de cardiotoxicité observé en clinique et l'analyse, par Résonance Magnétique Nucléaire du fluor des perfusats, extraits tissulaires et solutions commerciales de 5-fluorouracile injectées nous a permis d'attribuer cette toxicité cardiaque à la métabolisation, en dérivé hautement cytotoxique, d'impuretés fluorées présentes dans les solutions commerciales injectées.

A l'issue de cette étude à l'interface de la chimie et de la pharmacologie, j'ai désiré appréhender le métabolisme du 5-fluorouracile et de son influence non plus sur le métabolisme général mais sur le métabolisme tumoral et ceci, de façon non invasive en utilisant l'Imagerie et la Spectroscopie de Résonance Magnétique. Pour ce faire, d'octobre 1994 à Novembre 1996, j'ai rejoint l'équipe du Pr. J.R. Griffiths (CRC Biomedical Magnetic Resonance Group, St Georges Hospital, London) dans le cadre du programme de recherche Européen BIOMED-I sous couvert financier 'Human Capital & Mobility' (12 mois) et de L'Association pour la Recherche contre le Cancer (12 mois). Conformément à la législation anglaise, une formation théorique et pratique m'a été dispensée (Animals Scientific Procedures, ACT 1986) pour l'obtention d'une habilitation à manipuler, anesthésier et opérer sur les principales espèces de rongeurs utilisées en recherche (Cette licence a depuis été convertie - n° habilitation 49002). Le projet a eu pour objet de déterminer *in vivo* chez le rat porteur de tumeurs chimiquement induites des paramètres d'imagerie et de spectroscopique permettant de différencier les tumeurs sensibles et les tumeurs résistantes à une chimiothérapie 5-fluorouracile.

De décembre 1996 à décembre 1997, j'ai rejoint le Centre de Résonance Magnétique Biologique et Médicale dirigé par le Pr. P.J. Cozzone (Faculté de Médecine, Marseille). Nous y avons développé une étude pré-clinique neuro-pharmacologique en partenariat avec le laboratoire Sanofi. Cette activité de recherche avait pour objet la caractérisation par Imagerie et Spectroscopie de Résonance Magnétique des modifications morpho-physiologiques et métaboliques associées à une dégénérescence des fibres cholinergiques septo-hippocampiques, le modèle utilisé étant considéré comme un modèle de la maladie d'Alzheimer.

Les 10 années qui ont séparé le début de mes activités de recherche et mon arrivée dans l'Equipe Inserm de Recherche en Innovation Technologique (ERIT-M 0104) dirigée par le Pr. J-P. Benoit (Faculté de Médecine et Pharmacie, Angers) en janvier 1998 m'ont permis

- i) de me familiariser avec les techniques d'Imagerie et de Spectroscopie de Résonance Magnétique
- ii) d'appréhender les spécificités du métabolisme tumoral et de la réponse tumorale à une chimiothérapie
- iii) d'appréhender les spécificités du métabolisme cérébral.

Les thèmes majeurs de l'ERIT-M 0104 sont la conception et le développement de vecteurs à potentialités diagnostiques et/ou thérapeutiques. J'ai très vite acquis un rôle d'animation scientifique de l'activité d'Imagerie et de Spectroscopie de Résonance Magnétique de l'équipe en collaboration avec le Dr. F. Franconi, responsable du micro/mini-imageur dont l'université d'Angers a fait l'acquisition en 1997.

Les travaux auxquels je participe entrent dans la phase d'évaluation des vecteurs développés par l'équipe et font ou ont fait l'objet de trois thèses et de quatre Diplômes d'Etudes Approfondies dont j'assume le co-encadrement.

3. ACTIVITES D'ENSEIGNEMENT

Mon expérience en enseignement est variée dans la mesure où j'ai enseigné à différents niveaux (troisième, second et premier cycle universitaires), dans différentes disciplines (Chimie et Biophysique) et sous différentes modalités (cours, travaux dirigés et travaux pratiques).

DEA "Signaux et Images en Biologie et Médecine"

Universités de Tours/Angers/Rennes. Depuis 1998

Applications de la spectroscopie hétéronucléaire en pharmacologie.

PCEM 2

UFR de Médecine - Université Angers. Depuis 2000

ED de Biophysique-IRM, 6 heures.

PCEM 1

UFR de Médecine - Université Angers, 2000/2001

ED de Biophysique des solutions, 40 heures.

Maîtrise de Biochimie

UFR de Sciences - Université Tours, 2000/2001

Cours – SRM métabolique, 8 heures.

Maîtrise de Sciences-Physiques

Département de Chimie - Université Paul Sabatier (Toulouse III). 1991/93

TP d'analyses cinétiques et mécanistiques de réactions chimiques, 48 heures.

DEUG Chimie

Département de Chimie - Université Paul Sabatier (Toulouse III). 1990/91

TP de chimie organique fondamentale, 40heures.

Au cours de mes activités d'enseignement à l'Université, j'ai été amené à participer à l'élaboration de cours et d'enseignements dirigés, à la conception et la réalisation de l'évaluation sous forme d'examen. J'assure régulièrement des séances de démonstrations de l'IRM pour les étudiants de second et troisième cycles universitaires.

4. PARTICIPATION A L'ENCADREMENT D'ETUDIANTS

DEA

Catherine Chapon - DEA Signaux et Images en Biologie et Médecine:

Etude en IRM du remodelage ventriculaire post-infarctus chez le rat, apport des produits de contraste. Université d'Angers 2000.

Vianney Piron - DEA Signaux et Images en Biologie et Médecine:

Segmentation du myocarde par modèle déformable en IRM du petit animal. Université d'Angers 2002.

Arnaud Vonarbourg - DEA Signaux et Images en Biologie et Médecine :

Caractérisation des glioblastomes C6, F98 et 9L en IRM et étude de l'efficacité de microsphères de 5-fluorouracile. Université d'Angers 2002.

Fabienne Morel : DEA Signaux et Images en Biologie et Médecine :

Evaluation de nanoparticules d'oxyde de fer dans un modèle de sclérose en plaques. Université d'Angers 2003.

Doctorat

Tristan Messenger 2000 : Etude d'un accident ischémique cérébral fonctionnel par IRM, doppler pulsé et vidéo angiométrie cérébrale.

Gaëlle Roullin 2001 : Suivi par IRM de l'efficacité thérapeutique de microsphères antitumorales chez le rat.

Catherine Chapon 2003 : Etude en IRM du remodelage ventriculaire post-infarctus chez le rat, apport des produits de contraste,.

Pierre Mowat : Etude du ciblage cellulaire par micro-Imagerie de Résonance Magnétique : Applications cancérologiques.
Université d'Angers, en cours.

5. ACTIVITES DE RECHERCHE

L'imagerie du petit animal a largement évolué au fil des 10 dernières années avec notamment le recours massif aux modèles animaux de pathologies humaines. Ce besoin d'outils pré-cliniques non invasifs a contribué et contribue toujours aux développements que nous pouvons observer en Imagerie par Résonance Magnétique, mais également en imagerie optique, acoustique ou scintigraphique. Ces développements concernent bien évidemment les machines et méthodes de mesures mais sont également perceptibles aux niveaux des agents de contraste IRM et ultrasonores ou des traceurs optiques et radiographiques, l'ensemble pouvant être regroupé sous le terme de traceur moléculaire.

Dans le domaine de l'Imagerie par Résonance Magnétique qui nous intéresse plus particulièrement, du développement des traceurs moléculaires nous excluons les modifications d'ordre hydrodynamique, qui même si elles conduisent à des spécificités biologiques parfois différentes font tout de même appel à des mécanismes largement aspécifiques. Les nouvelles générations d'agents de contraste sont en fait les produits de la biologie moléculaire et de l'identification de cibles spécifiques présentent au niveau tissulaire, cellulaire voire sub-cellulaire. En effet, nous pouvons citer par exemple les agents permettant le suivi de l'expression des gènes, ceux rendus spécifiques d'une cible par vectorisation ou encore ceux d'origine cellulaire obtenu par marquage magnétique d'un type cellulaire que nous regroupons sous la terminologie de magnétocellules. Ces trois familles d'agents de contraste vont autoriser le biologiste à traquer, de façon non-invasive, un type cellulaire, une fonction cellulaire et même les interactions cellules-cellules.

Bien que le développement de l'imagerie moléculaire soit indéniable, il est évident que l'Imagerie et de la Spectroscopie par Résonance Magnétique 'classiques' ont encore de nombreuses informations à fournir aux biologistes pour l'étude du système nerveux central, cardiovasculaire, musculaire, osseux,... pathologiques, ou non chez l'animal et l'homme.

Par ce manuscrit, je vais présenter les travaux auxquels j'ai participé dans le cadre de recherches pré-cliniques impliquant la Résonance Magnétique Nucléaire et les modèles animaux.

5.1. Métabolisme, cardiotoxicité et activité antitumorale du 5-fluorouracile

Le 5-fluorouracile qui est une fluoropyrimidine synthétisée en 1957 par Duschinsky est un exemple de synthèse rationnelle dans laquelle la substitution du proton en position 5 du cycle uracile a été opérée dans le but d'induire une mis-incorporation dans l'ARN et d'inhiber la synthèse d'ADN par blocage de la production de dérivé thymidine. En effet, la seule voie de synthèse du 2'-deoxy-thymidine mono phosphate passe par la méthylation du 2'-deoxy-uridine monophosphate sur la position 5 du noyau uracile et requière l'intervention de la thymidylate synthétase. La présence d'un atome de fluor sur cette position 5 entraîne la formation d'un complexe covalent irréversible entre le dérivé uracile, l'enzyme et le folate, cofacteur de cette réaction. La déplétion du pool des dérivés thymidine par l'inhibition de leur voie de synthèse contribue à l'activité antitumorale du 5-fluorouracile.

Toutefois, la voie anabolique qui confère au 5-fluorouracile son activité antitumorale est largement minoritaire puisque 5 à 15% du 5-fluorouracile emprunte cette voie. En effet, la majorité du 5-fluorouracile est catabolisée et retrouvée au niveau urinaire sous forme d' α -fluoro- β -alanine (FBAL).

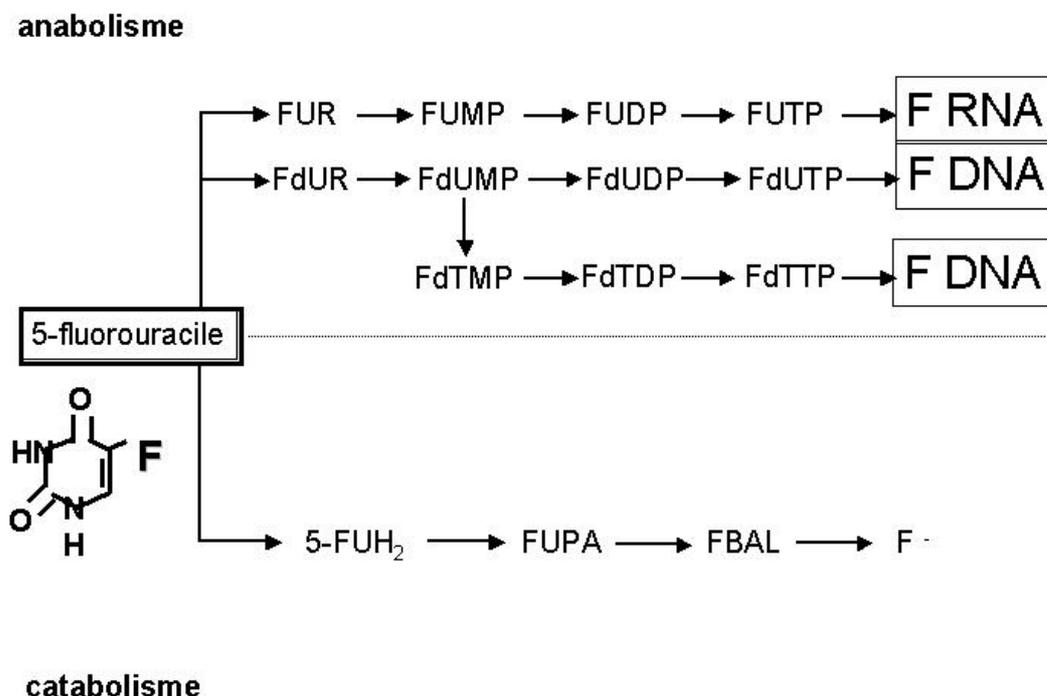


Figure 1 : Schéma des voies métaboliques du 5-fluorouracile

5.1.1. Cardiotoxicité du 5-fluorouracile (1989-1993)

Les travaux présentés dans ce paragraphe ont fait l'objet de ma thèse de doctorat dont l'objectif principal était l'élucidation du mécanisme de cardiotoxicité associé aux chimiothérapies utilisant le 5-fluorouracile, chimiothérapie caractérisée par une létalité de 1 à 2 % lorsque le principe actif était injecté à des doses supérieures à 600mg/kg/j.

Bien que jamais démontré, il était généralement admis que la biosynthèse massive d' α -fluoro- β -alanine à partir du 5-fluorouracile pouvait être à l'origine des phénomènes neuro et/ou cardiotoxiques. En effet, par analogie avec le métabolisme de la β -alanine, la production de fluoro-acétate à partir d' α -fluoro- β -alanine n'était pas à exclure.

L'utilisation d'un modèle de coeur isolé perfusé (Langendorff) a permis dans un premier temps, de reproduire le phénomène de cardiotoxicité observé en clinique. Les perfusats, extraits et solutions commerciales de xénobiotique étaient analysés par les techniques classiques de spectroscopie RMN haute résolution et d'HPLC. La mise en évidence dans les solutions commerciales de fluoroacétaldehyde (Facet) et d'acide 2-fluoro-3-hydroxypropionique (Fmasald) (provenant de la dégradation chimique du 5-fluorouracile pendant son stockage) associée à l'étude de leur métabolisme et de leur toxicité ont permis d'expliquer l'origine du phénomène de toxicité cardiaque (figure 2). Cette toxicité a été attribuée à la présence de ces impuretés et de leurs métabolites toxiques comme l'ont révélé les analyses de biofluides (Publications P1-4). L'étude des différents types de solutions commerciales de 5-fluorouracile (Trishydroxymethylamino-methane en France), NaOH avec un pH voisin de 8.5 en Allemagne, Grande-Bretagne... ou NaOH avec un pH voisin de 9.2 en Italie, USA..., a révélé que la formulation influait sur la toxicité. En effet, la dégradation du médicament est pH dépendante et peut également être catalysée par le véhicule (Publication P5). Une étude conduite en collaboration avec la société DAKOTA Pharm a permis de montrer que cette dégradation pouvait être substantiellement réduite en utilisant non plus une solution mais un lyophilisat reconstitué juste avant utilisation (Communication C16). Il est à noter qu'au 1er Janvier 1994, la formulation française a été remplacée par celle que nous avons montré être la moins toxique.

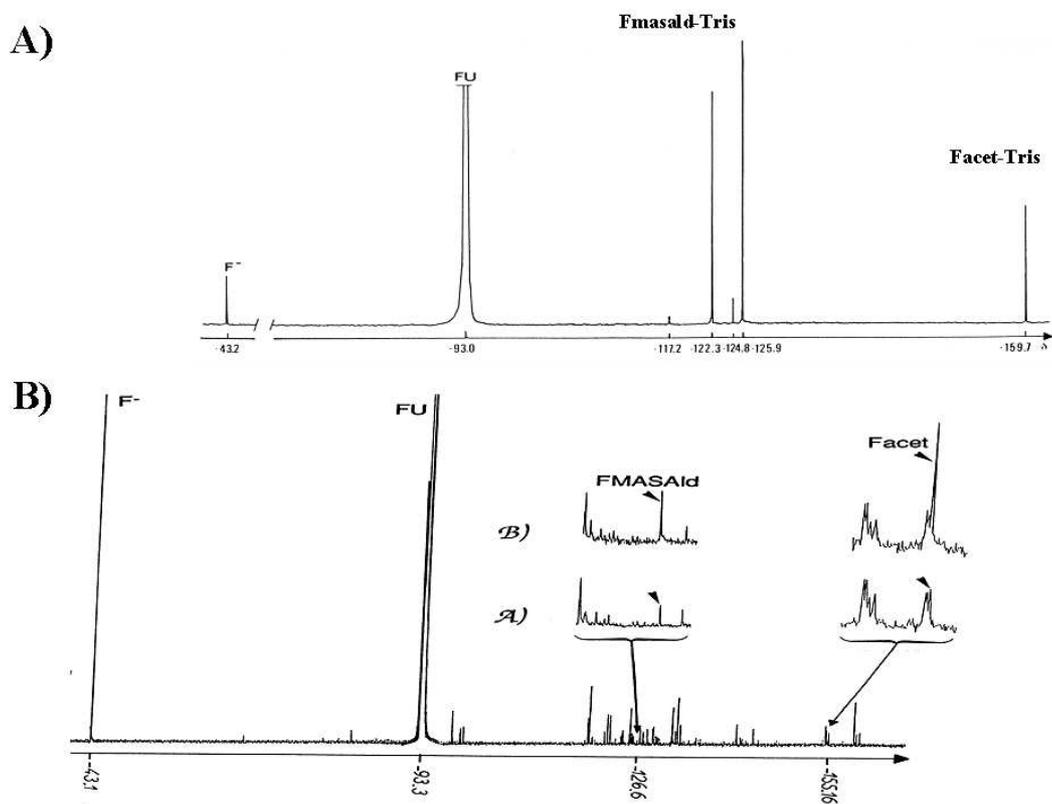


Figure 2 : spectre RMN-19F d'une solution de 5fluorouracile dont le véhicule est du (A) Trishydroxyméthylaminométhane ou (B) une solution aqueuse à pH-9.

5.1.2. *Activité antitumorale du 5-fluorouracile sur un modèle de tumeurs mammaires chimiquement induites chez le rat (1995-1996)*

La détermination de facteurs pronostiques permet d'appréhender de façon rationnelle la thérapeutique la plus adaptée au traitement en oncologie. Le 5-fluorouracile est une molécule ancienne, puisque synthétisée à la fin des années 50, et est toujours largement utilisée en chimiothérapies anticancéreuses tant au niveau des tumeurs cérébrales, pulmonaires, aéro-digestives supérieures qu'abdominales. Le mécanisme d'action du 5-fluorouracile est largement connu et ne fait plus aucun doute. Toutefois, des zones d'ombres persistent notamment concernant les facteurs régissant son transport dans l'espace intra-cellulaire et ou/ la perméabilité des membranes plasmiques à son égard. En effet, les données de la littérature tendent à montrer que le 5-fluorouracile peut gagner le cytoplasme par voie passive, transport facilité ou actif. La force proto-motrice et/ou le potentiel énergétique cellulaire sont également des facteurs dont les contributions sont non négligeables vis à vis de ce passage de membranes. La détermination des paramètres caractérisant et/ou régissant cette rétention de 5-fluorouracile est donc importante.

L'étude que j'ai menée au sein du CRC Biomedical Magnetic Resonance Group (St Georges Hospital, London) dirigé par le Pr. J.R. Griffiths a eu pour objet la détermination *in vivo* chez le rat porteur de tumeurs chimiquement induites des paramètres d'imagerie et de spectroscopique permettant, a priori, de différencier les tumeurs sensibles et les tumeurs résistantes aux chimiothérapies.

A partir des spectres phosphore-31 et fluor-19 obtenus avant et après injection de 5-fluorouracile quatre paramètres ont été mesurés.

Le pH tumoral

L'état énergétique de la tumeur

Le temps de rétention tumoral du 5-fluorouracile

L'anabolisme du 5-fluorouracile

Ces paramètres, ont été corrélés à la réponse tumorale estimée par mesure de la masse tumorale 7 jours après thérapie. En fonction de cette réponse, les tumeurs ont été classifiées selon les critères oncologiques classiques comme progressives, lorsque la masse tumorale était augmentée de plus de 25%, rémissives, lorsque la masse tumorale était diminuée de plus de 50% et stables entre les deux.

Nous avons mis en évidence une corrélation positive entre l'état énergétique pré-traitement et la réponse tumorale, le pH pré-traitement et la rétention du 5-fluorouracile ou encore entre la

réponse tumorale et la biosynthèse de fluoronucléotides. Toutefois, aucune corrélation entre la rétention de 5-fluorouracile et la réponse tumorale n'a été observée.

En conséquence, sur ce type de modèle l'état énergétique pré-traitement permet de prédire la réponse tumorale. Un contenu élevé en molécule à haut potentiel énergétique serait le témoin d'une riche vascularisation de la tumeur et conférerait à ce type de tumeur une capacité à prélever activement de la circulation sanguine le 5-fluorouracile et de fait permettrait une métabolisation plus importante, à défaut d'une rétention, au niveau tumoral (Publication P-7).

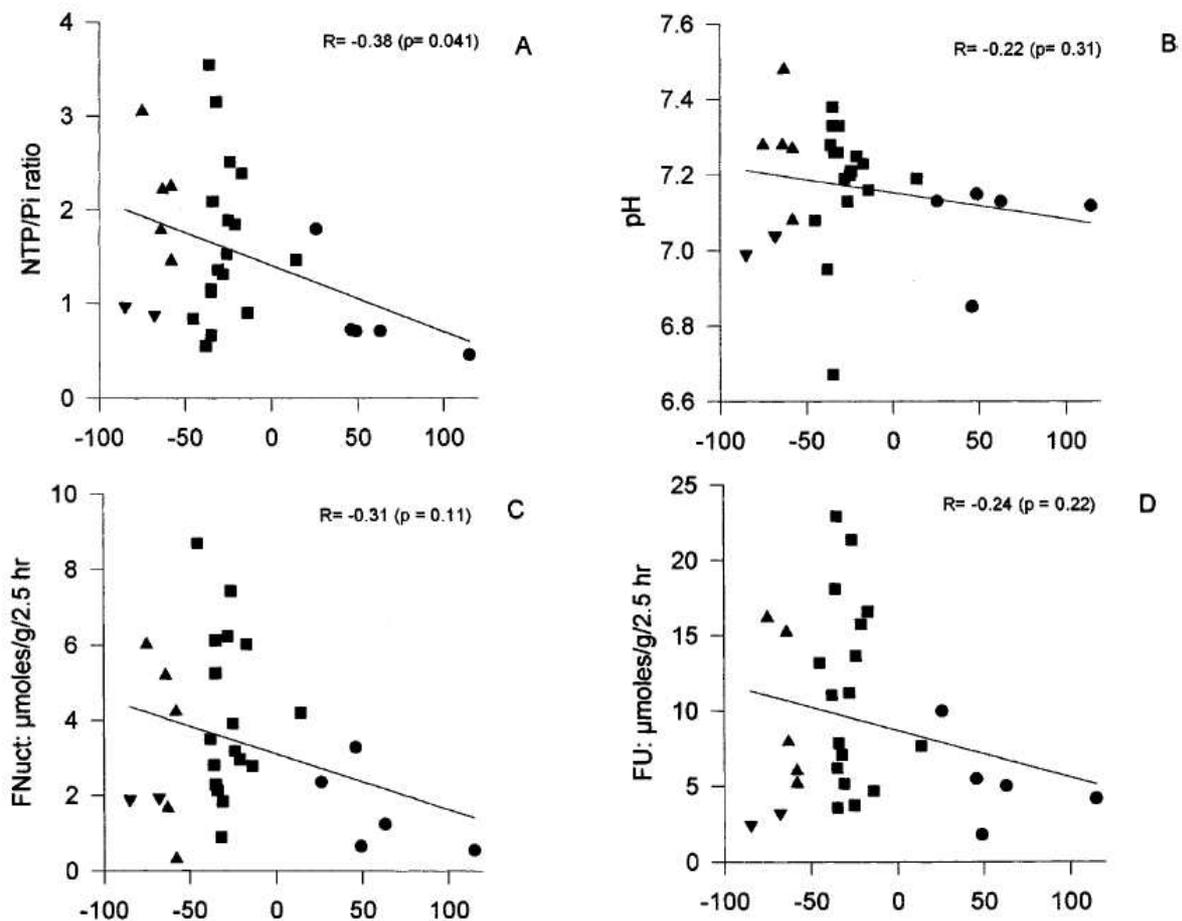


Figure 3: Corrélation entre le pourcentage de variation de la masse tumorale et (A) le rapport NTP/Pi pré-traitement, (B) pH pré-traitement, (C) nucléotides totaux produits et (D) 5-fluorouracile accumulé. Les tumeurs en progression, non-progressives et dont le volume décroît avec le traitement sont notées respectivement P, S, et R.

Les résultats et hypothèses apportés par cette première étude nous ont amené à étudier cette réponse tumorale en mesurant le coefficient de diffusion de l'eau de ces tumeurs mammaires (Publication P-8). Généralement, cette réponse est associée à une désorganisation de l'architecture cellulaire et sub-cellulaire qui peut induire des modifications des propriétés

biophysiques des cellules tumorales et du tissu qu'elles forment. La mesure du coefficient de diffusion de l'eau permet d'évaluer cette désorganisation puisque sa valeur est influencée entre autre, par la liaison des molécules d'eau aux macromolécules et la présence de membranes limitant la diffusion de ces molécules d'eau.

Les résultats obtenus montrent, qu'avant thérapie, la valeur du coefficient de diffusion de l'eau corrèle positivement avec le pourcentage de nécrose de la tumeur.

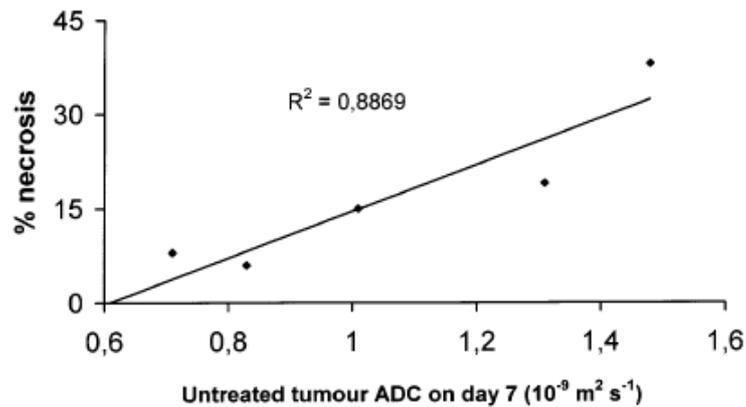


Figure 4: Corrélation entre la valeur du coefficient de diffusion apparent et le pourcentage de nécrose de la tumeur.

De plus, les tumeurs caractérisées par un coefficient de diffusion pré-traitement faible (tumeur en prolifération) répondent le mieux à la thérapie.

L. Lemaire et al. / Magnetic Resonance Materials in Physics, Biology and Medicine 8 (1999) 20–26

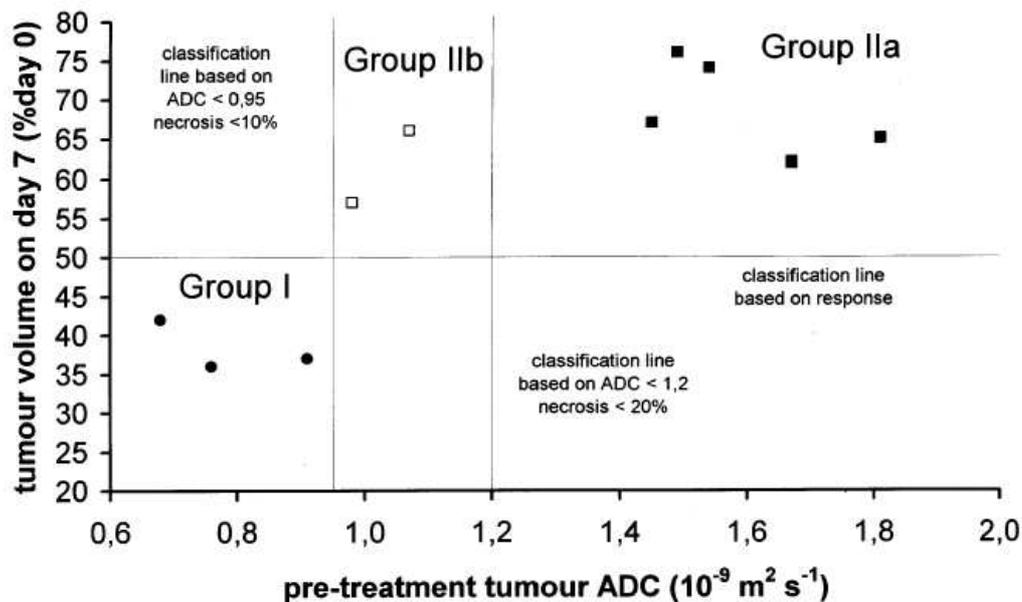


Figure 5: Corrélation entre le volume tumoral mesuré 7 jours post-traitement (en % du volume initial) et la valeurs du coefficient de diffusion apparent mesuré avant traitement.

De ces deux études il apparaît que le 5-fluorouracile est plus efficace lorsque les cellules sont en phase proliférative. Cet état cellulaire requière une ‘énergétisation’ du tissu tumoral (mesurée en 31P) qui ne peut être maintenu que par une vascularisation importante (indirectement évaluée par la mesure du coefficient de diffusion de l’eau dont la valeur est proportionnelle au degré de nécrose tumorale). Ces deux paramètres permettent donc à priori de déterminer la réponse de ce type de tumeur à une chimiothérapie par le 5-fluorouracile.

5.1.3. Efficacité thérapeutique de microsphères de 5-fluorouracile (1998-2003)

5.1.3.1. Efficacité de microsphères de PLAGA/FU(1998-2001)

Ce travail a fait l’objet de la thèse de Gaëlle Roullin. ‘Suivi par IRM de l’efficacité thérapeutique de microsphères antitumorales chez le rat’ - 9 octobre 2001. J’ai participé à l’encadrement du volet imagerie tout en réalisant la caractérisation IRM du modèle de gliome malin.

Le traitement des gliomes malins est un problème majeur en oncologie. En effet, les glioblastomes sont des tumeurs invasives, à prolifération rapide et donc peu sensibles tant aux chimiothérapies, radiothérapies qu’aux résections chirurgicales. Toutefois, les travaux développés au sein du laboratoire ont permis de proposer une nouvelle voie thérapeutique. Elle est basée sur l’implantation à proximité et/ou directement dans le tissu tumoral de microsphères biodégradables chargées en principe actif libérant de façon progressive et contrôlée les agents antitumoraux.

Dans notre étude, nous avons cherché à :

- décrire par Imagerie de Résonance Magnétique le modèle de tumeur gliale choisi
- préciser la cinétique de la réponse du gliome C6 à une thérapie par le 5-fluorouracile
- évaluer la distance de diffusion des microsphères et/ou du 5-fluorouracile à partir du site d’injection

Le modèle tumoral C6 est largement utilisé comme modèle de glioblastome. L’implantation de ce type cellulaire dans le parenchyme cérébral du rat induit le développement d’une tumeur. Cependant, il est évident qu’en fonction du nombre et/ou de la ‘proliférativité’ des cellules injectées le développement tumoral peut varier. La première étape de notre travail a donc consisté en la description de ce modèle. Il est communément admis qu’une lignée tumorale est homogène sur une vingtaine de générations ce qui peut se traduire par ‘les

mutations spontanées ne sont pas suffisantes, sur cet intervalle de temps pour que le type cellulaire soit significativement différent'. Pour éviter d'introduire une variable supplémentaire dans notre étude, un intervalle inter-génération inférieur à 8 a été respecté.

5.1.3.1.1. Description par IRM du modèle de tumeur gliale C6

Le modèle retenu correspond à l'injection, dans le striatum gauche de rats Sprague-Dawley femelles (coordonnées 0 ; 3 ; -7 mm par rapport au bregma), de 40000 cellules C6 en phase exponentielle de croissance.

Nous avons dans un premier temps cherché à définir la séquence d'Imagerie de Résonance Magnétique (T1, T2, Diffusion, Transfert d'Aimantation) permettant d'observer un contraste suffisant entre la lésion tumorale et le parenchyme cérébral et ceci dans un temps d'examen inférieur à 10 minutes afin d'éviter que le temps d'imagerie soit un facteur limitant dans l'étude. Les résultats ont fait l'objet de la publication P-11.

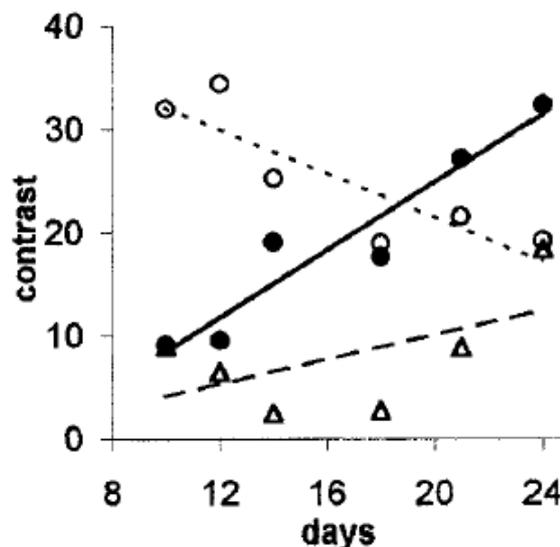


Figure 6: Comparaison de l'évolution du contraste entre tumeur et parenchyme cérébral en fonction du temps pour le T2 (●) le transfert d'aimantation (O) ou le coefficient de diffusion apparent (Δ).

Les séquences pondérées en T1, sans injection de produits de contraste, ont été rapidement éliminées du fait du très faible contraste qu'elles produisent à 7T. L'imagerie de Diffusion est par essence une imagerie très demandante en temps, mais les temps d'acquisition peuvent être considérablement raccourci par les techniques rapides tel l'écho-planar. Toutefois, ces techniques sont très délicates de mise en œuvre à très haut champ et nos essais à 7T ont été

jusqu'à présent infructueux. L'Imagerie T2 permet de détecter la lésion tumorale. Le contraste (C), défini comme la valeur absolue de la différence entre le T2 tumoral et le T2 du parenchyme normalisée au T2 du parenchyme est compris entre 0.1 et 0.3. L'imagerie en contraste de transfert d'aimantation permet quant à elle d'observer le meilleur contraste lésion tumorale/parenchyme cérébral au moins dans les stades précoces du développement tumoral (C = 0.3) et ceci dans un temps d'imagerie court. Toutefois, l'ajout du train de pulses de préparation s'accompagne d'une SAR importante, qui dans le cas d'une imagerie multi-coupe peut s'avérer être un facteur limitant.

Notre choix, c'est donc porté sur l'utilisation d'une séquence multi-échos de spin pondérée T2 (TR 2500ms ; 8 échos TE = 15 à 120 ms). Dans ces conditions d'imagerie, la lésion tumorale est détectable dès le 10ème jour suivant l'inoculation des C6 (volume moyen 13 μ l – T2 tumoral \approx 60 ms et un T2 du parenchyme cérébral \approx 55ms), la masse tumorale double tous les 2 jours et se développe dans un premier temps le long du trajet de l'aiguille avant d'envahir tout l'hémisphère concerné. L'évolutivité de la tumeur est hétérogène pouvant aller de la nécrose à l'hémorragie.

De cette étude, nous avons donc défini un délai entre induction et thérapie de 12 jours avec vérification de la prise tumorale par Imagerie de Résonance Magnétique au jour 10.

5.1.3.1.2. Réponse du gliome C6 à une thérapie par le 5-fluorouracile

La thérapie évaluée est une thérapie basée sur l'apport prolongé et contrôlé de 5-fluorouracile par le biais de microsphères biodégradables stéréotaxiquement implantées. L'apport contrôlé à proximité de la cible d'une molécule biologiquement active est un principe attractif puisqu'il permet de réduire les quantités injectées et donc de limiter les effets secondaires potentiels de cette molécule. Les systèmes de mini-pompes permettent aussi un apport contrôlés mais leur utilisation est réduite. L'utilisation de gels imprégnés en principes actifs ou de microsphères biodégradables chargées en principes actifs est une technologie dont le développement remonte au début des années 1990. Ces gels et ces microsphères présentent l'avantage de pouvoir être injectés dans le tissu ciblé et de libérer progressivement le principe actif, la période de libération étant conditionnée par la nature même du polymère utilisé pour synthétiser les microsphères.

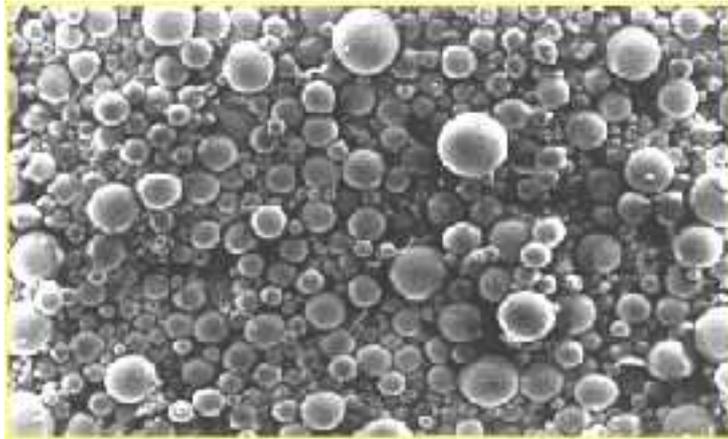


Figure 7: Microscopie électronique des microsphères de PLGA contenant du fluorouracile.

Le modèle de glioblastome choisi est un modèle à prolifération rapide (8-10 jours entre la détectabilité de la masse tumorale et la mort de l'animal). L'utilisation de microsphères libérant le 5-fluorouracile sur une période de temps de 8 jours nous est donc apparue la plus adéquate. Les microsphères choisies ont été caractérisées par un diamètre moyen de $45 \pm 18 \mu\text{m}$, une charge en 5-fluorouracile de 22 % et une libération sur une période de 8 jours. La dose de 5-fluorouracile retenue équivaut à 2.5mg de 5-fluorouracile/kg animal soit un volume de microsphères de 20 μl . Afin de tester l'apport de ce système à libération contrôlée et prolongée, nous l'avons comparé à une injection bolus de 5-fluorouracile à la même dose (16 μl) et sur des tumeurs au même stade de développement (12 jours après inoculation des cellules C6).

En terme de survie des animaux, aucune différence significative n'a pu être mise en évidence entre les 2 groupes bien que les 2 thérapies augmentent cette survie d'environ 50% par rapport aux animaux non traités. Le contrôle en imagerie du développement tumoral montre toutefois que des différences existent entre les 2 thérapies. Après l'injection bolus ou le dépôt de microsphères chargées en 5-fluorouracile une phase de stagnation de la masse tumorale est observée. Cette phase est suivie d'une phase de 'flambée' tumorale. La reprise tumorale est observée à partir de la zone striatale (c'est à dire la zone où les cellules C6 ont été initialement injectées) lorsque le 5-fluorouracile est injecté en bolus (figure 8) alors que la reprise tumorale est observée à partir de la zone corticale quand le 5-fluorouracile est apporté par les microsphères (figure 9).

Ces résultats montrent que la libération prolongée et contrôlée de 5-fluorouracile permet d'éradiquer les cellules tumorales lorsqu'elles sont à proximité du dépôt de microsphères mais suggèrent fortement que la diffusion du 5-fluorouracile au sein du tissu cérébral est limitée (Publication P-14).

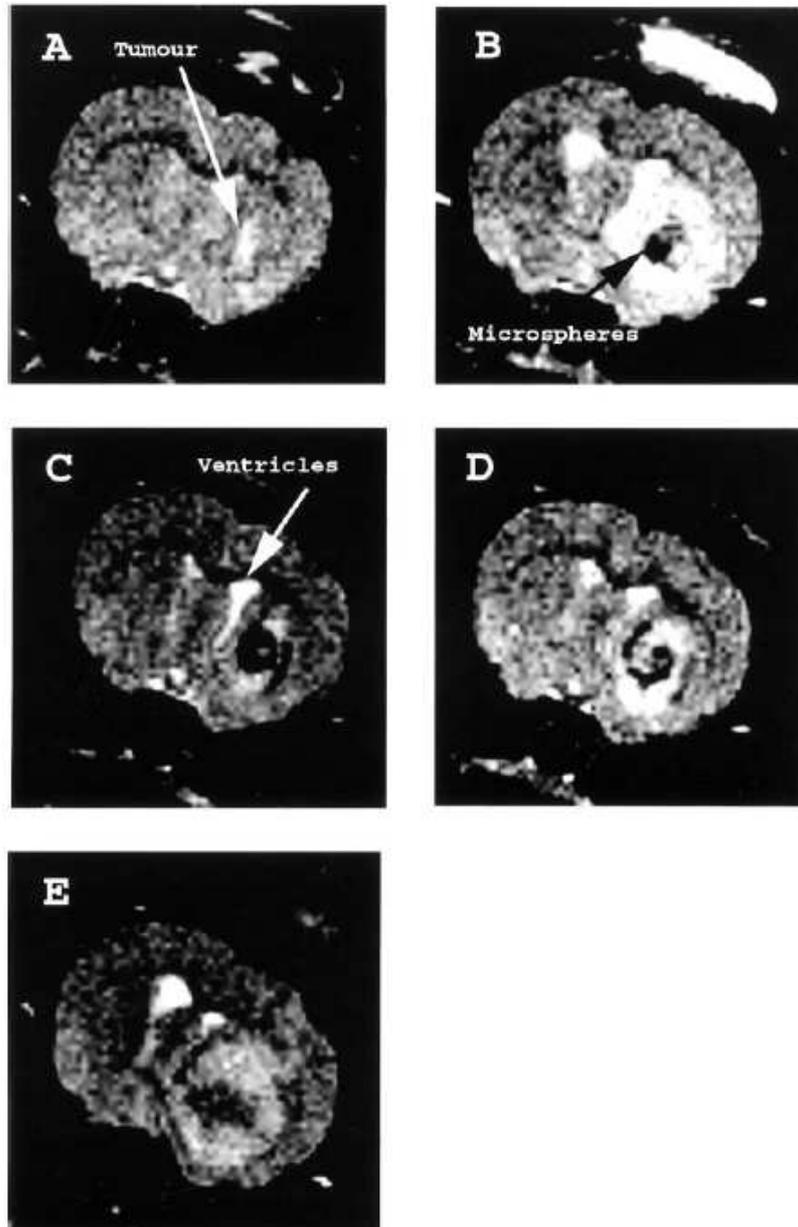


Figure 8: Images pondérées T2 d'une tumeur C6, avant (A), 2 jours (B) 6 jours (C), 9 jours (D) et 12 jours (E) après injection intratumorale d'une solution de 5-fluorouracile. Sur l'image E, il est possible de constater que la tumeur pousse à partir de la région striatale où les cellules furent initialement injectées.

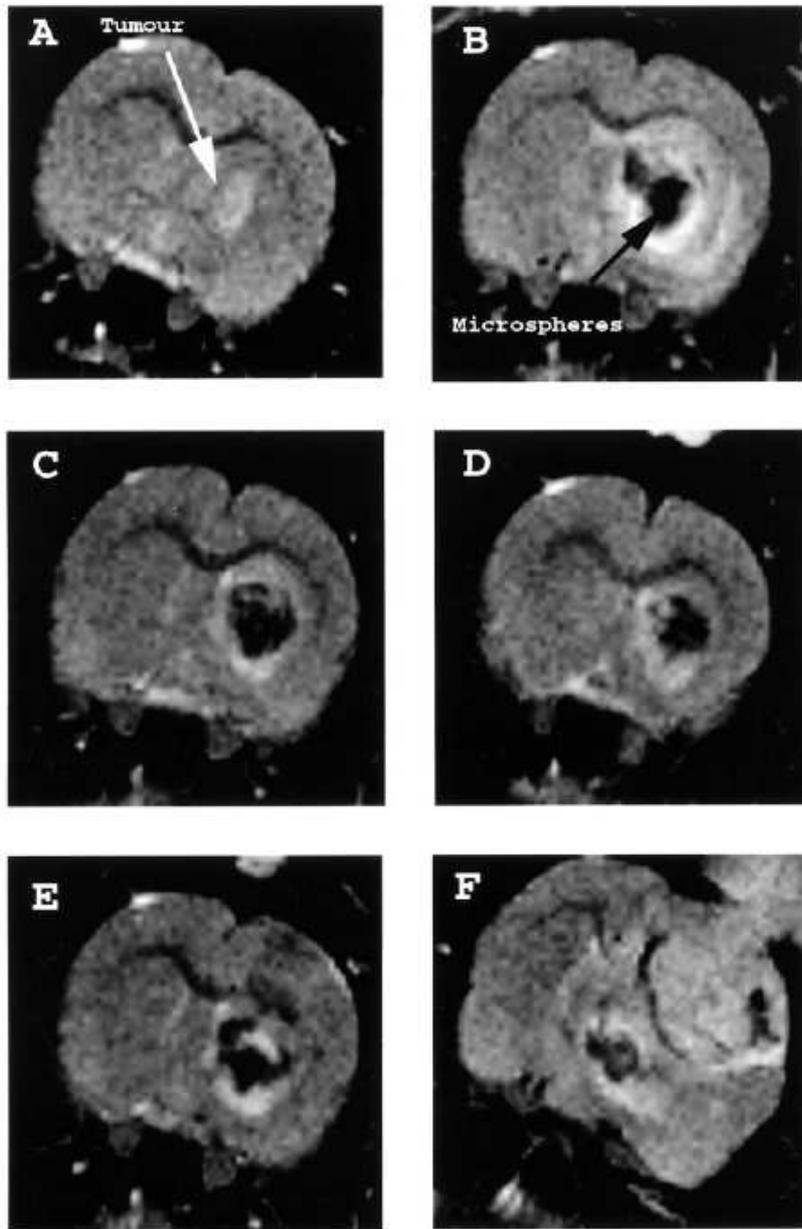


Figure 9: Images pondérées T2 d'une tumeur C6, avant (A), 2 jours (B,) 6 jours (C), 8 jours (D), 12 jours (E) et 19 jours (F) après injection intratumorale d'une suspension de microsphères de 5-fluorouracile. Sur l'image F, il est possible de constater que la tumeur pousse à partir de la région corticale alors que les cellules furent initialement injectées dans la région striatale.

5.1.3.1.3. Diffusion des microsphères et/ou du FU à partir du site d'injection

Les résultats d'IRM ont posés la question de la distance de diffusion des microsphères et/ou du 5-fluorouracile à partir du site d'injection. Pour ce faire, 2 types de microsphères ont été produits. Le premier ou le 5-fluorouracile était radio-marqué au tritium sur la position 6 et le second ou les microsphères contenait de la magnétite dextran, agent de contraste permettant de localiser, par IRM les microsphères et leur potentiel déplacement.

Sur les IRM (pondérées T2) les microsphères (volume injecté 20 μ l) apparaissent sous forme d'un halot d'un diamètre d'environ 3mm (correspondant à un volume d'environ 15 μ l) 5 jours après injection suggérant que la diffusion des microsphères est négligeable.

Pour l'étude de la diffusion du 5-fluorouracile, les microsphères chargées en 5-fluorouracile ont été injectées soit chez des rats porteurs d'un glioblastome (12 jours post-inoculation des C6) soit chez les rats sains. 12, 24, 96 et 168 après injection, les rats ont été sacrifiés, les crânes 'microtomisés' et chaque tranche de 200 μ m comptée. Il apparaît qu'indépendamment du temps la radioactivité est principalement retrouvée au niveau du site d'injection chez les rats porteurs de tumeurs, alors que chez les rats sains elle est retrouvée le long du trajet de l'aiguille.

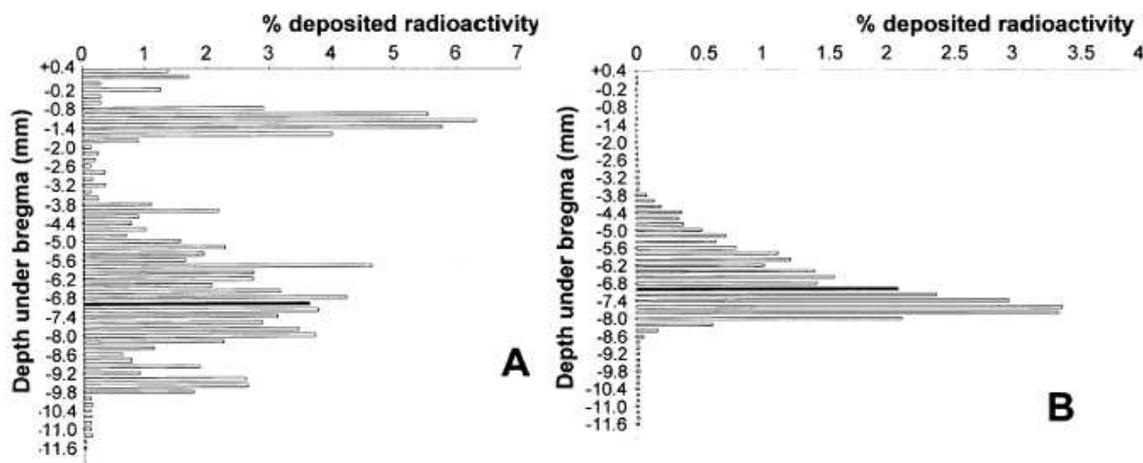


Figure 10: Distribution de la radioactivité en fonction de la profondeur sous Bregma chez un rat contrôlé (A) et chez un rat porteur d'une tumeur 168h après implantation stéréotaxique de microsphères chargées en fluorouracile tritiées.

Ces résultats montrent que les microsphères et le 5-fluorouracile se retrouvent principalement au site d' injection, que la présence du tissu tumoral, même dans ces phases précoces de développement, permet de désorganiser suffisamment la structure du parenchyme cérébral limitant les contraintes physiques imprimées par ce parenchyme et qui tendent à rejeter les microsphères (Publication P-16)

5.1.3.1.4. Conclusions

L'apport de l'IRM à la caractérisation de la réponse tumorale à une chimiothérapie basée sur des microsphères de 5-fluorouracile est indéniable. Toutefois, le modèle de gliome C6 est un modèle qui interdit l'évaluation de rémission dans la mesure où son caractère immunogène se traduit parfois par un rejet spontané. Afin de contrer cette difficulté, nous avons choisi d'utiliser un modèle faiblement immunogène. Pour ce faire, les modèles 9L (non-infiltrant) et F98 (infiltrant) ont fait l'objet d'une caractérisation systématique en IRM à 7 tesla.

5.1.3.2. Caractérisation des gliomes 9L et F98 en IRM à 7Tesla

Ce travail a fait l'objet du DEA d'Arnaud Vonarbourg et a été présenté sous forme d'une communication par affiche au 19th Annual Meeting ESMRMB, 2002, August 22-25, Cannes, France (Communication C-40).

Une étude paramétrique systématique (temps de relaxation longitudinal ou transversal, coefficient de diffusion apparent et rapport de transfert d'aimantation) a été menée sur ces deux modèles. L'IRM tant qualitative que quantitative met en exergue les différences entre un modèle non infiltrant comme le gliome 9L et un modèle infiltrant comme le gliome F98.

Pour le gliome 9L, tumeur et parenchyme sain sont aisément discernable et ce, quelque soit la séquence utilisée (figure 11 (ligne inférieure)) alors que pour la tumeur infiltrante la limite entre ces deux tissus est quasiment impossible à définir (figure 11(ligne supérieure)).

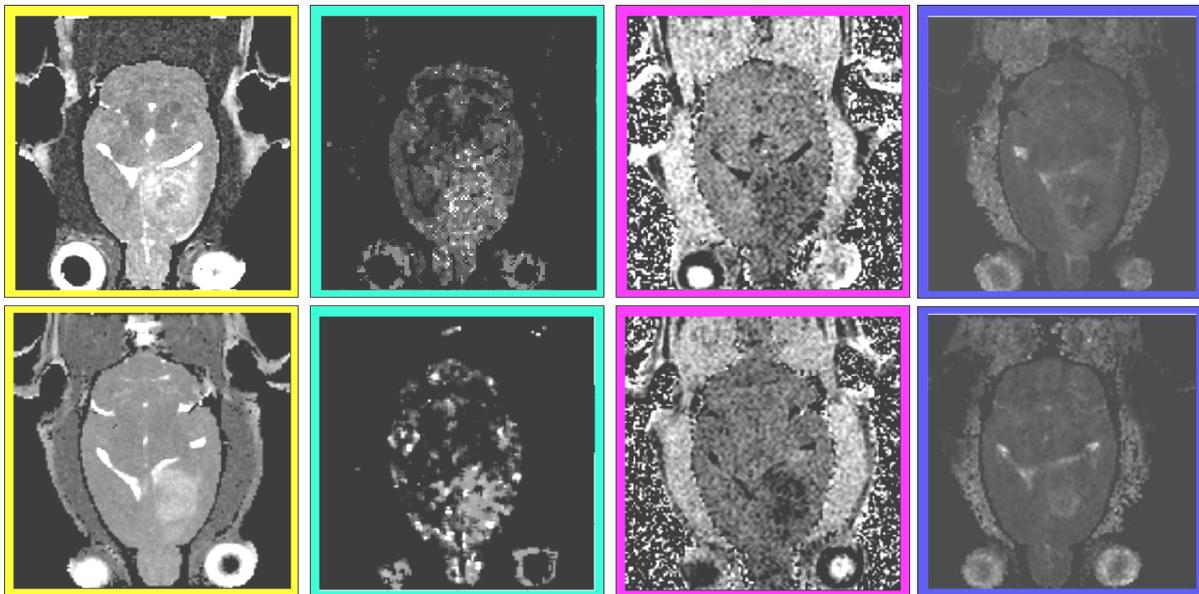


Figure 11: Images de gauche à droite en cartographie T2, T1, MT et en pondération ADC du gliome F98 23 jours après une inoculation de 1000 cellules (ligne supérieure) et du gliome 9L 25 jours après une inoculation de 1000 cellules (ligne inférieure)

5.1.3.3. Efficacité de microsphères de PMM2.2.1/FU (2000-2002)

Ce travail a fait l'objet de la thèse d'Elvire Fournier (Communication C-41). La problématique était similaire à celle traitée dans le & 5.2.1.1. et n'a de fait nécessité aucun développement particuliers

5.2. Pathologies cérébrales : Détection, caractérisation et thérapeutiques.

La compréhension du fonctionnement du cerveau représente un champ d'investigation semble t'il sans limite. La non-invasivité, associée à la spécificité des informations obtenues par Imagerie et Spectroscopie de Résonance Magnétique confèrent à cette technique d'analyse un avantage non négligeable pour l'étude des processus physiologiques dont l'installation est progressive.

5.2.1. Modifications morphologiques dans un modèle murin de dépression.

En collaboration avec la société BIOTRIAL de Rennes, nous avons cherché à caractériser par IRM un modèle animal de dépression par ablation des bulbes olfactifs. Les processus neuro-dégénératifs et/ou des anomalies anatomiques semblent pouvoir rendre compte de troubles comportementaux et des désordres affectifs. Des études en IRM chez des patients dépressifs ont montré par exemple, des élargissements ventriculaires, des modifications du lobe frontal, ou de l'hippocampe. Par contre, il est difficile d'avoir des modèles animaux valides permettant l'évaluation pré-clinique des thérapeutiques.

Ce modèle animal (ablation des bulbes olfactifs) a été suivi par imagerie d'écho de spin. Dix images en pondération T1 (TR=500ms, TE=10ms) et T2 (TR=2500ms et TE=80ms) ont été acquises. Un champ de vision de 5cm et une matrice 128x128 ont été utilisés avec une épaisseur de coupe de 1mm. Les IRM obtenues 14 jours après l'ablation montrent un élargissement ventriculaire et des modifications de signal dans les zones hippocampiques et amygdalaires. Ces modifications sont similaires à celles observées chez les patients déprimés et permettent de valider le modèle animal. Ce modèle de dépression par ablation des bulbes olfactifs couplé à une technique de visualisation comme l'IRM fournissent un outil d'évaluation pré-clinique d'antidépresseur. Ce travail a été valorisé par la publication **P12**.

5.2.2. Métabolisme cérébral et neuro-dégénérescence.

Cette étude a eu pour objet la caractérisation des modifications morpho-physiologiques et métaboliques associées à une dégénérescence, chimiquement induite chez le rat, des fibres cholinergiques septo-hippocampiques (Publication **P17**). Ce modèle est considéré comme un modèle de la maladie d'Alzheimer (atteinte des fibres cholinergiques septo-hippocampiques, troubles de la mémoire). Nous avons mis en évidence, par Imagerie de Résonance

Magnétique un processus de cavitation septal sans œdème massif et par Spectroscopie de Résonance Magnétique que l'atteinte cellulaire était dirigée contre les neurones (Communication C-23). En effet une diminution notable du marqueur neuronal qu'est le N-acetyl aspartate fut observé.

5.2.3. *Ischémie transitoire.*

Ce travail a fait l'objet de la thèse de Tristan Messenger (Etude d'un accident ischémique cérébral fonctionnel par IRM, doppler pulsé et vidéo angiométrie cérébrale. Université d'Angers. 13 janvier 2000). J'ai participé à l'encadrement du volet imagerie en assurant les développements méthodologiques nécessaires et l'optimisation des conditions d'acquisition et de traitement des données.

Les accidents ischémiques représentent la troisième cause de mortalité dans les sociétés occidentales et sont de ce fait un enjeu thérapeutique et économique majeur. Il est communément admis que la fenêtre thérapeutique est réduite et limitée aux premières heures suivant l'accident. La détection précoce et quantitative de la zone cérébrale atteinte est donc primordiale.

Nous avons cherché à étudier par Imagerie de Résonance Magnétique les phénomènes physiopathologiques associés à la phase précoce de l'accident ischémique transitoire et développer les outils permettant d'appréhender le degré d'atteinte du tissu cérébral. Les accidents ischémiques transitoires ont été induits chez la gerbille par occlusion bilatérale temporaire des carotides, la sévérité du modèle étant proportionnelle à la durée de l'occlusion. Chez ce rongeur, le clampage bi-carotidien permet une ischémie complète puisque le polygone de Willis est incomplet.

Bien que la mise en évidence des territoires infarcis et la mesure de la sévérité ischémique soit possible en cartographie T2, la sensibilité de la cartographie T2 est insuffisante pour une détection précoce de l'accident ischémique transitoire. En effet, des modifications significatives ne sont observables qu'une dizaine d'heure après l'occlusion (Publication **P10**). L'imagerie de diffusion et la mesure du coefficient de diffusion apparent *in vivo* ont montré un fort potentiel dans la détection de pathologies cérébrales et sont reconnues comme beaucoup plus sensible que l'imagerie pondérée T2 pour détecter précocement les attaques ischémiques. Sur les images pondérées en diffusion, les zones striatales sont hypo-intenses traduisant une diminution du coefficient de diffusion de l'eau. Ces modifications du

coefficient de diffusion sont visibles de façon très précoce dès la troisième heure de reperfusion et s'amplifient dans les heures suivantes jusqu'à un retour à la normale à 5 jours. Il apparaît donc que l'Imagerie de Résonance Magnétique permet de quantifier le degré d'atteinte ischémique et de détecter précocement cette atteinte ischémique et ceci dans le cas d'un accident ischémique transitoire. Physiologiquement l'augmentation de T2 et la diminution du coefficient de diffusion apparent de l'eau plaident en faveur d'un œdème cytotoxique et les travaux de Pell et col. (1999), suggèrent le développement d'un gonflement cellulaire au niveau striatal durant la phase de reperfusion.

5.3. Agents de contrastes particuliers superparamagnétiques

L'utilisation de champs magnétiques de plus en plus intense tant en clinique qu'en pré-clinique ouvrent de nouvelles perspectives pour ces produits de contraste T2. En effet, contrairement aux agents de contraste diffusibles, les nanoparticules conservent un pouvoir relaxant important (Communication C-30).

5.3.1. Relaxivités de différents agents de contraste de 0,47T et 7T.

Ce travail a fait l'objet d'une partie de la thèse de Tristan Messenger (Etude d'un accident ischémique cérébral fonctionnel par IRM, doppler pulsé et vidéo angiométrie cérébrale. 13 janvier 2000.)

Si les caractéristiques des produits de contraste sont bien connues aux champs magnétiques couramment utilisés en clinique (0,5 à 1,5T), il existe peu d'information sur leur comportement à très haut champ magnétique. La tendance actuelle, aussi bien pour les études d'imagerie fonctionnelle, de spectroscopie in vivo ou de microimagerie, est à l'utilisation de champs magnétiques de plus en plus intenses. Il nous est donc apparu important d'étudier l'évolution des caractéristiques de différents produits de contraste en fonction de l'intensité du champ magnétique.

Deux solutions paramagnétiques (une solution référence de chlorure de Nickel et une solution commerciale d'un chélate de Gadolinium, DOTAREM®, Guerbet, France) et cinq solutions de produits de contraste superparamagnétiques (une solution commerciale ENDOREM®, Guerbet, France et quatre solutions de magnétite dextran (synthétisées dans le laboratoire) avec des tailles hydrodynamique allant de 15 à 50nm) sont étudiées. Les relaxivités de ces différents produits sont mesurées à quatre champs magnétiques (0.47, 1.5, 4.7 et 7T) (figure 12).

La relaxivité r_1 du Gd-DOTA décroît légèrement lorsque le champ magnétique augmente alors que la relaxivité r_2 reste stable. Pour les particules superparamagnétiques la relaxivité r_1 décroît rapidement avec la valeur du champ.

La relaxivité r_2 est une fonction de la taille du cristal de la particule est varie peu quand le champ est supérieur à 1,5T de par le phénomène d'aimantation à saturation.

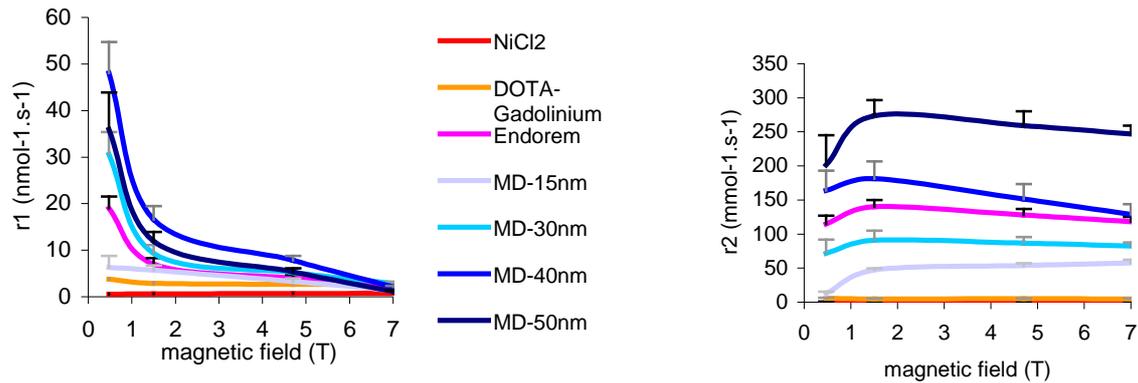


Figure 12: Evolution des relaxivités r_1 et r_2 de différents produits de contraste en fonction du champ magnétique.

5.3.2. Evaluation de nanoparticule d'oxyde de fer dans un modèle de SEP

La sclérose en plaque est une pathologie dont la détection est facile en IRM par la prise de contraste de ces lésions. Toutefois, l'évaluation du risque de récurrence et donc de la nécessité d'une thérapie conservatoire est actuellement impossible. Les processus régissant l'équilibre perméabilité/imperméabilité de la barrière hémato-encéphalique sont encore mal connus. Au sein du laboratoire, il a pu être mis en évidence sur un modèle d'encéphalopathie expérimentale qu'avant l'apparition de signes cliniques, une perméabilité accrue de la barrière hémato-encéphalique pouvait être mise en évidence. Le but de cette étude sera de voir si un tel processus existe au niveau de la moelle épinière sur un modèle de SEP récurrent et si la définition de paramètres IRM permet de prédire les épisodes suivants.

Nous avons dans un premier temps cherché à définir la séquence d'Imagerie de Résonance Magnétique (T2, Diffusion, Transfert d'Aimantation) permettant d'observer la moelle épinière du rat, de distinguer la substance grise de la substance blanche et cette dernière du film de liquide céphalo-rachidien amortisseur des mouvements de la moelle épinière dans le canal rachidien.

Comme nous l'avons constaté pour l'étude du modèle de glioblastome C6, les séquences pondérées en T1 ne produisent pas d'images suffisamment contrastées à 7T.

En ce qui concerne l'imagerie de diffusion bien que cette technique soit très gourmande en temps et nécessite une synchronisation de l'acquisition à la respiration, elle c'est avérée produire le meilleur contraste. Ceci s'explique par la structure isotrope de la moelle épinière (fibres grises principalement radiales, fibres blanches principalement dans l'axe du canal rachidien).

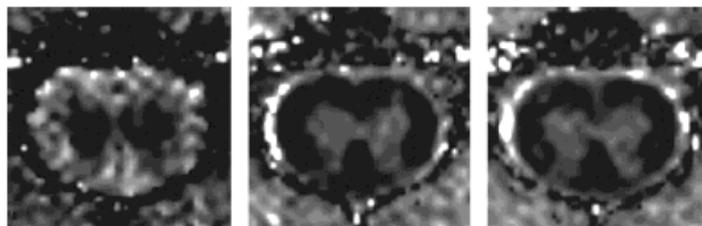


Figure 13: Cartographies de diffusion du segment C3 de la moelle épinière de rat. Les images sont calculées à partir d'acquisitions où le gradient de diffusion était dans l'axe de la moelle (gauche) ou perpendiculaire à cette axe dans la direction de codage de phase (centre) et de fréquence (droite).

Les images pondérées en ρ , T2 ou en transfert d'aimantation bien que moins contrastées permettent quand même de distinguer la substance blanche de la substance grise et surtout plus rapidement (quelques minutes contre 30-40 minutes pour la diffusion).

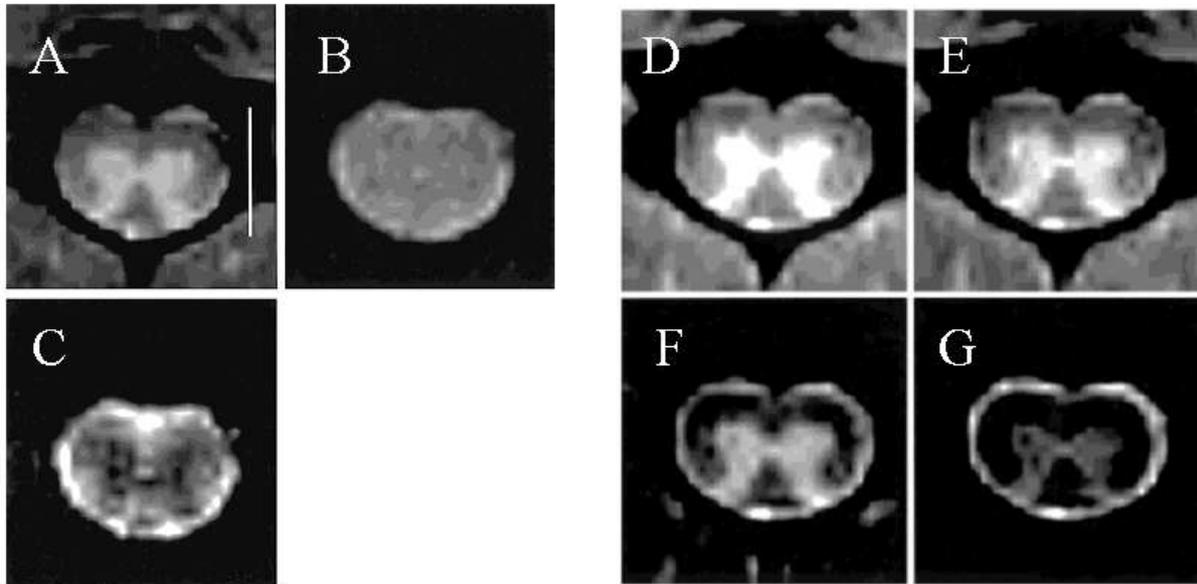


Figure 14: Images pondérées T2 ($TE = 10$ ms (A), 60 ms (B) et 120ms(C) et en transfert d'aimantation ($\alpha = 0^\circ$ (D), 160° (E), 542° (F) et 1064° (G) du segment C3 de la moelle épinière de rat.

Cette pré-étude indispensable pour l'étude du modèle de SEP (cf travaux futurs), nous a permis de définir des paramètres d'imagerie sur le tissu sain, base pour l'étude pathologique (Publication **P-13**).

5.3.3. Evaluation de la viabilité myocardique dans le post-infarctus du rat à l'aide d'agents de contraste particuliers.

Ce travail fait l'objet de la thèse de Catherine Chapon et s'inscrit dans la continuité de son DEA.

Le développement de l'imagerie par résonance magnétique haute résolution ces dernières années a permis la détection et la caractérisation de plus en plus précise de l'infarctus du myocarde. Cependant, les agents de contraste sont souvent requis pour améliorer la délimitation entre les zones myocardiques nécrosées et les zones saines par l'augmentation du contraste intrinsèque entre ces deux régions. Les agents de contraste à base de chélates de gadolinium classiquement utilisés améliorent la distinction entre les zones saines et nécrosées par une augmentation du signal en T1 au niveau de la nécrose. Cependant plusieurs études ont

montré que cet agent de contraste diffuse rapidement dans l'espace extracellulaire, surestimant ainsi la taille de l'infarctus.

D'autres agents de contraste sont disponibles comme les molécules à base de porphyrine décrites comme spécifiques de la nécrose, les agents de contraste macromoléculaires ou les nanoparticules superparamagnétiques à biodistribution vasculaire. Ces derniers agents de contraste ont l'avantage de présenter une rémanence plasmatique importante (environ 1 heure), et de cibler les territoires vascularisés, potentiellement viables et donc de mettre en évidence la zone nécrosée. De part leur relaxivité r_2 importante, même à haut champ magnétique, ces particules sont utilisées en pondération T2. Pour l'ensemble de ces raisons, il est apparu important d'évaluer, à 7 tesla, l'intérêt de ces agents de contraste pour la détection de la viabilité myocardique dans un modèle d'infarctus.

Par ailleurs, la zone péri-ischémique, représentant une zone dont l'atteinte n'est que transitoire et qui peut potentiellement récupérer tout ou partie de sa fonction contractile ne peut pas être complètement caractérisée par l'injection d'un seul agent de contraste en IRM. Une technique de double injection combinant un chélate de gadolinium et un agent spécifique de la nécrose à base de porphyrine a déjà été décrite pour la caractérisation de la zone péri-ischémique.

Cependant, ce protocole ne permet pas un diagnostic immédiat de l'infarctus du myocarde puisque l'IRM doit être réalisée plusieurs heures après l'injection de l'agent de contraste à base de porphyrine. Afin de mettre en évidence la viabilité myocardique, un protocole de double injection, utilisant les propriétés différentes de distribution et de relaxivité du Gd-DOTA(Dotarem®, Guerbet, France) et des nanoparticules d'oxyde de fer a été réalisé chez des rats 5 heures post-infarctus du myocarde.

5.3.3.1. Apport des nanoparticules d'oxyde de fer pour l'étude de l'infarctus du myocarde en IRM à 7 Tesla

Comme nous allons l'illustrer dans ce paragraphe, les particules superparamagnétiques autorisent une détection précoce de la nécrose, et ce, en moins de 4 minutes. Ces travaux ont fait l'objet de la publication **P21**.

La relaxivité r_2 importante des nanoparticules permet d'observer leur effet sur des images pondérées T2(**figure 15**). En effet, l'injection d'agents de contraste particuliers superparamagnétiques induit une chute significative de l'intensité du signal dans les territoires encore vascularisés (septum interventriculaire et paroi du ventricule droit). Cette importante réduction de l'intensité du signal perdure pendant toute la durée de l'expérimentation

(40 minutes après l'injection des nanoparticules). L'intensité de signal au niveau de la zone nécrosée n'étant pas modifiée.

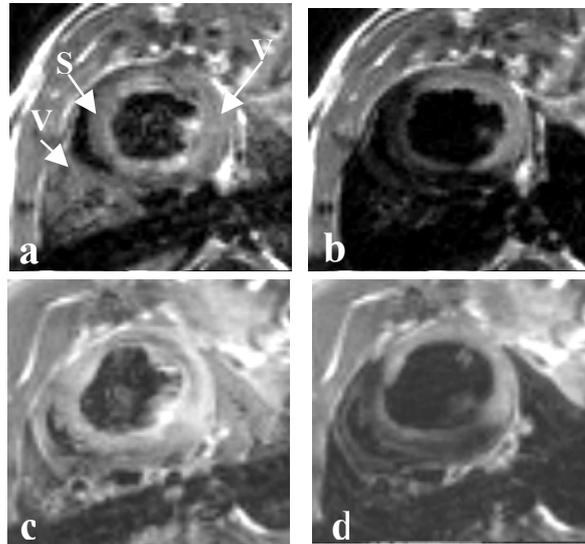


Figure 15: Images pondérées T2 de myocarde de rat (5 heures après ligature de la coronaire gauche) avant (a) et 3 minutes après injection IV de 10 mg Fe/kg de nanoparticules (b). Les images (c) et (d) correspondent respectivement à la situation avant et 3 minutes après l'injection IV de 10 mg Fe/kg de nanoparticules, 48 heures après l'occlusion permanente. VD : ventricule droit ; SI : septum interventriculaire ; VG : ventricule gauche.

5.3.3.2. Evaluation de la viabilité myocardique post-infarctus par double contraste en IRM à 7T

Le pronostic médical suite à un infarctus du myocarde est surtout lié à la présence et à l'étendue de territoires dont l'atteinte est réversible. Afin d'améliorer la définition de la zone péri-ischémique, susceptible de récupérer tout ou partie de ses fonctions s'il y a revascularisation, un protocole de double injection (Gd-DOTA puis nanoparticules) est réalisé. Le principe est d'utiliser deux agents de contraste différents en terme de distribution mais aussi en terme de propriétés magnétiques. Notre hypothèse est que la zone péri-ischémique peut être marquée par le Gd-DOTA, du fait de la diffusion rapide de cet agent de contraste dans l'espace extracellulaire, mais aussi par les nanoparticules de fer qui se distribuent dans les territoires vascularisés. La combinaison de ces agents peut donc permettre la mise en évidence de la viabilité myocardique. Afin d'avoir un diagnostic précoce, l'imagerie RM est réalisée chez des rats avec un infarctus du myocarde de 5 heures. Deux images références pondérées T1 et T2 sont réalisées avant injection d'agent de contraste. Puis 3 images T1 sont obtenues pendant les 20 minutes suivant l'administration de Gd-DOTA (0,2 mmol/kg). Enfin, les images pondérées T2 sont réalisées avant et pendant 40 minutes après l'injection de nanoparticules d'oxyde de fer

(5 mg Fe/kg). Avant l'injection de Gd-DOTA, la distinction entre les zones nécrosées et saines n'est pas possible sur les images T1 (**figure 16a**). Cependant, la séquence d'écho de gradient en mode ciné permet la localisation de la zone akinétique de la paroi libre du ventricule gauche et donc de confirmer la présence de l'infarctus du myocarde chez tous les rats utilisés dans l'étude. Six à sept minutes (selon la durée de l'acquisition) après l'injection de Gd-DOTA, les zones en bordure de la région akinétique du ventricule gauche sont caractérisées par une augmentation de signal alors que l'intensité de signal au niveau du centre de la zone infarctée et dans le myocarde sain ne subit pas de variation significative de signal (**figure 16c**). Sur les images réalisées ensuite (18 à 20 minutes après injection de Gd-DOTA), une augmentation de l'intensité de signal est observée au niveau des zones en bordure de la zone akinétique du ventricule gauche et au niveau central de la zone infarctée sans différence significative entre ces 2 régions (**figure 16b&c**).

Afin d'améliorer la détection de la zone péri-ischémique, l'injection de l'agent de contraste paramagnétique (Gd-DOTA) a été suivie par une injection de l'agent de contraste superparamagnétique et les images pondérées T2 ont été acquises.

Les images pondérées T2 réalisées 20 minutes après injection de Gd-DOTA ont montré l'augmentation de signal dans les zones infarctées et péri-ischémiques alors que le signal reste inchangé dans le myocarde sain (**figure 17a&c**). L'injection de nanoparticules d'oxyde de fer induit une diminution de l'intensité du signal au niveau du myocarde normal et de la zone péri-ischémique) mais n'affecte pas le signal au niveau de la zone infarctée (**figure 17b&c**).

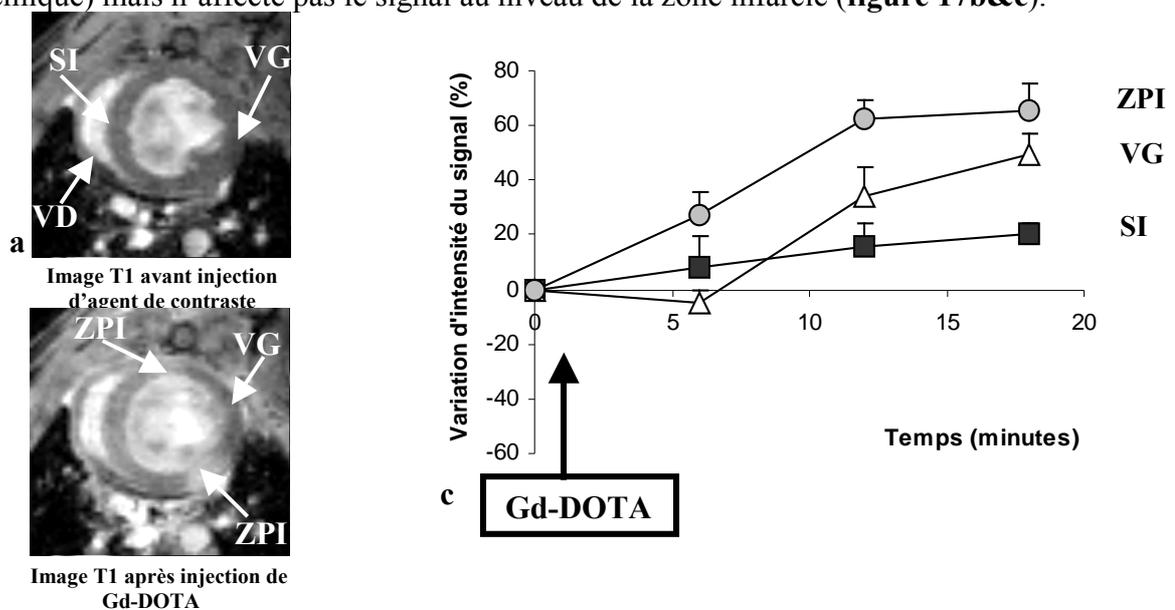


Figure 16: Images pondérées T1 avant injection d'agent de contraste (a) et 20 minutes après injection de Gd-DOTA (0,2 mmol/kg) (b) avec les courbes d'évolution de l'intensité du signal correspondantes (c). VD : paroi libre du ventricule droit ; SI : septum interventriculaire (■) ; VG : paroi libre du ventricule gauche nécrosée (Δ) ; ZPI : zone péri-ischémique (●).

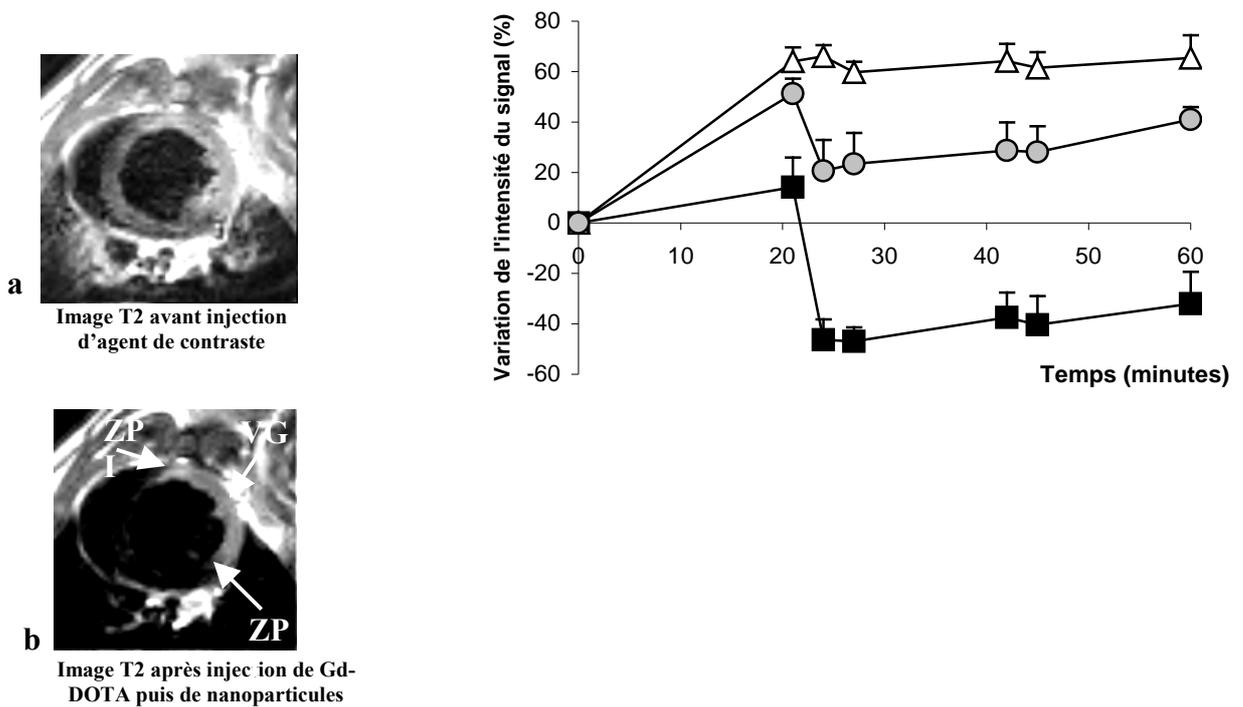


Figure 17: Images T2 avant injection (a) et après double contraste (Gd-DOTA/nanoparticules) (b) avec les courbes d'évolution de l'intensité du signal correspondantes (c). VD : ventricule droit ; SI : septum interventriculaire (■) ; VG : ventricule gauche nécrosée (Δ) ; ZPI : zone péri-ischémique (●).

Après l'examen IRM à 7T, les rats sont sacrifiés, les cœurs sont prélevés et une coloration au TTC (2'3'5'-triphényl tetrazolium chloride) est réalisée afin de comparer les tailles d'infarctus mesurées sur les IRM à celles mesurées par coloration histologique.

La coloration au TTC a confirmé la présence d'infarctus du myocarde chez tous les animaux de l'étude. La taille de l'infarctus du myocarde est mesurée sur les images pondérées T1 après injection de Gd-DOTA, sur les images T2 après double injection (Gd-DOTA puis nanoparticules). Les valeurs sont comparées aux mesures effectuées après coloration TTC (**figure 18**). La taille de l'infarctus mesurée après coloration TTC est significativement plus petite que celle déduite des images pondérées T1 post-Gd-DOTA mais est comparable avec celle mesurée sur les images pondérées T2 après injection de Gd-DOTA et des nanoparticules. De plus, la taille de l'infarctus sur les images pondérées T2 post-double injection est significativement différente de celle définie sur les images pondérées T1 post-Gd-DOTA.

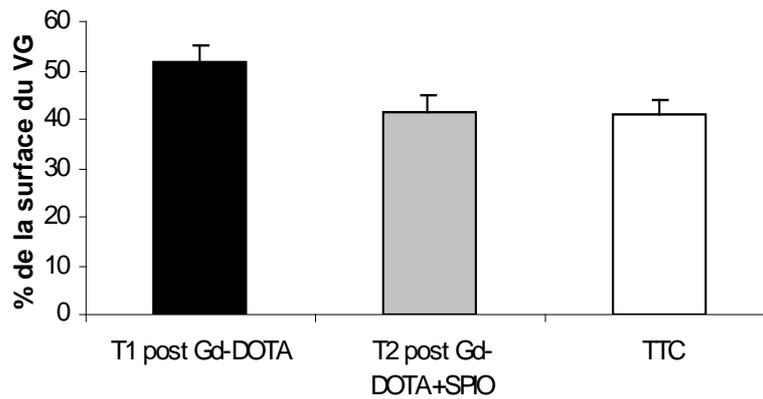


Figure 18: Evaluation de la taille de l'infarctus du myocarde avec les images pondérées T1 après injection de Gd-DOTA (barres noires), les images pondérées T2 après injection de Gd-DOTA puis de nanoparticules d'oxyde de fer (barres grises), et avec coloration TTC (barres blanches).

Le protocole de double injection est par conséquent une méthode intéressante pour mettre en évidence la présence de zone myocardique en souffrance mais dont la fonction peut être rétablie si une reperfusion est restaurée. Ainsi, la diffusion rapide du Gd-DOTA dans l'espace extracellulaire n'assure pas une caractérisation précise de la zone nécrosée, qui est alors surestimée. L'injection d'un agent de contraste vasculaire permet une délimitation précise de la région infarctée, corrélée avec les mesures histologiques. L'association des deux agents de contraste paraît donc indispensable pour la détection des zones péri-ischémiques, susceptibles de récupérer. Ces travaux ont fait l'objet de la communication **C39**.

5.3.3.3. Conclusions

L'utilisation d'un agent de contraste en IRM tel que les nanoparticules d'oxyde de fer synthétisées au sein de l'Inserm ERIT-0104 permet de distinguer les zones nécrosées des zones saines après un infarctus du myocarde. De plus, l'association de cet agent de contraste vasculaire et superparamagnétique avec un agent extracellulaire et paramagnétique permet la mise en évidence de la viabilité post-ischémique. En effet, les nanoparticules d'oxyde de fer induisent une diminution de l'intensité du signal dans le tissu sain et également dans les zones péri-ischémiques préalablement marquées par le Gd-DOTA, montrant que ces dernières sont encore vascularisées. De plus, la taille de la nécrose résultant de la double injection est parfaitement corrélée avec celle mesurée par la coloration histologique, alors que le Gd-DOTA seul surestime la taille de l'infarctus du myocarde. Cependant, ces expériences ont été réalisées en IRM 2-dimensions sur une coupe ce qui ne donne qu'une approximation de la taille réelle de la nécrose post-infarctus. En effet, il est plus intéressant et plus précis de travailler en

3-dimensions afin d'étudier tout le volume myocardique. C'est dans ce sens que s'orientent nos futures expériences sur l'apport d'agents de contraste en IRM à 7T pour l'évaluation de la viabilité myocardique post-infarctus chez le rat (Communication C-45).

5.4. Développements méthodologiques

Les travaux de méthodologies ont été développés en collaboration avec Florence Franconi du Service Commun d'Analyses Spectroscopiques, Université d'Angers.

5.4.1. Spectroscopie quantitative in vivo pour les petits volumes d'observation.

Ce travail a fait l'objet de la publication **P9**.

La spectroscopie par résonance magnétique proton est un outil puissant et non-invasif qui permet l'investigation *in vivo* du métabolisme de composés endogènes ou exogènes. La détection et la quantification *in vivo* des métabolites sont souvent limitées par leurs faibles concentrations. L'augmentation du rapport signal sur bruit lié à l'augmentation du champ magnétique autorise l'obtention de spectres localisés *in vivo* sur de faibles volumes (< 20 μ l) permettant l'exploration chez les petits animaux tels que le rat ou la souris.

Il est primordial pour l'observation de volumes très petits d'optimiser les conditions d'acquisition afin d'obtenir le meilleur rapport signal sur bruit. C'est pourquoi nous sommes intéressés à l'apport de l'utilisation combinée du filtrage digital, du suréchantillonnage et la compression des données pour l'amélioration de la qualité des spectres *in vivo*.

La gamme de déplacement chimique des métabolites d'un spectre proton est faible. L'eau résonne à 4,7ppm et la plupart des composés d'intérêts biologiques résonnent à des déplacements chimiques inférieurs. Souvent, même si les fréquences intéressantes sont concentrées sur une gamme de 5ppm, une large fenêtre spectrale est utilisée pour éviter le phénomène de repliement en fréquence. Le pic de l'eau doit aussi être pré-saturé afin de pouvoir détecter les métabolites qui ont une très faible concentration et qui seraient masqués par ce large pic. L'utilisation de filtre digital, contrairement au filtres analogiques classiques, permet le rejet des signaux hors bande sans distorsions du signal dans la bande de passage. L'utilisation combinée du filtrage digital, du sur-échantillonnage et la compression des données rend possible la réduction de la fenêtre spectrale à son minimum permettant une amélioration de la dynamique et donc de la sensibilité qui se traduit par une augmentation de rapport signal sur bruit apparent. Cette amélioration est proportionnelle à la racine carrée de $\frac{1}{2}$ du taux de suréchantillonnage sur la fenêtre spectrale SW.

La validation s'est effectuée *in vitro* sur un fantôme composé d'une solution des différents métabolites rencontrés *in vivo* (Naa, Cho, Cr...) et *in vivo* sur des rats Wistar. Des voxels de 16 μ l ont été localisés au centre du fantôme ou dans le striatum. Les spectres localisés ont été

acquis par une séquence de type PRESS avec les paramètres suivants : TR 1500ms, TE 34ms, 256 et 1024 accumulations respectivement pour *l'in vitro* et *l'in vivo*. La suppression de l'eau est obtenue par le motif décrit par Ernst (Ernst et Hennig, J Magn Reson B106, 181, 1995). Deux jeux de spectres (**figure 19**) ont été acquis correspondant soit aux conditions classiquement utilisées soit, aux conditions optimisées avec filtrage digital, suréchantillonnage et compression des données. Le premier jeu a été obtenu avec les paramètres suivants : filtrage analogique (de type Butterworth) de 10kHz, SW de 5000Hz centré sur le pic de l'eau et 8192 points de données. Le deuxième jeu a été obtenu avec les paramètres suivants : suréchantillonnage à 400kHz, filtrage digital, compression des données en ligne, SW de 1351 Hz centré à 735Hz du pic de l'eau vers les hauts champs et 2048 points de données. Pour chaque technique, douze spectres ont été acquis *in vitro* et six *in vivo*. Le rapport signal sur bruit correspond à l'intensité du pic du métabolite divisé par deux fois le bruit. Les résultats *in vitro* ont montré une augmentation de $197\pm 4\%$ du rapport signal sur bruit entre le premier et le deuxième jeu de spectres. *In vivo*, le rapport signal sur bruit des métabolites a été augmenté de $198\pm 19\%$ correspondant à la théorie ($\sqrt{(5000/1351)}$). La technique que nous proposons permet aussi de détecter des métabolites en très faible concentration comme l'Inositol non visible avec la technique classique. De plus, l'augmentation du rapport signal sur bruit apparent entraîne aussi une augmentation de la précision de la quantification (pour la créatine de 4% à 10% et pour la choline de 3 à 6%). La technique présentée est utilisée depuis de nombreuses années en spectroscopie haute résolution mais bien qu'elle soit disponible sur la plupart des systèmes d'imagerie, elle est peu implantée dans les applications *in vivo*. Nous avons montré que son utilisation peut être très utile et simple de mise en oeuvre, qu'elle permet d'augmenter le rapport signal sur bruit apparent et par conséquent d'améliorer la quantification des métabolites. L'utilisation conjointe du filtrage digital, du sur-échantillonnage et de la compression en ligne des données nous ont permis d'obtenir des spectres *in vivo* de très bonne qualité sur des volumes aussi petits que 16 μ l.

Figure 19

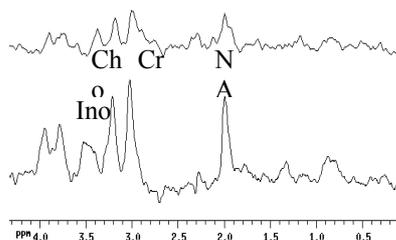


Figure 19 : Comparaison d'un spectre obtenu *in vivo* avec les conditions classiques (en haut) et d'un spectre obtenu avec le filtrage digital, le suréchantillonnage et la compression des données en ligne (en bas). Ces spectres ont été obtenus sur un volume de 16 μ l localisé dans le striatum d'un cerveau de rat.

5.4.2. Pseudo-signal RMN et mesure quantitative en IRM.

Ce travail a fait l'objet de la publication **P19**.

Lorsqu'un suivi longitudinal de variation de signal est réalisé, comme dans le cas de l'imagerie de contraste dynamique, il est indispensable de pouvoir corriger les mesures d'éventuelles variations du système d'IRM au cours du temps au moyen d'une méthode de référence. Généralement, un fantôme est inclut dans le champ de vision est sert de référence. Toutefois, cette technique est contraignante. En effet, le signal du tube référence doit être dans la même gamme que celui fourni par les tissus observés pour préserver la dynamique de l'image. Ce tube peut également être difficile à placer dans le champ de vision avec une orientation adéquate. Il nous est donc apparu indispensable de proposer une méthode toute aussi précise tout en s'affranchissant des inconvénients inhérents à la technique du tube de référence externe.

Nous avons adapté une méthode (déjà utilisée en spectroscopie : ERETIC) qui repose sur l'obtention d'un signal de référence synthétisé électroniquement, émis à l'intérieur de l'aimant par le deuxième canal non accordé d'une antenne double accord. Le signal ERETIC est produit sous la forme d'une impulsion RF modulée en amplitude. Le pseudo signal RMN résultant est collecté de façon concomitante au signal RMN réel et après transformée de Fourier un signal additionnel apparaît sur l'image. La forme, la position et l'intensité du signal de référence sont choisis librement par l'utilisateur via la console. Cette méthode a été validée *in vitro* et *in vivo* sur un modèle de clearance rénale chez le rat (**Figure 20**).

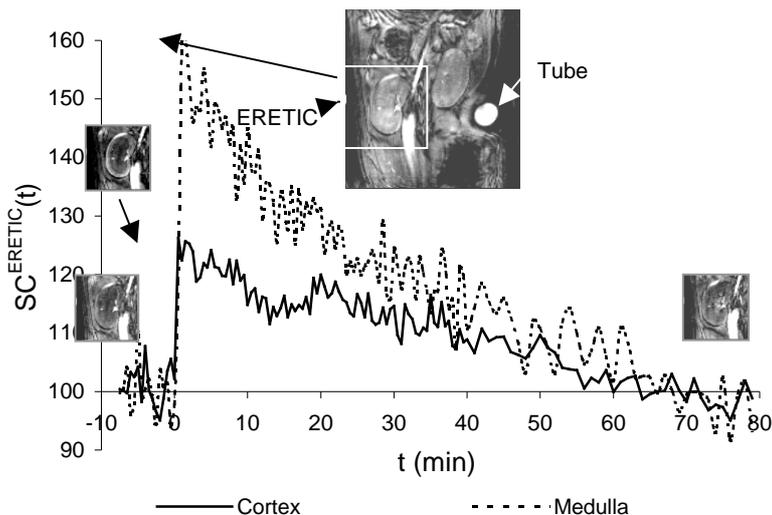


Figure 20: Imagerie de contraste dynamique de la clearance rénale chez le rat. Le rénogramme (a) présenté correspond au signal mesuré dans le rein corrigé par la méthode de référence ERETIC. Le suivi temporel (b) des variations de signal pour la méthode ERETIC et pour le tube de référence externe est aussi présenté.

6. TRAVAUX FUTURS (2003-2007)

6.1. Post-génomique et IRM

Avec le développement de modèles animaux transgéniques, toutes les informations sur les effets des manipulations de gènes sont d'intérêt pour le biologiste. La souris est le modèle le plus couramment utilisé pour l'étude du développement des mammifères.

L'IRM est plus particulièrement la micro-IRM est adaptée pour l'étude de ces animaux, généralement coûteux et en nombre limité. Les développements technologiques IRM permettent maintenant d'avoir des informations anatomiques avec une résolution quasi-histologique. En effet, sur des échantillons préparés comme pour l'histologie une résolution isotrope de 20-80 μm a été obtenue sur un embryon de poulet (Hogers B et al, 2001, J. Magn Reson Imaging, 14(1), 83-6) ou sur une souris (Dhenain M et al, 2001, Dev Biol, 232(2), 458-70) permettant ainsi une reconstruction volumique de l'animal ce que l'histologie ne permettait d'atteindre qu'après une numérisation fastidieuse des coupes. Récemment, il a même été démontré la faisabilité de ces images hautes résolution tant chez le rat *in utero* (Smith BR et al, 1998, Magn. Reson. Med., 39, 673-77) que chez la souris (Hogers B et al, 2002, Anat Rec, 260(4), 373-7).

Nous proposons donc d'étudier le développement embryonnaire de la souris d'une part sur un plan morphologique et sur une base quotidienne et ensuite d'évaluer la fonction rénale *in utero* en utilisant des agents de contraste particulière dans un premier temps et diffusible dans un second temps.

6.1.1. Evolution anatomique de la souris *in utero*

Le principal inconvénient de la souris repose sur la taille extrêmement réduite des animaux pendant tout le stade utérin. En effet, le souriceau atteint une taille maximale d'environ 2cm *in utero*. Ceci voulant dire que le rein par exemple a une taille toujours inférieure à 1mm.

Néanmoins, et bien que les images obtenues soient encore loin d'une résolution histologique (épaisseur de coupe 800 μm , résolution dans le plan 195 μm) nous avons pu mettre en évidence, dès le stade embryonnaire E11/12, du 4ème ventricule, de l'aorte ou encore du foie (**figure 21a**). Cœur, diaphragme, moelle épinière, 3ème ventricule et ventricules latéraux sont quant à eux identifiables dès E13/14 (**figure 21b**). Le squelette, la queue, les reins ou encore les extrémités sont visibles au stade E15/16 (*figure 22*).

Ce travail a fait l'objet de la publication **P20**.

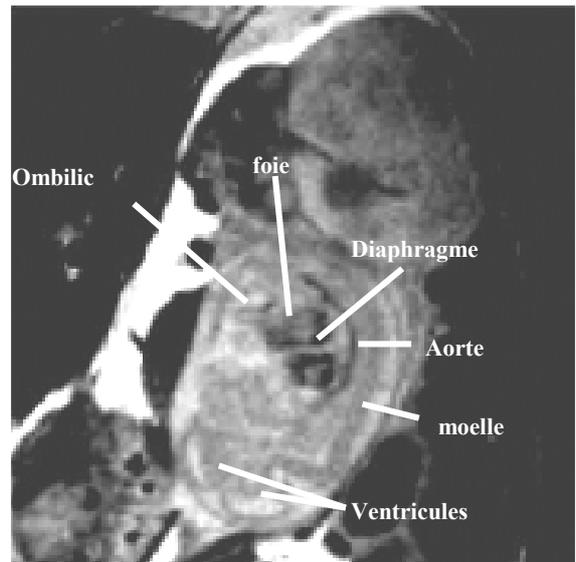
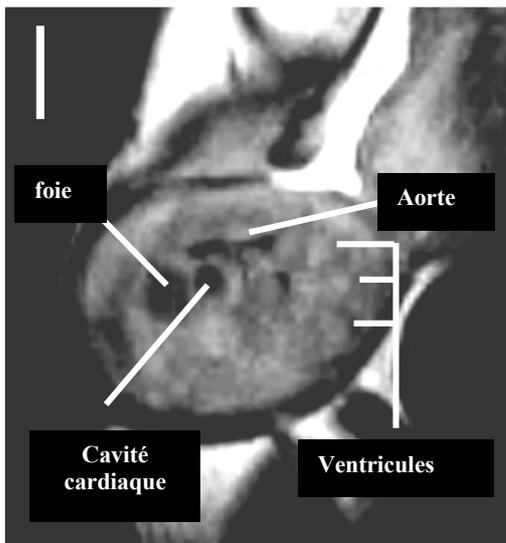


Figure 21: Embryon de souris *in utero* au stade embryonnaire E11/12 (gauche) et E14/15 (droite)

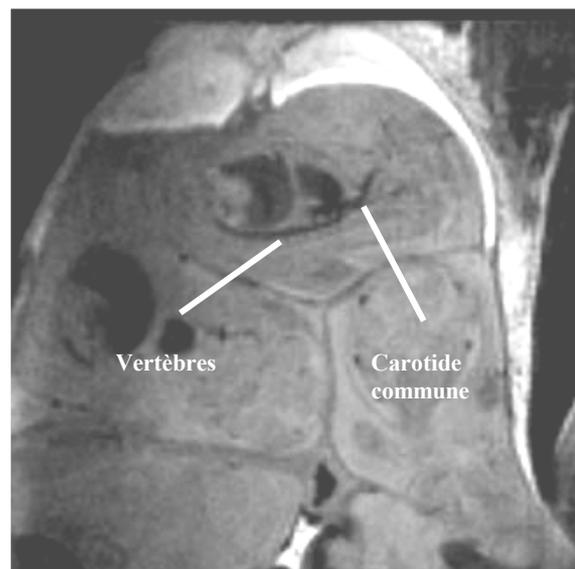


Figure 22: Coupes coronale (gauche) et saggitale (droite) d'embryons de souris *in utero* au stade embryonnaire E15/16.

6.1.2. Imagerie rénale fonctionnelle *in utero*

En parallèle à l'étude anatomique présentée précédemment, nous avons cherché à mettre en évidence une fonction rénale *in utero*. En effet, à partir des données histologiques (Kaufman, MH, 1992 "The Atlas of Mouse Development." Academic Press, London) le rein de souris se présente comme un rein mature à un stade embryonnaire très précoce (E11/13) sans toutefois

que la fonction n'est été évaluée. Notre expérience nous a montré que le rein de souris mature était imperméable à des particules de magnetite dextran d'un diamètre de 50nm. Nous avons donc supposé qu'en absence de maturité fonctionnelle, ces particules ne devraient être retenues par le filtre rénal. L'injection IV de particules à une souris gestante s'accompagne d'une diminution massive du signal rénal en pondération T2 sans qu'aucun effet ne soit observable au niveau des embryons. En fait, les particules ne franchissent pas le filtre placentaire et ceci quelque soit la période dans le cycle de gestation.

Nous avons donc décidé d'appréhender la fonction rénale de l'embryon de souris en utilisant un agent de contraste diffusible. Le but recherché est l'observation d'une prise de contraste différée au niveau de la vessie de l'embryon en présence de filtration glomerulaire, i.e., une maturité rénale. Les premiers résultats obtenus montrent qu'un tel phénomène existe dans les stades tardifs de l'embryogenèse (communication C-48 – **figure 23**).

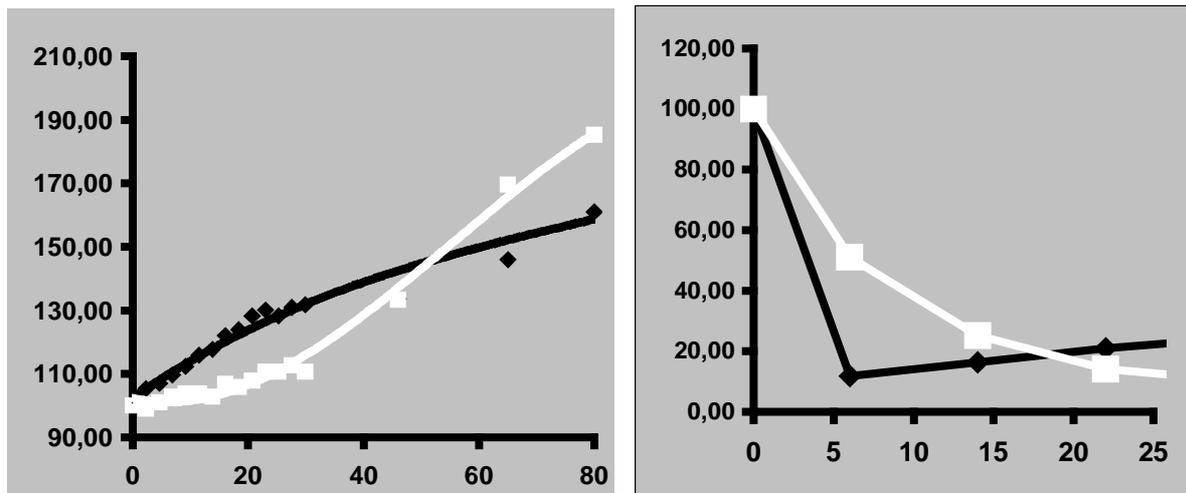


Figure 23: Evolution du signal au niveau du rein (noir) et de la vessie (blanc) embryonnaire (gauche) et maternel (droite) en fonction du temps post-injection IV de Gd-DOTA. Noter l'effet T1 observé sur l'embryon lié au passage limité de Gd-DOTA au travers du placenta) et l'effet T2 au niveau maternelle ou un passage massif est observé.

6.2. Nanoparticules et lésion de la BHE

Cette étude fait écho à l'étude préliminaire développée dans le paragraphe 5.2.2.1. qui nous a permis de mettre en œuvre les séquences et impératifs technologiques indispensables à la réalisation d'une imagerie de qualité de la moelle épinière de rat.

Le choix d'exploration de cette partie du système nerveux central et plus particulièrement de la partie cervicale de la moelle épinière repose sur le fait que dans le cas d'une induction d'encéphalite allergique, de nombreuses lésions se développent dans cette région.

Le but recherché par cette étude n'est pas une description anatomique et/ou une localisation des plaques qui d'ailleurs est aisée par IRM avec ou sans agents de contraste, mais l'évaluation du risque de récurrence et donc de la nécessité d'une thérapie conservatoire. Les processus régissant l'équilibre perméabilité/imperméabilité de la barrière hémato-encéphalique sont encore mal connus. Au sein du laboratoire, il a pu être mis en évidence sur un modèle d'encéphalopathie expérimentale qu'avant l'apparition de signes cliniques, une perméabilité accrue de la barrière hémato-encéphalique pouvait être mise en évidence. Le but de cette étude sera de voir si un tel processus existe au niveau de la moelle épinière sur un modèle de SEP récurrent et si la définition de paramètres IRM permet de prédire les épisodes pathologiques suivants.

6.3. Systèmes particuliers et marquage cellulaire

L'utilisation de produits de contraste particuliers et/ ou solubles sont d'intérêts majeurs et évidents en IRM clinique de part les informations anatomiques ou fonctionnels qu'ils peuvent apporter. Toutefois, l'information potentiellement accessible est largement dépendante de la biodistribution et de la biodisponibilité de ces composés. A moins d'être vectorisés, leurs cibles sont aspécifiques.

Une utilisation 'non conventionnelle' bien que déjà largement présente en littérature scientifique des agents de contraste repose non pas sur l'exploitation de leur activité contrastante en tant que telle mais sur leur potentialité à étiqueter un système cellulaire thérapeutique. Le développement actuel du 'cell tagging' est en corrélation directe du développement des thérapies cellulaires.

Pour être candidat à cette approche d'étiquetage, l'agent de contraste doit pouvoir être internalisé de façon stable au sein de la cellule thérapeutique, sans en modifier la physiologie et la fonction thérapeutique. L'analyse de la littérature montre que les particules d'oxyde de fer sont des candidats potentiellement intéressants en terme de contraste même si elles induisent un contraste négatif sur des images où le rapport signal bruit peut déjà être problématique. Actuellement, il apparaît que les oxydes de fer recouvert de dextran sont de piètres étiqueteurs, hormis peut-être l'Endorem®. Nos essais préliminaires sur des magnétites dextran d'un diamètre hydrodynamique de 50 nm, qui sont synthétisées au laboratoire, confirment les résultats de la littérature. A moins de vectoriser ces particules par des peptides

dérivés de HIV, il semble difficile d'augmenter la captation cellulaire de nos marqueurs magnétiques. En collaboration avec B. Denizot, nous envisageons de développer des particules dont la nature chimique du revêtement sera modifié. Il ne sera non plus neutre mais électriquement chargé. Ceci devrait permettre dans un premier temps de faciliter le contact entre particules et cellules et par voie de conséquences de faciliter l'internalisation de ces marqueurs magnétiques.

7. CONCLUSIONS

Les applications de la Résonance Magnétique Nucléaire dans les études pré-cliniques sont nombreuses et multiples comme le prouve la dizaine de publications hebdomadaire dans lesquelles l'Imagerie par Résonance Magnétique ou la Spectroscopie par Résonance Magnétique apparaissent comme la technique analytique centrale. Cependant, il est probable que les années à venir voient, avec le développement des techniques optiques et surtout scintigraphiques et l'arrivée des micro-PET, une évolution vers une imagerie multi-modalité.

8. CURICULUM VITAE

Juin 1987, **DEUG Sciences de la nature et de la vie**, Université de Haute-Normandie

Juin 1989, **Maîtrise de Biochimie-Biophysique**, Université de Provence

Juin 1990, **Diplôme d'Etudes Approfondies**, Université Toulouse III

-Spécialité Pharmacologie et Toxicologie Moléculaires

1990-1993, **Doctorat** de l'Université Paul Sabatier de Toulouse.

Groupe de RMN Biomédicale (professeurs M.C. Malet-Martino et R. Martino), Laboratoire des IMRCP, UA CNRS 470, Université Paul Sabatier, Toulouse.

1994, Service National.

1995 - 1996, **Assistant de recherche** - Laboratoire du Professeur J.R. Griffiths

"CRC Biomedical Magnetic resonance Research group", , LONDON, UK.

Soutien financier de l'ARC et de la Communauté Européenne (Human Capital & Mobility).

1997, **Chargé d'Etude**, Laboratoire du Professeur P .J. Cozzone

Centre de Résonance Magnétique Biologique et Médicale, Université de Médecine de la Timone, 13005 Marseille. Partenariat Industriel, SANOFI, Toulouse.

1998-2000, **Professeur contractuel** de l'Université d'Angers,

UPRES-EA 2169 – Vectorisation particulière, 49045 ANGERS.

Depuis 2001, **Ingénieur de Recherche** de l'Université d'Angers,

INSERM ERIT-M 0104 – Vectorisation particulière, 49045 ANGERS.

9. PUBLICATIONS

Thèse

"Etude par Résonance Magnétique Nucléaire du Fluor-19, de la cardiotoxicité d'un médicament antitumoral fluoré, le 5-fluorouracile." 29 Novembre 1993, Toulouse, France. Mention très honorable et félicitations du jury.

9.1. Publications

P1- Fluoroacetaldehyde as cardiotoxic impurity in Fluorouracil (Roche).

L. Lemaire, M.C. Malet-Martino, S. Longo-Cabanac, R. Martino, M.De Forni, M. Carton. The Lancet, 337, 556, 1991.

P2- Cardiotoxicity of commercial 5-fluorouracil vials stems from the alkaline hydrolysis of this drugs.

L. Lemaire, M.C. Malet-Martino, M.De Forni, R. Martino, B. Lasserre. British Journal of Cancer, 66, 119-127, 1992.

P3- Cardiotoxicity of high dose 5-fluorouracil continuous infusion : A prospective clinical study with biochemical approach using fluorine magnetic resonance spectroscopy.

M. De Forni, M.C. Malet-Martino, P. Jaillais, RE Shubinski, J.M. Bachaud, **L. Lemaire**, P Canal, C Chevreau, D Carrie, P Soulie and M Carton. Journal of Clinical Oncology, 10, 1795-1801, 1992.

P4- The trometamol formulation of fluorouracil is more cardiotoxic than the sodium salt formulations.

L. Lemaire, M.C. Malet-Martino, M.De Forni, R. Martino, B. Lasserre. Oncology Reports, 1, 173-174, 1994.

P5- 5-fluorouracil cardiotoxicity : a question of galenic

L. Lemaire, M. Arellano, M.C. Malet-Martino R. Martino, M.De Forni. Bulletin du Cancer, 81, 1057-1059, 1994.

P6- Fluorine-19 MRS : Applications in Oncology.

P.M.J. McSheehy, **L. Lemaire**, J.R. Griffiths. Encyclopedia of Nuclear Magnetic Resonance, 3, 2048-2052, 1996.

P7- Pre-treatment energy status of primary rat tumours as the best predictor of response to 5-fluorouracil chemotherapy: a magnetic resonance spectroscopy study in vivo.

L. Lemaire, P.M.J. McSheehy and J.R. Griffiths. Cancer Chemoth. Pharmacol., 42, 201-209, 1998.

P8- Assessment of primary tumour response to chemotherapy using the apparent diffusion coefficient of tissue water as determined by diffusion-weighted ¹H-NMR spectroscopy in vivo.

L. Lemaire, L. rodrigues, F.A. Howe and J.R. Griffiths. MAG*MA, 8(1), 20-6, 1999.

P9- Improving the detection of low concentration metabolites in magnetic resonance spectroscopy by digital filtering.

L. Lemaire, F. Franconi, J.J. Lejeune, P. Jallet and P. Richomme.
Medical & Biological Engineering & Computing, 37(2), 244-6, 1999.

P10- MRI study of transient cerebral ischemia in the gerbil : Interest of T2 mapping.
Messenger T, Franconi F, **Lemaire L**, de Bray JM, Saint André JP, Jallet P, Le Jeune JJ.
Invest Radiol, 35(3), 180-5, 2000.

P11- High field quantitative transverse relaxation time, magnetisation transfer and apparent water diffusion of experimental rat brain tumour

Lemaire L, Franconi F, Sain-André JP, Roullin VG, Jallet P, Le Jeune JJ.
NMR in Biomedicine, 13(3), 116-23, 2000.

P12- Ventricular enlargement with hippocampal atrophy in an animal model of depression : an in vivo MRI study

A. S. Wrynn, C. P. MacSweeney, F. Franconi, **L. Lemaire**, D. Pouliguen, S. Herlidou, B. E. Leonard, J. Gandon and J. D. de Certaines.
Brain Research, 879(1-2), 193-9, 2000.

P13- In vivo quantitative microimaging of the rat spinal cord a 7T.

F. Franconi, **L. Lemaire**, L. Marescaux, P. Jallet and J-J. Le Jeune.
Magn Reson Med, 44(6), 893-8, 2000.

P14- Therapeutic efficiency of 5-fluorouracil-loaded microspheres on rat glioma: A Magnetic Resonance Imaging study.

L. Lemaire, V-G. Roullin, F. Franconi, M-C Venier-Julienne, P. Menei, P. Jallet, J-J. Le Jeune and J-P Benoit.
NMR Biomed.,14(6):360-6., 2001

P15 Is magnetic resonance imaging texture analysis a useful tool for cell therapy in vivo monitoring?

Eliat P A, Lechaux D, Gervais A, Rioux-Leclerc N, Franconi F, **Lemaire L**, Dazord L, Catros-Quemener V, de Certaines JD.
Anticancer Res 2001 Nov-Dec;21(6A):3857-60

P16 Anti-cancer drug diffusion within living rat brain tissue: an experimental study using [(3)H](6)-5-fluorouracil-loaded PLGA microspheres.

Roullin VG, Deverre JR, **Lemaire L**, Hindre F, Venier-Julienne MC, Vienet R, Benoit JP.
Eur J Pharm Biopharm 2002 May;53(3):293-9

P17- Magnetic resonance imaging of the neuroprotective effect of Xaliproden in rats.

L. Lemaire, J. Fournier, C. Ponthus, S. Confort-Gouny, Y. Le Fur, J. Vion-Dury and P.J. Cozzone.
Invest Radiol, 2002, 37(6), 321-7.

P18- Adoptive immunotherapy monitored by micro-MRI in experimental colorectal liver metastasis.

Lechaux D, Gervais A, Dazord L, Eliat PA, Franconi F, **Lemaire L**, Rioux-Leclercq N, Catros-Quemener V. *Anticancer Res* 2002 , 22(1A):151-8.

P19- Quantitative MR Renography Using A Calibrated Internal Signal (Eretic).

Franconi F, Chapon C, **Lemaire L**, Lehmann V, Barantin L, Akoka S
Magn. Reson. Imaging 2002, 20(8), 587-92.

P20- In Utero Time-Course Assessment Of Mouse Embryo Development Using High Resolution Magnetic Resonance Imaging.

Chapon C, Franconi F, Marescaux L, Roux J, Le Jeune JJ, **Lemaire L**
Anatomy And Embryology, 2002, 206(1-2), 131-7.

P21- High field MR Imaging evaluation of Superparamagnetic Iron Oxide nanoparticles in a permanent rat myocardial infarction.

C. Chapon, F. Franconi, **L. Lemaire**, L. Marescaux, P. Legras, J-P. Saint-André, B. Denizot and J-J. Le Jeune.

Investigative radiology, 2003,38(3), 141-6.

P22- Incidence of release kinetics of 5-fluorouracil-loaded microspheres on an experimental rat glioma

Roullin V-G, **Lemaire L**, Venier-Julienne M-C, Faisant N, Franconi F, Benoit J-P.
Anticancer Research, 2003, 23, 21-25.

9.2. Communications

(19 nationales et 32 internationales)

C1-Le fluoroacétate est-il responsable de la cardiotoxicité du 5-fluorouracile ?

L Lemaire, S. Longo-Cabanac, M.C. Malet-Martino, P. Crasnier, M. De Forni, R. Martino
Affiche à la quatrième réunion du Groupe Thématique “Magnétisme Nucléaire et Biologie”
EVEUX, 23-26 Octobre 1990.

C2-Impurity(ies) in vials of fluorouracil Roche is(are) converted in vivo into highly cardiotoxic fluoroacetate.

M.C. Malet-Martino, L Lemaire, M. De Forni, S. Longo-Cabanac, R. Martino, M. Carton
Affiche au 82nd Annual Meeting of the American Association for Cancer Research,
HOUSTON (USA), 15-18 May 1991 *Proc. AACR*, 32, 2523, 1991.

C3-Acute cardiotoxicity associated with high dose of 5-fluorouracil continuous infusion : A prospective clinical study with pathophysiologic approach using fluorine-19 nuclear magnetic resonance method.

M. de Forni, P. Jaillais, M.C. Malet-Martino, F. Sorbette, C. Chevreau, J.M. Bachaud, D. Carrie, A. Huyn, L. Lemaire, H. Roche, R. Bugat, R. Martino, J. Mihura
Affiche au Annual Meeting of the American Society for Clinical Oncology, HOUSTON (USA), 19-21 Mai 1991.

C4-Formation de fluoroacétate, composé fortement cardiotoxique, par métabolisation d'impureté (s) fluorées présente (s) dans les ampoules de Fluorouracile Roche.

L. Lemaire, S. Longo-Cabanac, M. De Forni, M. Malet-Martino, R. Martino, M. Carton
Affiche au 11ème Forum de Cancérologie, PARIS, 10-11 Juin 1991.
Bulletin du Cancer, 78, 536-537 (1991).

C5-Toxicité cardiaque aigüe du 5-fluorouracile administré à fortes doses-perfusion continue : étude clinique prospective avec approche physiopathologique par résonance magnétique nucléaire du fluor-19 (RMN 19F).

M. De Forni, D. Carrie, M.C. Malet-Martino, J.M. Bachaud, P. Jaillais, C. Chevreau, R. Bugat, F. Sorbette, H. Roche, L. Lemaire, P. Soulie, R. Martino.
Affiche au 11ème Forum de Cancérologie, PARIS, 10-11 Juin 1991.
Bulletin du Cancer, 78, 535-536 (1991).

C6- La dégradation du fluorouracile au stockage est responsable de sa cardiotoxicité.

L. Lemaire, S. Longo-Cabanac, M.C. Malet-Martino, R. Martino, M. de Forni
Affiche à la 7ème Journée d'étude "Chimie-Biologie", TOULOUSE, 21 Juin 1991.

C7- Cardiotoxicité du 5-fluorouracile : élucidation de son origine grâce à la RMN du fluor-19.

M.C. Malet-Martino, L. Lemaire, M. de Forni, R. Martino
Communication au Colloque International "La résonance magnétique nucléaire : de la molécule à l'homme", Salon International des Techniques et Energies du Futur (SITEF 91) TOULOUSE, 22-23 Octobre 1991.

C8- Conversion of fluorinated impurity(ies) contained in vials of Fluorouracil Roche into highly cardiotoxic fluoroacetate.

L. Lemaire, M. de Forni, M.C. Malet-Martino, S. Longo-Cabanac, R. Martino
Affiche à la Sixth European Conference on Clinical Oncology and Cancer Nursing FLORENCE (Italie), 27-31 Octobre 1991.

C9- Cardiotoxicity of high dose 5-fluorouracil: a prospective clinical study with biochemical approach using fluorine-19 nuclear magnetic resonance. M. de Forni, P. Jaillais, L. Lemaire, J.M. Bachaud, B. Boudjema, C. Chevreau, M.C. Malet-Martino, P. Dudouet, J.M. David, H. Roche, R. Martino, R. Bugat Affiche à la Sixth European Conference on Clinical Oncology and Cancer Nursing, FLORENCE (Italie), 27-31 Octobre 1991.

C10- Degradation compounds of 5-fluorouracil during storage in basic medium are responsible for the cardiotoxicity of this drug.

M.C. Malet-Martino, L. Lemaire, R. Martino, M. De Forni Affiche au 83rd Annual Meeting of the American Association for Cancer Research, SAN DIEGO (USA), 20-23 Mai 1992. Proceedings AACR, 33, 3285 (1992).

C11- 5-fluorouracil continuous infusion cardiotoxicity: clinical and fluorine-19 nuclear magnetic resonance study in favor of a toxic mechanism.

M. de Forni, M.C. Malet-Martino, P. Jaillais, P. Canal, L. Lemaire, C. Chevreau, R. Bugat, R. Martino
Affiche au 83rd Annual Meeting of the American Association for Cancer Research, SAN DIEGO (USA), 20-23 Mai 1992. Proceedings AACR, 33, 3280 (1992)

- C12- Les produits de dégradation du 5-fluorouracile pendant son stockage en milieu.
L. Lemaire, M.C. Malet-Martino, M. de Forni, R. Martino
Affiche aux XXVIIIèmes International Meeting on Medicinal Chemistry, TOULOUSE, 7-9
Juillet 1992.
- C13- Cardiotoxicité du 5-fluorouracile (5FU) : importance du processus de dégradation du
5FU en milieu basique et de la nature de ce milieu.
R. Martino, L. Lemaire, M.C. Malet-Martino, M. de Forni
Communication aux Quatrièmes Journées de Pharmacologie Clinique Oncologique (GPCO),
TOULOUSE, 25-26 Novembre 1992.
- C14- Importance du processus de dégradation du 5-fluorouracile en milieu basique dans le
phénomène de cardiotoxicité de ce médicament antitumoral majeur. L. Lemaire, M.C. Malet-
Martino, M. De Forni, R. Martino. Communication à la cinquième réunion du Groupe
Thématique "Magnétisme Nucléaire et Biologie" SEIHL, 5-8 Octobre 1993.
- C15- The degradation of 5-fluorouracil in basic medium and its metabolisation into highly
toxic fluoroacetate could explain the cardiotoxicity of this drug. L. Lemaire, M. Arellano,
M.C. Malet-Martino, R. Martino. Communication at the british Institute of Radiology -
Magnetic Resonance Spectroscopy : Clinical and preclinical, London, March 20, 1995.
- C16- A new lyophilisate formulation of fluorouracil induces less cardiotoxicity on the isolated
perfused rabbit heart model than the commercial formulation wich is a solution of fluorouracil
in a basic buffer.
M. Arellano, L. Lemaire, M.C. Malet-Martino, R. Martino, P. Amirault and P. Besnard.
Communication at the 3rd meeting of the Society of Magnetic Resonance, Nice, August
19-25. Proceeding SMR, 1, 151, 1995.
- C17- ^{19}F longitudinal relaxation time and relaxivity measurements of 5-fluorouracil.
I.J. Rowland, A.S.E. Ojugo, L. Lemaire, P.M.J. McSheehy, J.R. Griffiths and M.O. Leach.
Poster at the 3rd meeting of the Society of Magnetic Resonance, Nice, August 19-25.
Proceeding SRM, 3, 1106, 1995.
- C18- L'utilisation de 5-fluorouracile pur couplée à l'inhibition de son catabolisme pourrait
limiter ses effets cardiotoxiques.
R. Martino, M. Arellano, L. Lemaire, M.C. Malet-Martino.
Communication à la Vème reunion du groupe de pharmacologie clinique oncologique,
Clermont-Ferrand, 16 novembre 1995.
- C19- Correlation of ^{19}F and ^{31}P measured parameters with response of MNU-induced rat
mammary tumours to 5-fluorouracil treatment.
L. Lemaire, A.S.E. Ojugo, P.M.J. McSheehy, I.R. Judson, M.O. Leach and J.R. Griffiths.
Communication at the PACM winter meeting, Newcastle upon Tyne, November 29-
December 2, 1996.
- C20- Identification of 2-fluoro-3-hydroxypropionic acid in urine of patients undergoing 5-
fluorouracil chemotherapy.
L. Lemaire, M. Arellano, M-C. Malet-Martino and R. Martino.
Poster at the 4th meeting of the Society of Magnetic Resonance, New-york, May 1-5.
Proceeding ISMRM, 3, 1162, 1996.

C21- Correlation of ^{19}F and ^{31}P measured parameters with response of MNU-induced rat mammary tumours to 5-fluorouracil.

L. Lemaire, A.S.E. Ojugo, P.M.J. McSheehy and J.R. Griffiths.

Poster at the 4th meeting ISMRM, New-york, May 1-5. Proceeding, 3, 1117, 1996.

C22- In vivo assessment of primary mammary rat tumours response to chemotherapy using diffusion-weighted ^1H NMR spectroscopy.

L. Lemaire, F.A. Howe, L. Rodrigues and J.R Griffiths.

Poster at the 5th meeting of the Society of Magnetic Resonance, Vancouver, April 12-19. Proceeding ISMRM, 3, 1070, 1997.

C23- ^1H MRI and MRS characterization of vincristine induced septal lesion in rats.

L. Lemaire, Y. Lefur, F. Fournier, S. Confort-gouny, C. Ponthus, J. Vion-dury and P.J. Cozzone.

Poster at the 14th meeting of the European Society for Magnetic Resonance in Medicine and Biology, Brussels, September 17-20. 1997.

C24 – From in vitro genetic alteration to in vivo NMR imaging, a unique animal model of depression.

Wrynn A.S., Franconi F., Lemaire L, Seben J.B., Korf J., De Certaines J.D., Herlidou S., MacSweeney C.P.

European College of neuropsychopharmacology, Paris, October 31- November 4, 1998.

C25 – Traitement de gliomes malins par implantation stéréotaxique intracérébrales de microsphères chargées en 5-fluorouracile : suivi de l'efficacité anticancéreuse par IRM chez l'animal.

V-G Roullin, L. Lemaire, M-C Vénier-Julienne, J-J Lejeune, P. Jallet et J-P Benoît.

Communication au XIIIèmes journées scientifiques du Groupe Thématique de Recherche sur les Vecteurs, Paris, 7-8 décembre 1998.

C26 – 5-FU-loaded microspheres in the treatment of malignant gliomas: following up efficiency on rats by Magnetic Resonance Imaging.

V-G. Roullin, L. Lemaire, F. Franconi, M-C. Venier-Julienne, J-J. Lejeune, P. Jallet and J-P. Benoit.

Communications au meeting de la Controlled Release society, Boston, April 1999.

C27 – MR Assessment of stereotaxically implanted 5-Fluorouracil microspheres on C6 glioma.

L. Lemaire, V-G. Roullin, F. Franconi, M-C. Venier-Julienne, P. Jallet, J-P. Benoit and J-J. Le Jeune.

European Society for Magnetic Resonance in Biology and Medicine, Sevilla, september 19-21, 1999.

C28 – T2, Magnetisation Transfer Ratio and Apparent Diffusion Coefficient follow-up of experimental rat brain glioma.

L. Lemaire, F. Franconi, JP Saint-André, VG Roullin, P. Jallet & JJ le Jeune

European Society for Magnetic Resonance in Biology and Medicine, Sevilla, september 19-21, 1999.

- C29 – Ischemia severity in relation to T2 : An experimental study on gerbil.
T. messenger, F. Franconi, JM debray, B. denizot, L. Lemaire, P. Jallet & JJ le Jeune
European Society for Magnetic Resonance in Biology and Medicine, Sevilla, september 19-21, 1999.
- C30 – Contrast agents relaxivities evolution with magnetic field strength (0.47 to 7 Tesla).
T. Messenger, F. Franconi, J.M. de Bray, B Denizot, L. Lemaire, P. Jallet, J.J. Le Jeune.
European Society for Magnetic Resonance in Biology and Medicine, Sevilla, september 19-21, 1999.
- C31 – Evaluation of macroporosity of calcium phosphate porous ceramics by MR imaging and electronic microscopy.
E. Olivier, F. Franconi, P. Pillet, L. Lemaire, H. Gautier, A.M. Leray, C. Merle, P. Richomme.
European Society for Magnetic Resonance in Biology and Medicine, Sevilla, september 19-21, 1999.
- C32 – Optimisation du contraste pour la visualisation de la moelle épinière chez le rat
F. Franconi, L. Lemaire, P. Jallet et J.J. Le Jeune.
Groupe de recherche sur les applications du magnétisme en médecine, Lille, 2-4 Février 2000.
- C33 – Etude en IRM d'un accident ischémique cérébral transitoire chez la gerbille ; Intérêt de la cartographie T2
T. Messenger, F. Franconi, L. Lemaire, J.M. De Bray, J. Roux, P. Jallet et J.J. Le Jeune.
Groupe de recherche sur les applications du magnétisme en médecine, Lille, 2-4 Février 2000.
- C34 - Franconi F, Lemaire L, Marescaux L, Jallet P, Le Jeune JJ
In vivo quantitative microimaging of rat spinal cord at 7T
The European Society for Magnetic Resonance in Medicine and Biology
17th Annual Scientific Meeting and Exhibition - Paris, 14-17 Septembre 2000.
- C35 - Chapon C, Lemaire L, Franconi F, Marescaux L, Le Jeune JJ.
Etude en Imagerie par Résonance Magnétique à 7 Teslas de l'infarctus du myocarde chez le rat: Evaluation de la viabilité myocardique à l'aide d'un agent de contraste superparamagnétique.
Journées de Recherche en Imagerie Médicale. Marseille, 14-15 Juin 2001.
- C36 - Chapon C, Franconi F, Marescaux L, Lemaire L, Le Jeune JJ.
MR Imaging at 7 Teslas of myocardial infarction in rats: Assessment of superparamagnetic Iron Oxide Nanoparticles contrast agent.
The International Society for Magnetic Resonance in Medicine and The European Society for Magnetic Resonance in Medicine and Biology
9^{ème}/18^{ème} Joint Annual Meeting, Glasgow (Grande Bretagne), 21-27 Avril 2001.
- C37 - D. Lechaux, A. Gervais, L. Dazor, P.A. Eliat, F. Franconi, L. Lemaire, V. Catros-Quemener
Adoptive immunotherapy monitored by micro-MRI in experimental colorectal liver metastasis.
International Conference on Invasion and Metastasis, Athens, Greece, 14-17 June 2001.

C38 - Chapon C, Franconi F, Marescaux L, Roux J, Le Jeune JJ, Lemaire L.
In Utero follow-up of mouse embryogenesis
19th Annual Meeting ESMRMB, August 22-25, Cannes, France.
MAGMA, 2002, 15 sup1, #111

C39 - Chapon C, Franconi F, Marescaux L, Legras P, Denizot B, Lemaire L, Le Jeune JJ.
Assessment of myocardial viability : use of superparamagnetic iron oxide nanoparticles and Gd-DOTA after infarction in rats.
19th Annual Meeting ESMRMB, August 22-25, Cannes, France.
MAGMA, 2002, 15 sup1, #116.

C40 - Vonarbourg A, Franconi F, Sapin A, Garcion E, Le Jeune JJ, Lemaire L.
High Field T1, T2, magnetisation transfer ratio follow-up and characterization of F98 and 9L experimental rat brain glioma
19th Annual Meeting ESMRMB, August 22-25, Cannes, France.
MAGMA, 2002, 15 sup1, #378.

C41 Vonarbourg A, Fournier E, Passirani C, Lemaire L, Menei P, Colin N, Bru N, Sagodira S, Benoit JP
MR Assessment Of New 5-Fluorouracil-Loaded-Poly(Methylidene Malonate 2.1.2) Microspheres On Experimental Glioblastoma
19th Annual Meeting ESMRMB, August 22-25, Cannes, France.
MAGMA, 2002, 15 sup1, #379.

C42 -Eliat PA, Chapon C, Lemaire L, Franconi F, De Certaines JD, Le Jeune JJ.
MRI texture analysis for the characterisation of myocardial infarction in rats
19th Annual Meeting ESMRMB, August 22-25, Cannes, France.
MAGMA, 2002, 15 sup1, #397.

C43 -Franconi F, Chapon C, Lemaire L, Lehmann V, Barantin L, Akoka S.
Quantitative MRI signal intensity changes measurement using a calibrated internal signal (ERETIC)
19th Annual Meeting ESMRMB, August 22-25, Cannes, France.
MAGMA, 2002, 15 sup1, #434.

C44- Fournier E, Passirani C, Montero-Menei CN, Vonarbourg A, Lemaire L, Menei P, Colin N, Bru N, Sagodira S and Benoit JP
5-FU loaded PMM 2.1.2-based micropsheres for the treatment of brain cancer.
IV world meeting on Pharmaceutics Biopharmaceutics Pharmaceutical Technology, FLorence Italy, April 2002.

C45- C. Chapon, L. Lemaire, F. Franconi, L. Marescaux, P. Legras, B. Denizot et J-J. Le Jeune
Assessment of myocardial infarction in rats using 3D T2-weighted MR imaging at 7T with superparamagnetic iron oxide nanoparticles
International Society For Magnetic Resonance In Medicine, Toronto, Canada, 2003.

C46- A.Pasco, A. Ter Minassian, D.Darabi, J.Y. Tanguy, B.Denizot, L. Lemaire, L.Beydon, J.J. Le Jeune, C.Caron.

Oedème cérébral et modifications de la barrière hémato-encéphalique en IRM chez le traumatisé crânien grave. à propos de 9 cas
Communication au X^{ème} congrès du GRAMM, Angers, 5-7 Février 2003

C47- L. Lemaire, C.Chapon, F. Franconi, J. Roux, J.J. Le Jeune
Microimagerie fonctionnelle embryonnaire in vivo
Communication aux X^{ème} congrès du GRAMM, Angers, 5-7 Février 2003

C48- Vonarbourg, A. Sapin, L. Lemaire, F. Franconi, A. Clavreul, P. Menei, J.J. Le Jeune
Caractérisation à haut champ de gliomes expérimentaux 9L et F98 : suivi du rapport de transfert d'aimantation et des temps de relaxation T1 et T2
Poster au X^{ème} congrès du GRAMM, Angers, 5-7 Février 2003

C49- V Piron, C Cavaro-Ménard, C. chapon, F. Franconi, L Lemaire
IRM du petit animal : segmentation du myocarde par modèle déformable
Poster au X^{ème} congrès du GRAMM, Angers, 5-7 Février 2003

C50- C. Chapon, L. Lemaire, F. Franconi, L. Marescaux, P. Legras, B. Denizot, J.J. Le Jeune
Evaluation de la viabilité myocardique chez le rat en IRM à 7T par double injection d'agents de contraste (Gd-DOTA) et nanoparticules d'oxyde de fer
Communication au X^{ème} congrès du GRAMM, Angers, 5-7 Février 2003

C51- C. Chapon, L. Lemaire, F. Franconi, L. Marescaux, P. Legras, B. Denizot, J.J. Le Jeune
Etude de l'infarctus du myocarde chez le rat en IRM 3D à 7T à l'aide de nanoparticules d'oxyde de fer
Communication au X^{ème} congrès du GRAMM, Angers, 5-7 Février 2003

10. LISTE DES ILLUSTRATIONS

- Figure 1 : Schéma des voies métaboliques du 5-fluorouracile..... 8
- Figure 2 : spectre RMN-19F d'une solution de 5-fluorouracile dont le véhicule est du (A) Trishydroxyméthylaminométhane ou (B) une solution aqueuse à pH~9..... 10
- Figure 3: Corrélation entre le pourcentage de variation de la masse tumorale et (A) le rapport NTP/Pi pré-traitement, (B) pH pré-traitement, (C) nucléotides totaux produits et (D) 5-fluorouracile accumulé. Les tumeurs en progression, non-progressives et dont le volume décroît avec le traitement sont notées respectivement P, S, et R. 12
- Figure 4: Corrélation entre la valeur du coefficient de diffusion apparent et le pourcentage de nécrose de la tumeur..... 13
- Figure 5: Corrélation entre le volume tumoral mesuré 7 jours post-traitement (en % du volume initial) et la valeurs du coefficient de diffusion apparent mesuré avant traitement. 13
- Figure 6: Comparaison de l'évolution du contraste entre tumeur et parenchyme cérébral en fonction du temps pour le T2 (●) le transfert d'aimantation (O) ou le coefficient de diffusion apparent (Δ)..... 15
- Figure 7: Microscopie électronique des microsphères de PLGA contenant du fluorouracile. 17
- Figure 8: Images pondérées T2 d'une tumeur C6, avant (A), 2 jours (B) 6 jours (C), 9 jours (D) et 12 jours (E) après injection intratumorale d'une solution de 5-fluorouracile. Sur l'image E, il est possible de constater que la tumeur pousse à partir de la région striatale où les cellules furent initialement injectées..... 18
- Figure 9: Images pondérées T2 d'une tumeur C6, avant (A), 2 jours (B,) 6 jours (C), 8 jours (D, 12 jours (E) et 19 jours (F) après injection intratumorale d'une suspension de microsphères de 5-fluorouracile. Sur l'image F, il est possible de constater que la tumeur pousse à partir de la région corticale alors que les cellules furent initialement injectées dans la région striatale..... 19
- Figure 10: Distribution de la radioactivité en fonction de la profondeur sous Bregma chez un rat contrôle (A) et chez un rat porteur d'une tumeur 168h après implantation stéréotaxique de microsphères chargées en fluorouracile tritiées. 20
- Figure 11: Images de gauche à droite en cartographie T2, T1, MT et en pondération ADC du gliome F98 23 jours après une inoculation de 1000 cellules (ligne supérieure) et du gliome 9L 25 jours après une inoculation de 1000 cellules (ligne inférieure)..... 22
- Figure 12: Evolution des relaxivités r_1 et r_2 de différents produits de contraste en fonction du champ magnétique..... 26
- Figure 13: Cartographies de diffusion du segment C3 de la moelle épinière de rat. Les images sont calculées à partir d'acquisitions où le gradient de diffusion était dans l'axe de la moelle (gauche) ou perpendiculaire à cette axe dans la direction de codage de phase (centre) et de fréquence (droite). 27

- Figure 14: Images pondérées T2 (TE = 10 ms (A), 60 ms (B) et 120ms(C) et en transfert d'aimantation ($\alpha = 0^\circ$ (D), 160° (E), 542° (F) et 1064° (G) du segment C3 de la moelle épinière de rat. 28
- Figure 15: Images pondérées T2 de myocarde de rat (5 heures après ligature de la coronaire gauche) avant (a) et 3 minutes après injection IV de 10 mg Fe/kg de nanoparticules (b). Les images (c) et (d) correspondent respectivement à la situation avant et 3 minutes après l'injection IV de 10 mg Fe/kg de nanoparticules, 48 heures après l'occlusion permanente. VD : ventricule droit ; SI : septum interventriculaire ; VG : ventricule gauche. 30
- Figure 16: Images pondérées T1 avant injection d'agent de contraste (a) et 20 minutes après injection de Gd-DOTA (0,2 mmol/kg) (b) avec les courbes d'évolution de l'intensité du signal correspondantes (c). VD : paroi libre du ventricule droit ; SI : septum interventriculaire (■) ; VG : paroi libre du ventricule gauche nécrosée (Δ) ; ZPI : zone péri-ischémique (●). 31
- Figure 17: Images T2 avant injection (a) et après double contraste (Gd-DOTA/nanoparticules) (b) avec les courbes d'évolution de l'intensité du signal correspondantes (c). VD : ventricule droit ; SI : septum interventriculaire (■) ; VG : ventricule gauche nécrosée (Δ) ; ZPI : zone péri-ischémique (●). 32
- Figure 18: Evaluation de la taille de l'infarctus du myocarde avec les images pondérées T1 après injection de Gd-DOTA (barres noires), les images pondérées T2 après injection de Gd-DOTA puis de nanoparticules d'oxyde de fer (barres grises), et avec coloration TTC (barres blanches). 33
- Figure 19: Comparaison d'un spectre obtenu in vivo avec les conditions classiques (en haut) et d'un spectre obtenu avec le filtrage digital, le suréchantillonnage et la compression des données en ligne en bas). Ces spectres ont été obtenus sur un volume de 16 μ l localisé dans le striatum d'un cerveau de rat. 36
- Figure 20: Imagerie de contraste dynamique de la clearance rénale chez le rat. Le rénogramme (a) présenté correspond au signal mesuré dans le rein corrigé par la méthode de référence ERETIC. Le suivi temporel (b) des variations de signal pour la méthode ERETIC et pour le tube de référence externe est aussi présenté. 37
- Figure 21: Embryon de souris in utero au stade embryonnaire E11/12 (gauche) et E14/15 (droite)..... 39
- Figure 22: Coupes coronale (gauche) et saggitale (droite)d'embryons de souris in utero au stade embryonnaire E15/16. 39
- Figure 23: Evolution du signal au niveau du rein et de la vessie embryonnaire (gauche) et maternel(droite) en fonction du temps post-injection IV de Gd-DOTA. Noter l'effet T1 observé sur l'embryon lié au passage limité de Gd-DOTA au travers du placenta) et l'effet T2 au niveau maternelle ou un passage massif est observé..... 40