



**Ecoulement et transport convectif lors d'injections
locales dans le tissu cérébral sain et tumoral :
Quantifications par imagerie et développements
prédictifs**

Sébastien Besse

► **To cite this version:**

Sébastien Besse. Ecoulement et transport convectif lors d'injections locales dans le tissu cérébral sain et tumoral : Quantifications par imagerie et développements prédictifs. Ingénierie biomédicale. Université Joseph-Fourier - Grenoble I, 2010. Français. NNT : . tel-00555672

HAL Id: tel-00555672

<https://theses.hal.science/tel-00555672>

Submitted on 14 Jan 2011

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.



UNIVERSITÉ DE GRENOBLE

THÈSE

Pour obtenir le grade de

DOCTEUR DE L'UNIVERSITE DE GRENOBLE

Spécialité : Biotechnologie, instrumentation, signal et imagerie
pour la biologie, la médecine et l'environnement

Arrêté ministériel : 7 Aout 2006

Présentée et soutenue publiquement par

Sébastien Besse

Le 27 Octobre 2010

**Ecoulement et transport convectif
lors d'injections locales dans le tissu cérébral sain et tumoral :
Quantifications par imagerie et développements prédictifs**

Thèse dirigée par Hélène Elleaume et codirigée par François Estève

JURY

François Berger	PU-PH UJF/CHU, Grenoble	Président du jury
Franck Plouraboué	DR CNRS, Toulouse	Rapporteur
Jean Doucet	DR CNRS, Orsay	Rapporteur
Florence Schwarzenbach	Docteur en pharmacie, Le Pont-de-Claix	Examinatrice
Claudio Ferrero	Docteur des sciences, Grenoble	Examineur
François Estève	PU-PH UJF/CHU, Grenoble	Examineur

Invités : Hélène Elleaume, Emmanuel Barbier

Thèse préparée au sein du

Laboratoire Rayonnement Synchrotron et Recherche Médicale, U836, GIN 6,
dans l'Ecole Doctorale Ingénierie pour la Santé, la Cognition et l'Environnement

Résumé

La thérapie des tumeurs cérébrales invasives demeure aujourd'hui un véritable challenge en dépit des progrès réalisés en neurochirurgie, radiothérapie et chimiothérapie ces vingt dernières années. Les tumeurs solides sont des systèmes dynamiques présentant une forte hétérogénéité de structure et de vascularisation et qui varie d'une tumeur à une autre. La stratégie de délivrance des drogues dans ces tissus néoplasiques (cérébraux ou non) s'est révélée être un point critique dans le succès d'une chimiothérapie, notamment en raison de l'existence de mécanismes physiologiques intratumoraux s'opposant à une délivrance efficace dans l'ensemble du tissu tumoral. L'administration locale convective (Convection-Enhanced Delivery, CED) s'est avérée être une technique prometteuse pour distribuer par voie intracérébrale des volumes cliniquement significatifs d'agents thérapeutiques à des concentrations interstitielles élevées tout en réduisant les risques de toxicité systémique. Ce travail a porté sur l'étude de la distribution CED de traceurs *in vitro* pendant injection et *in vivo* en post-injection par deux modalités d'imagerie (imagerie par RMN et tomographie quantitative par rayonnement synchrotron). Les données *in vitro* ont été corrélées à un modèle numérique d'écoulement et de transport du traceur. Finalement, ces résultats sont discutés à la lumière des éléments prédictifs de la littérature. A ce jour, la compréhension et l'optimisation de la distribution CED de drogues *in vivo* pendant et après infusion restent une étape critique dans le traitement des tumeurs cérébrales et nécessitent davantage d'efforts.

Mots clés : CED, imagerie, IRM, TQRS, modélisation, gel agarose, animal, tumeur cérébrale

Abstract

Invasive cerebral brain tumors still remain a challenging topic today, despite improvements with surgical debulking, radiotherapy and chemotherapy of the last twenty years. Solid tumors are dynamic systems that involve strong structural and vascular heterogeneities, and that can vary from one tumor to another. Drug delivery strategies in these neoplastic tissues (cerebral or not) are reported as critical issues for chemotherapy success, in particular because of the existence of intratumoral physiological skills that oppose to efficient delivery of the drugs through the overall tumor tissue. Local convective delivery known as Convection-Enhanced Delivery (CED) has been reported as a promising technique to administrate through the intracerebral route clinically relevant volumes of therapeutic agents with high interstitial concentration levels while reducing the risks of systemic toxicity. We have quantified here the CED distribution of tracers *in vitro* during infusion and *in vivo* as post-infusion with two imaging modalities (NMR imaging and synchrotron radiation computed tomography). The *in vitro* data have been compared with a numerical model of flow and transport of the tracer. Eventually, these results are discussed by the light of theoretical models of the literature. To this day, the understanding and optimization of CED distributions of drugs *in vivo* during and after infusion remain a critical step for the treatment of cerebral brain tumors and require more efforts.

Key words : CED, imaging, MRI, SRCT, modeling, agarose gel, animal, brain tumor

sebes.contact@gmail.com

Remerciements

Tout d'abord, je souhaiterais remercier François Estève, directeur d'équipe et codirecteur de thèse, pour l'accueil dans le laboratoire. Merci de ta franchise tout au long du projet. Et merci pour la bossa nova des premières années, ça restera de bons souvenirs ! Merci à Hélène Elleaume pour avoir su me trouver une bourse de thèse. Ton meilleur conseil sur ces trois années aura été de « commencer par faire simple ».

Merci aux thésards Pierre Deman, Mathias Vautrin, Magali Edouard et Laure Bobyk. Pierre, j'aurais beaucoup apprécié de te cotoyer pendant ces trois années, pour le bossage jusqu'à pas d'heure, les nombreux fopen et dicomread, et pour arriver à faire *tout* ce que tu fais ; chapeau ! Mathias, merci pour les coups de main aux manips. Magali, magouille, *heu* Mag, merci pour ta bonne humeur de normande dans le 18.1.26.

Merci aux stagiaires du labo Charline Voileau, Clément Bluteau, Julien Le Bourhis, Marion Vincent, Baptiste Laurent, Florence Taupin et Fanny Marticke. Merci à Julien de m'avoir supporté pendant les derniers mois plutôt studieux !

Merci aussi à Jean-François Adam, Manuel Fernandez, Sylvain Bohic et Anne-Marie Charvet.

Je remercie également l'équipe ESRF-ID17, Géraldine Le Duc, Christian Nemoz, Elke Braeuer-Krisch, Thierry Brochard, Yolanda Prezado, Dominique Dallery, Michel Rénier, Paola Coan et Alberto Bravin. Merci à Christian pour nos discussions sur les données de tomographie. Merci Thierry pour ton expertise de CAO et bien d'autres. Merci à Géraldine et Dominique pour le support fourni pour l'expérimentation animale. Merci aux thésards, Immaculada Martinez-Rovira, Paul Diemoz et Erminia Fardone.

Merci également aux collègues d'ID19, Françoise Peyrin, Cécile Olivier, Paul Tafforeau, Vincent Fernandez, Michael Herbig et Renaud Boistel.

Je remercie chaleureusement Claudio Ferrero pour le support matériel apporté dans ce projet. Merci également à Lin Zhang pour nos échanges sur Ansys.

Merci à Michel Rochette et Sadek Cherhabili d'Ansys France pour les discussions pour la partie modélisation du projet.

Puis merci aux zikos, Raphael Serduc, Tuomas Pylkkanen, Willy Francisco Javier Martinez et Felix Jimenez Villacorta pour nos fabuleuses sessions rock à l'ESRF. Hommages à ID69, les 20 ans de l'ESRF, et le concert à Lyon !! Merci au captain Nemoz pour la contribution « Always on the run » !

Je remercie profondément ma famille et mes amis sur qui j'ai pu compter en toutes circonstances. Cette présence est inestimable.

Et enfin, je remercie Amalia. Sans Toi, je n'aurais jamais réussi à réunir le courage d'aller au bout de cette thèse.

Je dédie ce travail à la recherche pour la guérison du cancer, aussi infime que soit la brique apportée ici.

Sommaire

Introduction	1
1. Etat de l'art	5
1.1 Les tumeurs cérébrales	5
1.1.1 Epidémiologie	5
1.1.2 Traitements thérapeutiques conventionnels	7
1.1.2.1 Chirurgie	7
1.1.2.2 Radiothérapie	7
1.1.2.3 Chimiothérapie	7
1.2 Les méthodes d'administration des drogues dans les tumeurs cérébrales.....	8
1.2.1 Voie systémique	8
1.2.2 Voie intracérébrale	8
1.3 La Convection-Enhanced Delivery	9
1.3.1 Définition	9
1.3.2 Caractéristiques globales.....	9
1.3.2.1 Débit d'injection	10
1.3.2.2 Lésions des tissus.....	12
1.3.2.3 Géométries d'aiguille et nouvelles conceptions.....	14
1.3.2.4 Viscosité du fluide.....	20
1.3.2.5 Mécanismes de reflux.....	22
1.3.2.6 Volume de distribution <i>versus</i> volume injecté	25
1.3.2.7 Pression sur la ligne d'injection	26
1.3.2.8 Hétérogénéité et anisotropie des tissus.....	28
1.4 Spécificités du tissu cible.....	29
1.4.1 Le tissu cérébral sain	29
1.4.1.1 Descriptions micro- méso- et macroscopique	29
1.4.2 Le tissu cérébral tumoral	37
1.4.2.1 Angiogenèse et croissance tumorale	37
1.4.2.2 Pressions intratumorales	38
1.4.2.3 Modèles théoriques de physiologie tumorale.....	40
1.4.3 Résumé des propriétés des tissus cérébraux	52
1.5 Modèles prédictifs d'injection CED	53

1.5.1 Modèles analytiques en géométrie sphérique.....	53
1.5.1.1 Cas d'un milieu poreux homogène isotrope déformable : hydromécanique et transport	53
1.5.1.2 Cas d'un milieu poreux homogène isotrope rigide : hydrodynamique et transport.....	59
1.5.1.3 Injection CED en présence de tumeur	67
1.5.2 La CED : cahier des charges	72
Annexe 1.1 Classification WHO des tumeurs du système nerveux central [15]	74
Annexe 1.2 Solutions Analytiques de Smith <i>et al.</i> 2007 [92].....	75
2. Quantifications par IRM d'injections CED dans un fantôme de tissu cérébral	77
2.1 Matériels et méthodes expérimentales	78
2.1.1 Choix et préparation du gel	78
2.1.2 Protocole CED	78
2.1.2.1 Préparation des solutions d'injection.....	78
2.1.2.2 Dispositif expérimental.....	79
2.1.3 Quantifications par imagerie RMN du Gd-DOTA.....	81
2.1.3.1 Principe des quantifications	81
2.1.3.2 Paramètres d'acquisition de l'imagerie spin-écho	82
2.1.3.3 Mesures de calibrations	89
2.1.3.4 Reconstruction des cartes de concentration.....	91
2.1.3.5 Analyse des données	98
2.2 Résultats expérimentaux.....	101
2.2.1 Imagerie IRM du Gd-DOTA dans les gels	101
2.2.1.1 Quantité injecté et volume de distribution pendant l'injection.....	101
2.2.1.2 Cartes d'imagerie.....	103
2.2.1.3 Profils de concentration	103
2.2.1.4 Concentration dans un ROI en fonction du temps	104
2.2.1.5 Validations et estimations de l'erreur	106
2.3 Méthodes de calcul numérique	109
2.3.1 Cadre.....	109
2.3.2 Géométrie et maillage	109
2.3.3 Modèle.....	110
2.3.3.1 Mécanismes.....	110
2.3.3.2 Paramètre du modèle.....	111
2.4 Résultats expérimentaux et simulés	119

2.5 Discussion	121
2.6 Conclusion	122
Annexe 2.1 Validation algorithme sur gels calibrés.....	124
Annexe 2.2 Protocole préparation du gel agarose	126
Annexe 2.3 Calcul du résidu	127
3. Etude de la distribution CED d'iode <i>in vivo</i> par TQRS	129
3.1 Tomographie quantitative par rayonnement synchrotron.....	130
3.1.1 Introduction au rayonnement synchrotron	130
3.1.2 Imagerie médicale par rayons X et tomographie	132
3.1.2.1 Principes de base et cas d'un agent de contraste	132
3.1.2.2 Principe de la tomographie X	134
3.1.2.3 Quantifications pour un tissu avec agent de contraste.....	135
3.1.2.4 Valeur ajoutée du rayonnement synchrotron.....	137
3.1.3 Dispositif expérimental utilisé sur ID17.....	138
3.1.3.1 Monochromateur de tomographie	138
3.1.3.2 Dispositif d'imagerie tomographique.....	139
3.1.3.3 Caméra FReLoN	140
3.2 Modèle expérimental de tumeur.....	142
3.2.1 Modèle animal et tumoral.....	142
3.2.2 Protocole d'inoculation des cellules tumorales	142
3.2.2.1 Culture cellulaire.....	142
3.2.2.2 Protocole d'inoculation	143
3.3 Groupes et protocoles expérimentaux	144
3.3.1 Paramètres d'études CED	144
3.3.2 Dispositif et protocole d'injection CED.....	145
3.3.2.1 Système seringue - aiguille	146
3.3.2.2 Pompe d'injection.....	146
3.3.3 Acquisitions IRM et TQRS	148
3.3.3.1 Protocole et séquences d'imagerie IRM.....	148
3.3.3.2 Protocole d'imagerie X et chronologie des administrations d'iode	148
3.3.3.3 Imagerie iode CED des 3 rats sains : suivi cinétique.....	149
3.4 Analyse des données.....	149
3.4.1 Méthodes de quantification	150

3.4.1.1 Recalage des volumes.....	150
3.4.1.2 Analyse de la distribution d'iode CED.....	153
3.4.2 Résultats du groupe « rats sains ».....	156
3.4.2.1 Histogrammes de concentration d'iode.....	158
3.4.2.2 Suivi temporel post-injection	159
3.4.3 Résultats du groupe « rats porteurs de tumeurs »	160
3.4.3.1 Analyse des données CED.....	160
3.4.3.2 Analyse des données systémiques et comparaison avec les données CED	164
3.4.3.3 Recalage des données systémiques sur les données CED.....	165
3.4.3.4 Estimation du volume tumoral à partir des images systémiques	165
3.4.3.5 Comparaison données systémiques – données CED :.....	168
3.5 Discussion	177
3.6 Conclusion	183
Annexe 3.1 Comparaisons données iode systémique - iode CED	185
Annexe 3.2 Séquences IRM	188
4. Etude cinétique de la distribution CED de traceurs <i>in vivo</i> par TQRS et modulation tumorale	189
4.1 Modèle expérimental de tumeur.....	190
4.2 Paramètres expérimentaux.....	190
4.3 Dispositif d'injection CED	193
4.4 Acquisitions TQRS.....	193
4.5 Analyse des données	194
4.6 Résultats	194
4.6.1 Quantifications	194
4.6.2 Cartes 2D des distributions d'iode et d'or.....	198
4.7 Discussion	205
4.8 Conclusion	207
Conclusion	209
Bibliographie.....	213

Introduction

La thérapie des tumeurs cérébrales invasives demeure aujourd'hui un véritable challenge. Les traitements conventionnels sont à ce jour une exérèse chirurgicale quand cela est possible, une radiothérapie adjuvante avec une chimiothérapie par voie systémique. Malgré les efforts rapportés depuis les vingt dernières années dans le domaine, les statistiques de survie des patients n'ont guère progressées. Parmi les diverses raisons avancées pour l'échec de ces traitements, la distribution des drogues dans les tissus tumoraux lors d'une chimiothérapie s'est avérée être un paramètre critique. En effet, il est crucial d'administrer des concentrations de drogues thérapeutiques dans l'ensemble de la tumeur tout en limitant la toxicité périphérique. La durée d'exposition des cellules tumorales à l'agent *in vivo* est également un facteur pharmacocinétique de première importance. Or dans les tumeurs solides *in vivo* et *ex vivo* (cérébrales ou non), il a été rapporté que des mécanismes physiologiques intratumoraux viennent s'opposer à une délivrance efficace des drogues (Jain *et al.* 1988 [1], Baxter *et al.* 1989 [2], Boucher *et al.* 1990 [3]). En particulier, la vascularisation partiellement lésée des vaisseaux sanguins tumoraux, associée à une absence de vaisseaux lymphatiques dans ces tumeurs seraient responsables d'un mouvement convectif interstitiel qui chasserait toute espèce libre de l'interstitium du tissu tumoral vers l'interstitium sain périphérique, réduisant ainsi le temps de présence de l'agent dans la tumeur. De plus, les niveaux de concentrations atteints dépendent fortement de la stratégie de délivrance employée. La spécificité des tumeurs cérébrales par rapport aux autres tumeurs solides est liée à la présence de la barrière hémato-encéphalique dans le cerveau. Celle-ci permet la régulation des échanges entre le sang et le tissu cérébral, limitant très fortement dans le cas d'une administration systémique de drogues la concentration dans le parenchyme cérébral *sain*. Dans les tumeurs cérébrales, cette barrière est partiellement lésée, permettant une extravasation des drogues du sang vers l'interstitium tumoral. Cela dit, les concentrations interstitielles intratumorales que l'on peut espérer atteindre *in vivo* par cette méthode restent limitées par les risques de toxicité systémique pour les autres organes du corps. Parmi les techniques de délivrance d'agents dans le cerveau, on peut noter les administrations par voie intrathécale (*i.e.* dans le liquide cérébro-spinal), intraventriculaire (directement dans les ventricules cérébraux (cavités naturelles contenant également du liquide cérébro-spinal)) puis intracérébrales (administration locale *dans* le parenchyme). Parmi les techniques d'administration intracérébrales, on distingue deux méthodes principales : l'utilisation d'implants polymères chargés en drogues (placés dans le lit tumoral après exérèse chirurgicale) et l'administration locale convective (insertion d'une aiguille dans le tissu cible puis injection d'un volume de fluide contenant la drogue). Toutes ces méthodes à l'exception de l'administration locale convective sont basées sur un transport d'espèce dans les tissus par diffusion moléculaire (couplé le cas échéant aux mécanismes physiologiques du tissu cible). Un profil de concentration déterminé dans le tissu après ce type d'administration décroît alors typiquement selon une exponentielle (depuis l'espace sous-arachnoïdien pour la voie intrathécale, depuis les ventricules pour la voie intraventriculaire et depuis le polymère pour la voie locale de type implants polymériques) atteignant des concentrations thérapeutiques sur des distances de quelques millimètres seulement (Groothuis *et al.* 2000 [4]). L'administration locale convective

(appelée « Convection-Enhanced Delivery ») a été formalisée dans les années 1990 (Bobo *et al.* 1994 [5], Morrison *et al.* 1994 [6]), et permet, dans le contexte des tumeurs cérébrales, de contourner les limitations imposées par la barrière hémato-encéphalique saine et tumorale. Elle permet d'administrer des drogues sur des volumes de tissu ajustables (dépendamment du volume injecté) à des concentrations nettement plus élevées que par les autres voies, tout en réduisant les risques de toxicité systémique et cérébro-spinale. Malgré les forts avantages de cette technique, il reste toutefois des optimisations à apporter. En effet, les mécanismes d'écoulement et de transport interstitiel lors de ces infusions peuvent amener à des distributions non contrôlées dans des régions adjacentes non ciblées (espace sous-arachnoïdien, cavités ventriculaires, cavité tumorale de post-exérèse), induisant potentiellement des toxicités non désirées et réduisant le transport dans le volume cible. Un cas particulier est le reflux, lorsque qu'une partie du fluide et de son soluté remonte dans un espace annulaire le long de l'aiguille pendant l'injection (Morrison *et al.* 1999 [7]) ; cet aspect limite chez l'homme les choix de trajectoires de cathéters (morphologie cérébrale avec sillons contrairement au lissencéphale du petit animal). Par ailleurs, les mécanismes physiologiques intratumoraux semblent toujours à l'œuvre avec ce type d'administration et conduisent également à une distribution hétérogène et transitoire des drogues *in vivo* dans l'ensemble du tissu tumoral (Vavra *et al.* 2004 [8], Ali *et al.* 2006 [9]). Cette technique a suscité plus récemment l'attention d'une communauté de modélisation analytique et numérique pour compléter cette description expérimentale par des éléments prédictifs (Morrison *et al.* 1994, Morrison *et al.* 1999 [7], Sarntinoranont *et al.* 2003 [10], Raghavan *et al.* 2006, Linninger *et al.* 2008 [11], Raghavan *et al.* 2010 [12]).

Dans le cadre de cette thèse, nous avons focalisé notre intérêt sur cette technique d'administration locale convective de drogues, la « Convection-Enhanced Delivery » (CED). Le chapitre I de ce document décrit l'état de l'art non-exhaustif en la matière. Le descriptif a été fait de sorte à ce que le lecteur puisse prendre conscience d'un certain nombre de variables pouvant affecter une distribution CED *in vivo*. La seconde partie de ce chapitre consiste en un résumé, parfois détaillé, de modèles théoriques macroscopiques d'écoulement et de transport d'espèce dans les tissus cérébraux sains et tumoraux, posant les fondements de la compréhension des mécanismes physiques et biologiques à l'origine de la distribution observée des drogues et des traceurs dans ces tissus.

Les trois chapitres II, III et IV portent sur des études expérimentales CED *in vitro* et *in vivo* avec des caractérisations de distributions de traceurs avec deux modalités d'imagerie. La quantification par imagerie des distributions *in situ* des agents injectés est déterminante pour déterminer la qualité d'une infusion, notamment vis-à-vis du risque de reflux. Elle permet également d'étudier l'influence du protocole d'injection CED sur les distributions observées.

Nous avons dans un premier temps développé une méthode de suivi par imagerie IRM d'un agent de contraste (Gd-DOTA) administré par CED *in vitro* dans des gels d'agarose faiblement concentrés (chapitre II). Les gels d'agarose sont utilisés ici en tant que tissu cérébral équivalent possédant des propriétés de transport homogène et isotrope, simplifiant les relations entre paramètres d'injection

et distributions observées. Ces données d'imagerie IRM ont été corrélées avec un modèle numérique d'écoulement et de transport CED en géométrie réaliste.

Des études *in vivo* (chapitre III et IV) ont ensuite été réalisées au synchrotron de Grenoble (ESRF) afin de quantifier par tomographie X quantitative à haute résolution spatiale les distributions de traceurs (agent de contraste iodé et nanoparticules d'or) dans le cerveau de rats sains ou porteurs de tumeurs F98 implantées. Nous avons notamment mis en place une méthodologie d'analyse permettant de superposer le volume d'agent de contraste avec le volume tumoral estimé afin d'en déduire un pourcentage de recouvrement spatial en fin d'injection. Un suivi cinétique de post-injection a également été effectué afin de corréler l'évolution temporelle des concentrations avec les conditions expérimentales d'injection.

1. Etat de l'art

1.1 Les tumeurs cérébrales

1.1.1 Epidémiologie

En 2008, 12.7 millions de nouveaux cas de cancer sont apparus dans le monde - tous cancers confondus à l'exception des cancers de la peau de type non-mélanome - et 7.6 millions d'individus en sont décédés (Ferlay *et al.* 2010 [13]). Parmi les différents types de cancer, ceux du système nerveux central représentent un faible nombre. En effet, comme l'indique la Figure 1 ci-dessous, en 2008 en Europe, leur incidence est de 6.8 pour 100 000 personnes, soit 40 170 cas, et leur taux de mortalité est de 5.1 pour 100 000 personnes, soit 31 434 décès (hommes et femmes confondus, taux standardisé sur l'âge, Observatoire Européen du Cancer). Aux Etats-Unis entre 2004 et 2006, l'indice des tumeurs primaires du cerveau et du système nerveux central (SNC) est de 18.71 par 100 000 personnes, dont 7.2 par 100 000 est associé à des tumeurs malignes (standardisé à l'âge, Central Brain Tumor Registry US [14]). Le pourcentage global de tumeur non maligne du SNC selon le type de registre varie de 49 à 71 %. Pour cette incidence globale, 7 % des cas sont constitués d'individus de moins de 20 ans. L'incidence selon l'âge est de 4.71 et 24.35 pour 100 000 personnes pour des tranches d'âge respectives de « 0 - 19 ans » et « 20 ans et plus ».

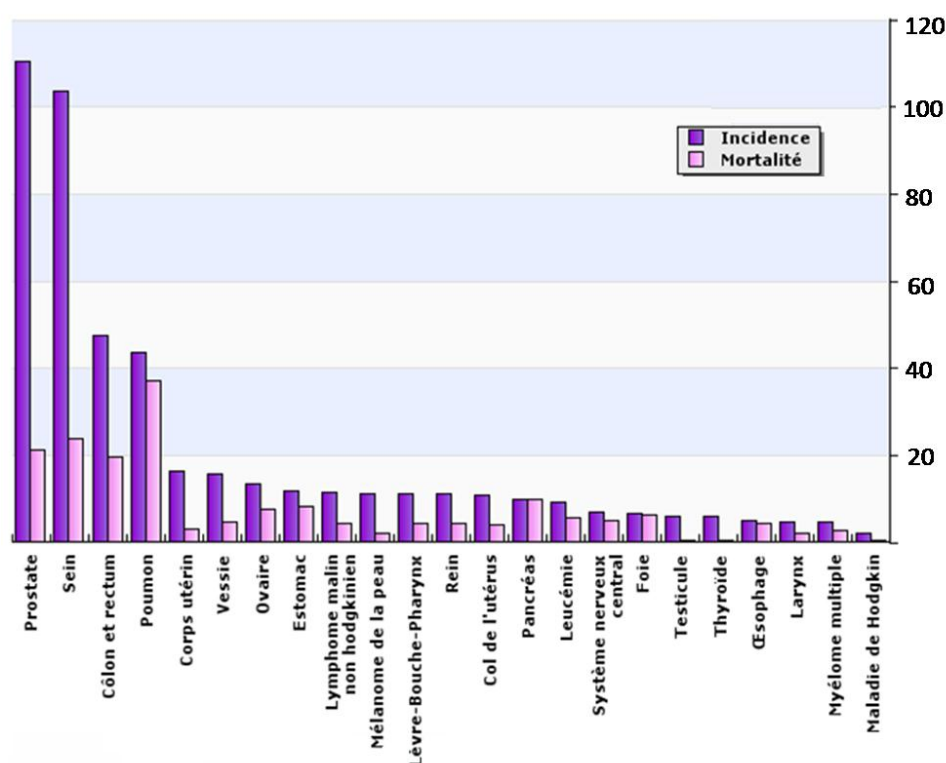


Figure 1: Estimation de l'incidence et de la mortalité chez les hommes et les femmes en Union Européenne en 2008 pour 100 000 personnes (Observatoire Européen du Cancer).

Les tumeurs primaires du cerveau et du système nerveux central sont classifiées en différents types, notamment selon leurs caractéristiques histologiques. La classification de la « World Health Organization » (WHO) a établi des grades, de I à IV, selon le caractère malin de la tumeur, I

correspondant à un caractère bénin et IV étant associé à une forte malignité. Cette classification histologique est un moyen de prédire le comportement biologique d'un néoplasme et fournit une indication clinique quant à la stratégie thérapeutique à suivre, par exemple dans le choix du type de radiothérapie ainsi que dans le choix d'une éventuelle chimiothérapie adjuvante. La version 2007 de cette classification est résumée dans la revue de Louis *et al.* [15, 16]. Un résumé succinct des types de tumeurs primaires du système nerveux central ainsi que de leur localisation anatomique est présentée sur la Figure 2 ci-dessous. Il existe une corrélation entre la topographie tumorale et la classe histologique pour les variétés les plus fréquentes, non représentées ci-dessous, mais dont on trouve une description par exemple dans Philippon *et al.* 2004 [17], p. 8.

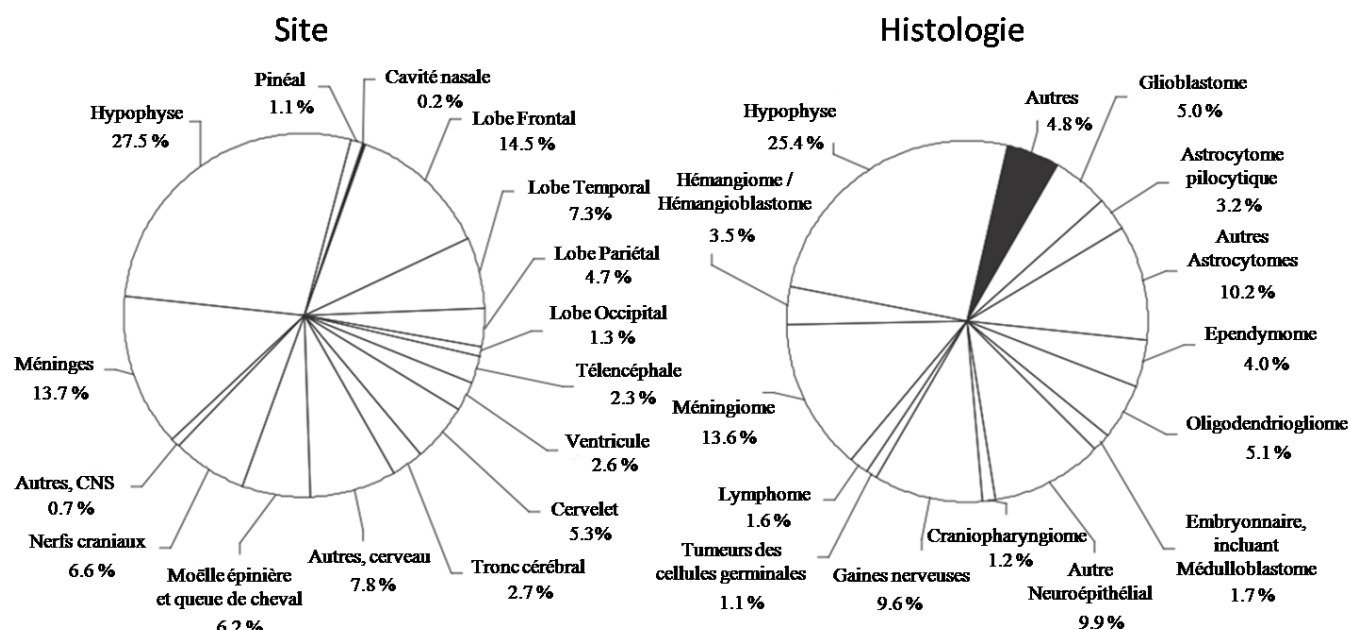


Figure 2 : Distribution des tumeurs primaires du cerveau et du système nerveux central chez de jeunes adultes (âges 20-34 ans, $N = 13\,414$) par topographie et histologie, d'après le rapport 2010 du Central Brain Tumor Registry of the US – données 2004 à 2006 [14].

D'après les statistiques de l'hôpital la Salpêtrière à Paris regroupées chez l'adulte entre 1994 et 2000, soit 2168 tumeurs opérées au service de neurochirurgie, trois grandes catégories de tumeurs cérébrales sont observées : 29 % sont des méningiomes, 28 % des gliomes, également appelés tumeurs gliales, 18.5 % des métastases, 9 % des schwannomes et neurofibromes, 4.9 % des tumeurs de la région sellaire, 4.1 % des lymphomes et 7.5 % des tumeurs de diverses variétés histologiques. Parmi les gliomes, 20 % sont des glioblastomes et 8 % des astrocytomes et oligodendrogliomes (Philippon *et al.* 2004 [17]).

A titre informatif, les méningiomes sont des tumeurs situées dans les méninges, membranes conjonctives qui enveloppent l'encéphale et la moëlle épinière, et sont généralement issues de granulations arachnoïdiennes. Les tumeurs métastatiques sont, quant à elles, issues de la prolifération de cellules cancéreuses à distance d'une tumeur primaire, transportées typiquement par voie sanguine. On compte environ 20 % de patients atteints de cancer pour lesquels seront trouvés des métastases cérébrales lors de l'autopsie (Nguyen *et al.* 2004 [18]). Les carcinomes des poumons et du sein sont à l'origine de 60 % de ces métastases cérébrales, avant le mélanome, le cancer du côlon et le carcinome rénal.

La classification WHO des tumeurs gliales indiquent que : les gliomes de grade I ont généralement un bon pronostic ; ceux de grade II sont associés à une survie médiane de 5 à 8 ans ; les gliomes de grade III de type astrocytome anaplasique sont associés à 3 ans de survie médiane ; les glioblastomes, les plus agressifs, constituent les gliomes de grade IV et sont associés à une survie médiane de 12 à 18 mois seulement. Les oligodendrogliomes appartiennent histologiquement aux gliomes de classe II et III selon les cas (Gladson *et al.* 2010 [19]).

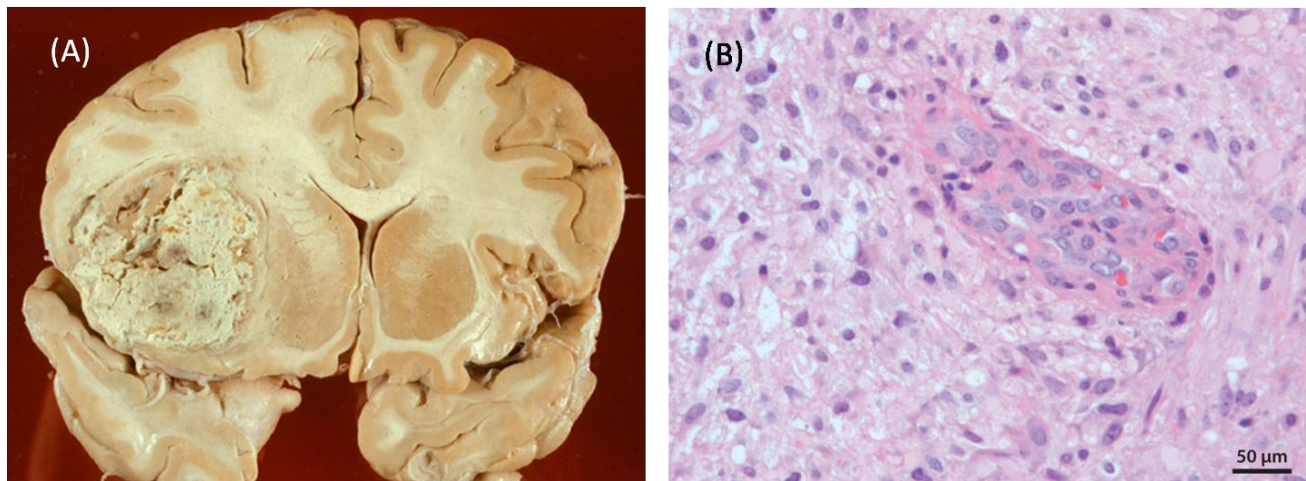


Figure 3 : (A) Coupe d'un cerveau humain indiquant à gauche la présence d'un glioblastome. (B) Coupe histologique d'un glioblastome avec marque H&E (d'après Gladson *et al.* 2010 [19]). La prolifération de cellules endothéliales (angiogenèse) apparaît au centre de la photo.

1.1.2 Traitements thérapeutiques conventionnels

1.1.2.1 Chirurgie

Le traitement conventionnel des tumeurs cérébrales est une exérèse chirurgicale de la tumeur. Elle est pratiquée quand c'est possible et avec des marges aussi lointaines que possible (Carpentier *et al.* 2008 [20]). Elle permet notamment de réduire l'effet de masse (compression des tissus adjacents, hernie).

1.1.2.2 Radiothérapie

La chirurgie est généralement suivie de radiothérapie adjuvante, permettant significativement la survie de patients atteints de gliomes. La plupart des patients reçoivent une dose totale de 55 à 60 Gy, souvent par fractions de 2 Gy, sur une région englobant la tumeur avec une marge latérale additionnelle de 2 cm. Des efforts ont été menés pour intensifier la radiothérapie de façon très localisée dans le lit tumoral, notamment avec des techniques comme la brachythérapie, des radiosensibilisateurs ou des sources radioactives, mais cela n'a pas conduit à une augmentation supplémentaire de la survie.

1.1.2.3 Chimiothérapie

Les drogues de chimiothérapie sont utilisées seules ou en combinaison avec une irradiation cérébrale afin d'augmenter la survie, bien que l'effet combiné soit encore controversé. Ces agents

antinéoplasiques ont pour but de limiter la croissance de la tumeur et le cas échéant de la traiter complètement. De nombreuses molécules existent pour cela, et possèdent divers mécanismes d'actions biologiques qui ne sont pas explicités ici (Arko *et al.* 2010 [21]).

1.2 Les méthodes d'administration des drogues dans les tumeurs cérébrales

Parmi les techniques de délivrance d'agents dans le cerveau, on peut noter les administrations par voie intrathécale (*i.e.* dans le liquide cérébro-spinal), intraventriculaire (directement dans les ventricules cérébraux (cavités naturelles contenant également du liquide cérébro-spinal)) puis intracérébrales (administration locale *dans* le parenchyme). Parmi les techniques d'administration intracérébrales, on distingue deux méthodes principales : l'utilisation d'implants polymères chargés en drogues (placés dans le lit tumoral après exérèse chirurgicale) et l'administration locale convective (insertion d'une aiguille dans le tissu cible puis injection d'un volume de fluide contenant la drogue). Toutes ces méthodes à l'exception de l'administration locale convective sont basées sur un transport d'espèce dans les tissus par diffusion moléculaire (couplé le cas échéant aux mécanismes physiologiques du tissu cible). Un profil de concentration déterminé dans le tissu après ce type d'administration décroît alors typiquement selon une exponentielle (depuis l'espace sous-arachnoïdien pour la voie intrathécale, depuis les ventricules pour la voie intraventriculaire et depuis le polymère pour la voie locale de type implants polymériques) atteignant des concentrations thérapeutiques sur des distances de quelques millimètres seulement (Groothuis *et al.* 2000 [4]).

1.2.1 Voie systémique

L'emprunt de la voie systémique pour délivrer des drogues dans les tumeurs cérébrales est basé sur le fait que la barrière hémato-encéphalique, qui régule normalement les échanges entre le sang et le parenchyme cérébral, est partiellement lésée dans le tissu tumoral. Ce mécanisme est ainsi exploité pour distribuer des drogues par la voie systémique dans l'interstitium tumoral. Cela dit, les distributions *in situ* d'agents ne sont pas nécessairement homogènes, à l'image de l'hétérogénéité structurale et vasculaire de ces tissus, et les concentrations obtenues sont généralement faibles (Vavra *et al.* 2004 [8], Ali *et al.* 2006 [9]).

1.2.2 Voie intracérébrale

La voie intracérébrale permet de contourner la barrière hémato-encéphalique, et donc d'augmenter les concentrations d'agents administrées tout en réduisant la concentration systémique, soit une moindre toxicité systémique. On distingue plusieurs types d'administrations locales : le placement de polymères chargés en drogues dans le lit tumoral après résection chirurgicale ; une injection dans les ventricules (voie intra-cisternale) (Pluta *et al.* 2009[22], Glantz *et al.* 2010 [23]) ; une injection dans l'espace sous-arachnoïdien (voie intrathécale) au niveau de la moelle épinière par exemple (Pluta *et al.* 2009 [22], Baumann *et al.* 2010 [24], Schoichet *et al.* 2007 [25], Malkmus *et al.* 2004 [26] ; la Convection-Enhanced Delivery (CED) qui consiste en une injection

directe dans le tissu. On notera que l'ensemble de ces méthodes à l'exception de la CED présente une distribution difficilement ciblée spatialement, avec un volume de distribution qui dépend du poids moléculaire et des propriétés de diffusion de la molécule considérée.

1.3 La Convection-Enhanced Delivery

1.3.1 Définition

La Convection-Enhanced Delivery, proposée par Bobo et al. 1994 [5], consiste en une injection locale de drogue dans le tissu cible (dans notre contexte, une tumeur cérébrale) avec un débit d'injection faible et contrôlé. Cette méthode permet de distribuer l'agent thérapeutique sur des volumes importants comparés aux méthodes conventionnelles, tout en présentant des concentrations interstitielles élevées avec une exposition systémique minimale. Techniquement, Morrison *et al.* 1994 [6] ont défini la CED par des débits d'injection compris entre 0.5 et 6 $\mu\text{L} \cdot \text{min}^{-1}$. Physiquement, le transport reste essentiellement convectif autour de cette plage. Pour de faibles débits, il existe l'injection par micro-pompe, *e.g.* les pompes osmotiques de Alzet®, implantables chez l'animal et permettant une délivrance de drogues à de très faibles débits contrôlés. Si la CED au sens défini par Morrison *et al.* 1994 [6] consiste en l'infusion à fort débit (« high flow microinfusion »), entre 0.5 et 6 $\mu\text{L} \cdot \text{min}^{-1}$, ils définissent également des injections à bas débit (« low-flow microinfusion ») par le débit à partir duquel le nombre de Peclet du tissu qui compare le transport convectif au transport diffusif devient inférieur à 1. Pour leur définition du nombre de Peclet, ce cas est satisfait pour un débit inférieur ou égal à 0.05 $\mu\text{L} \cdot \text{h}^{-1}$. Les débits d'injection proposés par Alzet® restent donc encore sur une plage de transport convectif, bien que ces débits soient nettement inférieurs aux débits usuels de CED.

1.3.2 Caractéristiques globales

De nombreux paramètres interviennent dans la distribution *in vivo* d'un agent administré par CED, *cf.* Figure 4 ci-dessous où les plus pertinents sont représentés. On s'intéresse plus particulièrement à la distribution de l'agent à la fin d'injection et également à sa cinétique de post-injection. Un expérimentateur peut ainsi choisir l'agent à administrer sur la base de ses propriétés physico-chimiques, par exemple un agent anti-néoplasique pour des tumeurs. Le protocole expérimental amène à choisir des paramètres physiques comme le fluide injecté, la géométrie de l'aiguille utilisée et les paramètres d'injection tels que le volume, le débit et le lieu d'injection. Pendant et après l'injection, le fluide et son soluté sont soumis à des mécanismes physiques mais également physiologiques et biochimiques. Les mécanismes physiologiques sont typiquement la réabsorption du fluide interstitiel et du soluté dans le sang au travers des parois micro-vasculaires. Dans le cas d'injections dans des structures autres que le cerveau, les vaisseaux lymphatiques interviennent également dans la réabsorption. Les facteurs biochimiques sont ceux liés aux propriétés pharmacocinétiques du soluté, les échanges intra - extracellulaires, les interactions chimiques entre le soluté et la matrice extracellulaire ou la surface des cellules. Par ailleurs, la distribution de l'agent pendant et après l'injection est directement dépendante des propriétés macroscopiques du tissu

cible. En l'occurrence, sur la base d'un tissu décrit comme un milieu poreux saturé en liquide interstitiel, on considèrera comme de première importance les facteurs tels que la fraction volumique de liquide interstitiel, la perméabilité hydraulique et la tortuosité. On notera que ces propriétés des tissus sont hétérogènes et anisotropes dans le cerveau. Par exemple, les propriétés de la substance blanche et de la substance grise diffèrent (cf. section 3.4). Notamment, la substance blanche est connue pour être anisotrope de par la structure longitudinale de ses fibres. Le tissu tumoral est encore une autre catégorie pour laquelle il existe des hétérogénéités structurales propres spécifiques à une tumeur donnée. On peut également observer des différences de propriété pour un tissu donné, notamment la substance grise du cortex, dont la porosité varie par exemple selon la couche considérée (I, II, III, etc). On retiendra ici que la distribution transitoire des drogues administrées par CED est multi-factorielle, chaque paramètre agissant de façon mineure, modérée ou majeure sur la distribution. Tous ces paramètres s'inscrivent aussi dans une réalité expérimentale où il est observé que le fluide injecté dans le tissu a la tendance naturelle de suivre les chemins de moindre résistance hydraulique ce qui peut amener à des comportements instables :

- 1) le reflux apparaît lorsque le fluide et le soluté remontent le long de l'aiguille pendant l'injection ;
- 2) le fluide et le soluté risquent d'être transportés dans : (a) les cavités les plus proches, les ventricules cérébraux ou une cavité post-résection tumorale remplie de liquide (b) les faisceaux de substance blanche adjacents. Un cahier des charges associé à un protocole injection CED a été défini à la section 1.5.2, p. 72.

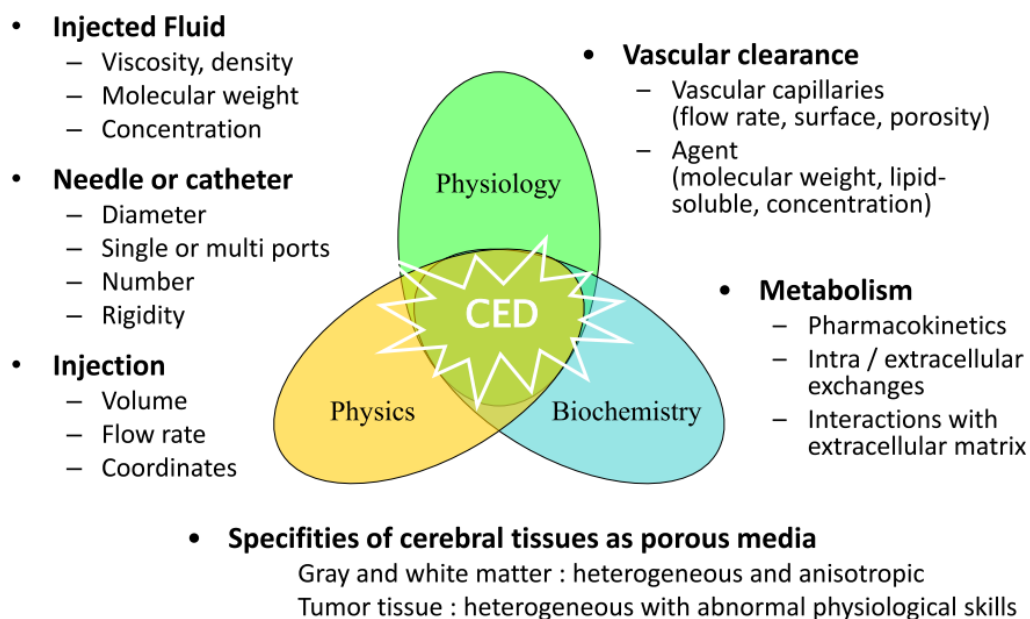


Figure 4 : Paramètres affectant la distribution d'un agent administré par CED dans un tissu cible.

Nous discutons, suite à cette introduction qualitative, plusieurs de ces paramètres ainsi que plusieurs caractéristiques expérimentales importantes.

1.3.2.1 Débit d'injection

On traite ici le cas d'une injection à débit imposé, à distinguer du cas d'injection à pression imposée. Le débit d'injection $Q_0 (\mu L \cdot min^{-1})$ imposé dans l'aiguille est un paramètre important dans la mesure

où il affecte la vitesse de sortie du fluide dans le tissu cible. En l'absence de reflux, la vitesse interstitielle, qui transporte le soluté dans le tissu, s'écrit sur la section de sortie S comme :

$$v_i = \frac{Q_0}{\phi S} \quad \text{avec } S = \pi d_{int}^2$$

Eq. 1

Où l'aiguille considérée est à simple port terminal, caractérisée par son diamètre interne d_{int} et son diamètre externe d_{ext} , ϕ étant la fraction volumique extracellulaire. D'un point de vue pratique, si l'injection consiste à administrer un volume donné V_i (μL), alors le débit détermine la durée de l'injection : $T_{inj} = Q_0/V_i$. Nous verrons au travers de ce manuscrit que le temps d'injection affecte d'une certaine façon la distribution de fin d'injection, étant donné que le temps disponible pendant lequel les mécanismes physiques et biologiques agissent dans le tissu n'est pas le même d'un débit à un autre.

Par ailleurs, le choix du débit conditionne fortement la présence ou non de reflux, *i.e.* l'écoulement du fluide le long de l'aiguille pendant l'injection, *cf.* §1.3.2.5 p. 22. Expérimentalement, pour des géométries classiques d'aiguilles, il est ainsi limité typiquement à des débits inférieurs à $5 \mu L \cdot min^{-1}$. Une valeur nominale de débit avec un reflux minimal qui a émergé de la littérature est $0.5 \mu L \cdot min^{-1}$.

Les travaux de Chen *et al.* 1999 [27] permettent de mettre en évidence l'influence du débit d'injection sur la présence ou non de reflux, pour des débits étant 0.1, 0.5, 1 et $5 \mu L \cdot min^{-1}$. Des injections de $4 \mu L$ de C^{14} -albumine sont pratiquées dans le striatum de rats sains avec une aiguille 32G. Ils trouvent, *cf.* Figure 5, que les débits 1 et $5 \mu L \cdot min^{-1}$ provoquent significativement plus de reflux de l'agent en dehors du striatum qu'aux débits 0.1 et $0.5 \mu L \cdot min^{-1}$. De plus, les volumes de distribution de l'agent (calculé à 15 % du signal maximal) ne sont pas statistiquement différents selon les débits. Le rapport moyen V_d/V_i pour les quatre débits est 5 ± 0.2 .

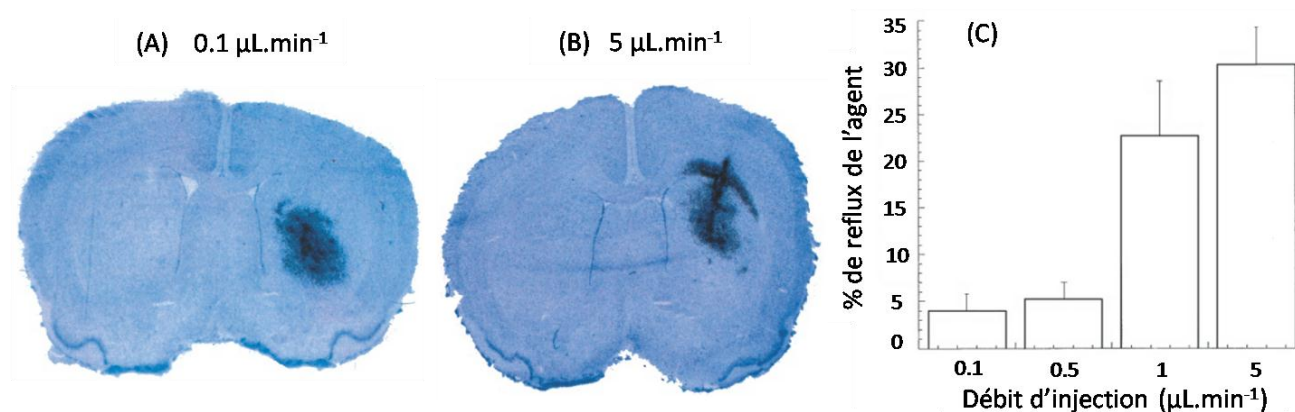


Figure 5 : Distribution de 4 µL de C¹⁴-albumine administrée à 0.1 (A) et 5 µL.min⁻¹ (B) avec une aiguille 32G dans le striatum de rats sains. Superposition d'une coupe histologique coronale avec l'autoradiographie correspondante. (C) Pourcentage de reflux en dehors du striatum (*i.e.* dans le corps calleux adjacent et le long de l'aiguille) selon le débit d'injection ($n = 4$ rats par débit). (d'après Chen *et al.* 1999 [27])

1.3.2.2 Lésions des tissus

L'insertion dans le tissu cérébral sain d'une aiguille suivie d'une injection génère naturellement des dommages tissulaires locaux, dans de plus ou moindres grandes proportions (Carson *et al.* 2002 [28], Cunningham *et al.* 2008 [29]). Au niveau local, l'insertion de l'aiguille déplace et cisaille le tissu au fur et à mesure de la pénétration. L'injection qui s'en suit induit un champ de pression interstitielle décroissant typiquement en $1/r$, déformant éventuellement le tissu selon le débit d'injection et le diamètre interne de l'aiguille.

Cunningham *et al.* 2008 [29] comparent par exemple dans le tissu cérébral de rat sain (striatum) l'impact de microinfusions ($0.125 \mu\text{L} \cdot \text{h}^{-1} \cong 2 \times 10^{-3} \mu\text{L} \cdot \text{min}^{-1}$) par pompe osmotique sur la structure des tissus pour deux diamètres de canules. Ils évaluent pour chacun d'eux le niveau de traumatisme et la formation de gliose réactive après 5 jours d'infusion de solution saline ($V_i = 15 \mu\text{L}$), *cf.* Figure 6 ci-dessous. Ils trouvent que la canule standard (320 µm de diamètre externe) déplace systématiquement une certaine surface de tissu localement, associé à l'accumulation de sang autour du site d'infusion. La comparaison des coupes avec marquage immunochimique de la GFAP montre que la gliose réactive en réponse à l'implantation et l'infusion est plus prononcée pour la canule standard que pour la micro-canule.

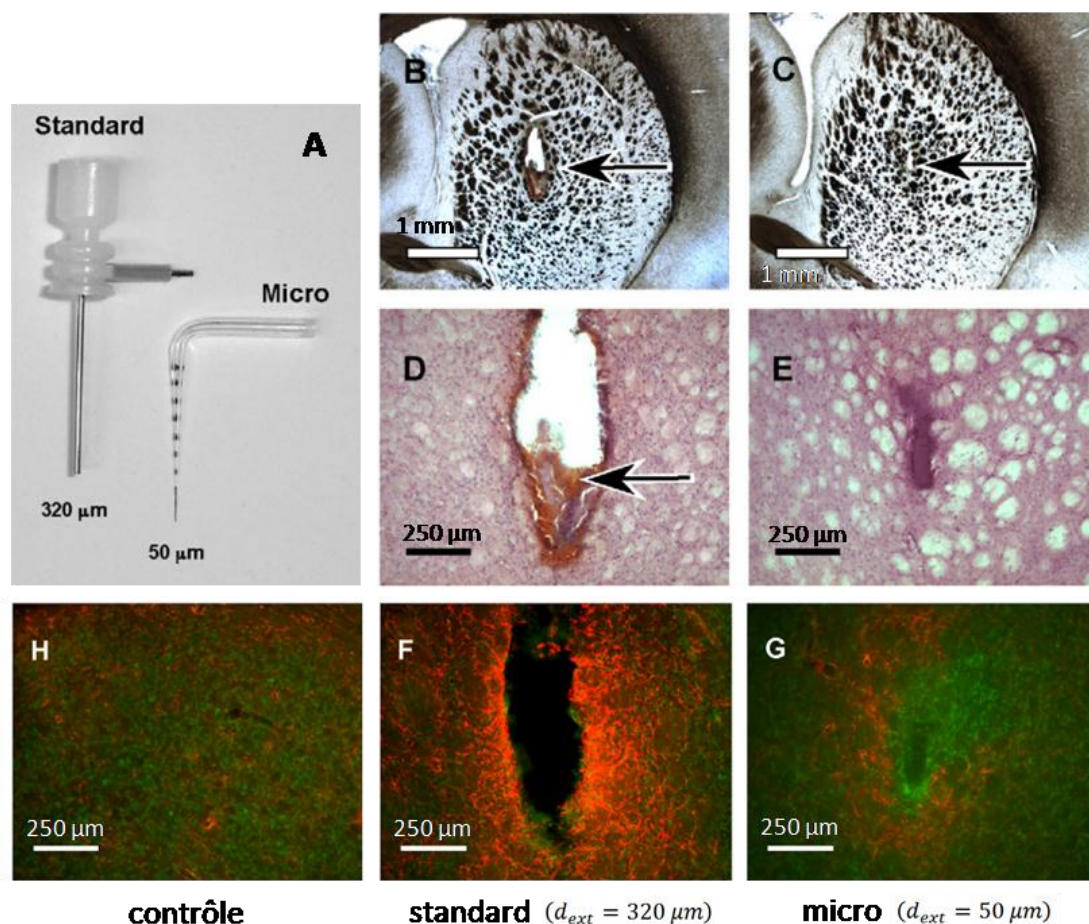


Figure 6 : Evaluation de l'architecture des tissus après 5 jours de microinfusion de 15 μL de solution saline dans le striatum de rats sains, en fonction du diamètre de la canule. (A) La canule classique présente un diamètre externe de 320 μm contre 50 μm pour la canule modifiée. (B) et (C) indiquent les sections coronales des tissus sans coloration. La canule standard provoque de plus grands dommages que celle de 50 μm . (D) et (E) Colorations H&E des tissus correspondant au zoom de (B) et (C). La lésion est effectivement plus importante pour le gros diamètre : déformation du tissu et accumulation de sang dans la cavité. (H-F-G) Immunofluorescence contre la GFAP, produite par les astrocytes durant le processus de gliose en réaction au traumatisme. (Cunningham *et al.* 2008 [30])

Guarnieri *et al.* 2002 [28] ont évalué la faisabilité de microinfusions (pompes Alzet®, canules 25 et 27 G) de carboplatine sur un modèle de tumeur du tronc cérébral chez le rat. Leur étude préliminaire consistait en la microinfusion de solution saline dans le tronc cérébral de rats sains avec des débits entre 1, 2.5, 5 et 10 $\mu\text{L} \cdot \text{h}^{-1}$. Ils trouvèrent que des injections chroniques dans cette structure pour un débit supérieur ou égal à 2.5 $\mu\text{L} \cdot \text{h}^{-1}$ pouvait induire une morbidité significative, alors que bien tolérés dans le reste du cerveau. A 10 $\mu\text{L} \cdot \text{h}^{-1}$, 5 / 5 rats étaient décédés à J+14 après début d'infusion. Pourtant, l'analyse microscopique des tissus marqués H&E (Hémaroxyline-Eosine) ne révéla rien de particulier si ce n'est de faible taux de gliose et de micro-hématomes près de la sortie de la canule, et il était même difficile de repérer la trace de celle-ci après retrait chirurgical. Les rats injectés à 5 $\mu\text{L} \cdot \text{h}^{-1}$ dans le reste du cerveau étaient tous vivants à J+14.

Concernant des injections à plus fort débit, à partir de 0.5 $\mu\text{L} \cdot \text{min}^{-1}$ (30 fois plus fort qu'à 1 $\mu\text{L} \cdot \text{h}^{-1}$), Krauze *et al.* 2005 [31] suggèrent la présence de modifications architecturales du tissu après l'infusion [31]. Ils réalisent par exemple des injections de bleu trypan dans le striatum de rats sains à différents débits d'injections, avec un cathéter d'infusion censé empêcher le mécanisme de reflux pendant l'injection (« step-design cannula », cf. Figure 11). Les débits testés sont

respectivement 0.5, 5, 10, 20 et 50 $\mu\text{L} \cdot \text{min}^{-1}$ pour un volume d'injection de 10 μL . Les coupes histologiques avec colorant ou solution saline seule et les volumes de distribution du colorant dans le tissu (analyse coupe par coupe de l'aire de distribution) sont représentés par débit sur la Figure 7 ci-dessous. Les coupes à 10 et 50 $\mu\text{L} \cdot \text{min}^{-1}$ révèlent des dommages structurels du tissu malgré l'absence de reflux constaté en (A).

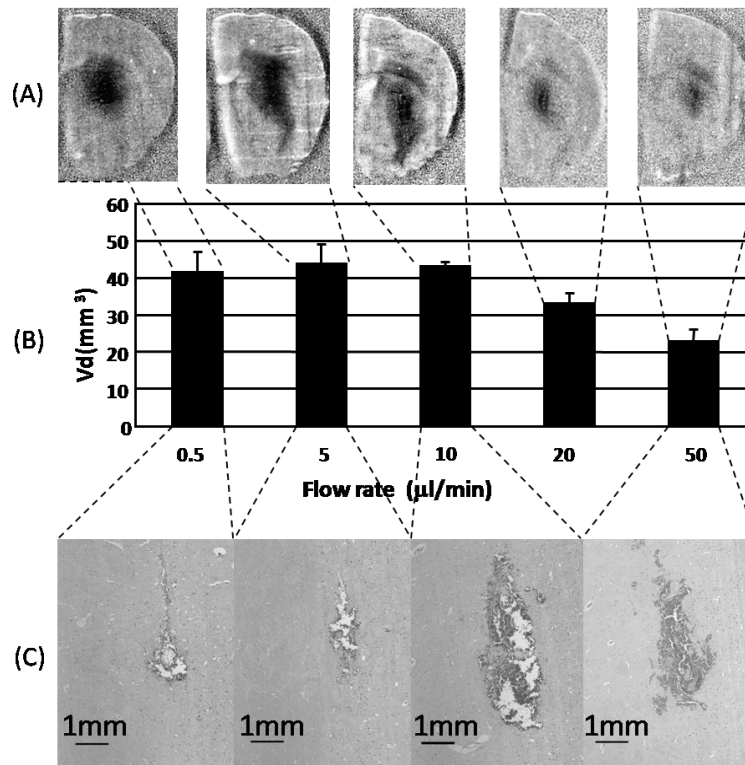


Figure 7 : Influence du débit d'injection sur le striatum de rats sains par des injections de 10 μL de bleu trypan avec une « step design cannula ». (A) Coupes histologiques montrant la distribution de colorant restreinte au striatum (pas de reflux), même à des débits supérieurs à 5 $\mu\text{L} \cdot \text{min}^{-1}$. (B) Volumes de distributions du colorant dans le tissu. (C) Coupes histologiques avec marquage H&E, représenté à l'extrémité de l'aiguille. (d'après Krauze *et al.* 2005 [31])

1.3.2.3 Géométries d'aiguille et nouvelles conceptions

La géométrie de l'aiguille est un paramètre critique en ce qui concerne les lésions des tissus. C'est également le choix de la géométrie qui va affecter la distribution de pression et vitesse interstitielle du fluide dans le tissu adjacent. On notera en effet qu'il est souhaitable de choisir de faibles diamètres d'aiguille pour limiter le mécanisme de reflux, cf. §1.3.2.5 p. 22.

On distingue ici deux classes de géométrie d'aiguille : les géométries conventionnelles où l'on parlera uniquement de diamètre interne et externe avec éventuellement un biseau ; puis les géométries originales qui ont été développées dans la littérature pour faire face à certaines limitations comme par exemple pour réduire le risque de reflux pendant l'injection ou bien augmenter le volume de distribution en augmentant la surface d'échanges fluide - tissu. Les dimensions courantes d'aiguilles qu'on retrouve par exemple chez Hamilton® sont représentées sur la Figure 8 ci-dessous.

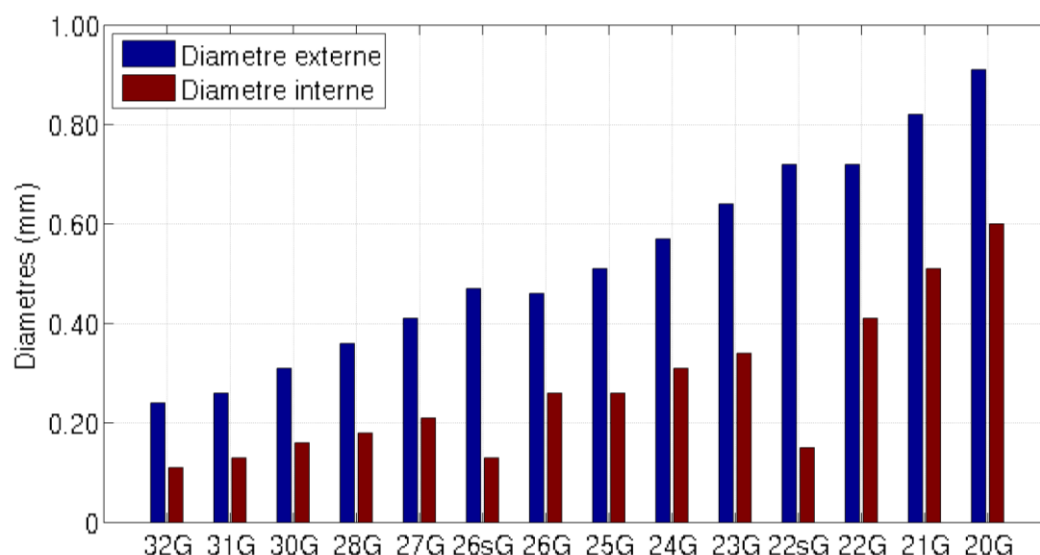


Figure 8: Représentation pour les aiguilles Hamilton® des diamètres internes et externes selon la taille en Gauge. Le modèle « s » correspond au même diamètre externe que sans « s » mais avec un diamètre interne plus réduit.

Chen *et al.* 1999 [27] que nous avons introduits à la section précédente ont également évalué dans les mêmes conditions expérimentales l'influence de la taille de l'aiguille (22G, 28G et 32G) sur la distribution de 4 μL de C^{14} -albumine dans le striatum de rats sains à $0.5 \mu\text{L} \cdot \text{min}^{-1}$, cf. Figure 9 ci-dessous. Ils trouvent que le reflux avec l'aiguille 32G est significativement moindre que celui avec les aiguilles 22 et 28 G. Les volumes de distribution ne sont pas statistiquement différents pour les trois aiguilles.

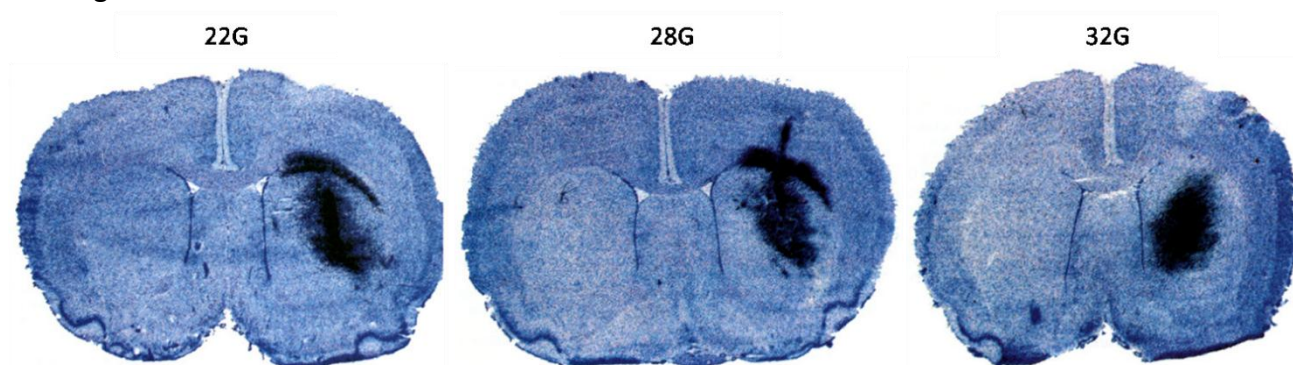


Figure 9 : Distribution de 4 μL de C^{14} -albumine administrée à $0.5 \mu\text{L} \cdot \text{min}^{-1}$ dans le striatum de rats sains avec une aiguille de dimension 22G, 28G ou 32G ($n = 4$ rats par type d'aiguille). Superposition d'une coupe histologique coronale avec l'autoradiographie correspondante. L'utilisation des aiguilles 22G et 28G entraînent significativement plus de reflux hors du striatum ($35.7 \pm 8.1\%$ et $21.1 \pm 7.5\%$ respectivement) que pour l'aiguille 32G ($5.2 \pm 3.6\%$). (d'après Chen *et al.* 1999 [27])

Plus récemment, de nouvelles géométries d'aiguille ou de cathéter ont émergé de la littérature, cf. Figure 10. Le besoin d'aller vers ces nouvelles conceptions résulte du fait que le reflux n'est toujours pas maîtrisé expérimentalement, étant donné les déformations locales du tissu à la sortie de l'aiguille pendant l'injection. Un des buts premiers est donc de trouver un dispositif qui permet de réduire le reflux et d'augmenter en conséquence l'écoulement convectif à la sortie de l'aiguille pour améliorer le transport interstitiel dans la région cible. Une seconde considération, associée à la première, est que cliniquement parlant, les volumes à injecter sont bien plus importants que pour des rats (rapport des volumes cérébraux d'environ 2000). Et étant donné les limitations en débits (borne maximale) pour cause de reflux, un petit volume de 1 mL ($= 1 \text{ cm}^3$) infusé à

$1 \mu L \cdot min^{-1}$ par exemple prendrait 17 h. Des méthodes autorisant l'augmentation de débit sans reflux significatif pourrait s'avérer plus simple à mettre en œuvre cliniquement. Un troisième point est que des efforts doivent être portés sur la maximisation du potentiel d'augmentation du volume de distribution lié au choix de l'aiguille. On retrouve pour cela des géométries d'aiguille qui cherchent à maximiser la surface d'échanges entre le fluide chargé en soluté dans le lumen de l'aiguille et le tissu adjacent (Raghavan *et al.* 2006 [32], Oh *et al.* 2007 [33]).

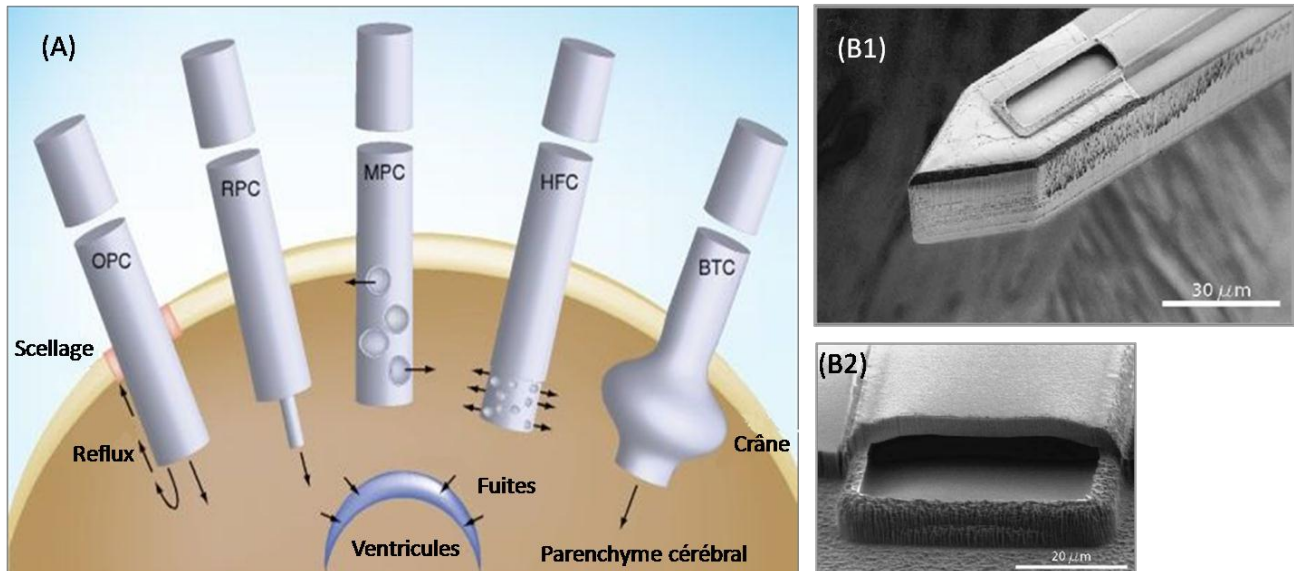


Figure 10 : (A) Schéma qualitatif des nouvelles géométries d'aiguilles ou cathéters développés pour la CED. Les enjeux sont notamment d'augmenter le débit d'injection tout en réduisant le risque de reflux et les fuites dans les cavités physiologiques, ainsi que d'augmenter la profondeur de pénétration des drogues. OPC : « one port catheter » ; RPC : « reflux-preventing catheter » ; MPC : « multiple port catheter » ; HFC : « hollow fiber catheter » ; BTC : « balloon-tipped catheter ». (d'après [34], en référence à Krauze *et al.* 2005 [31], Raghavan *et al.* 2006 [32], Oh *et al.* 2007 [33], Olson *et al.* 2008 [35]) (B) Dispositif microfluidique d'injection d'après Neeves *et al.* 2006 [36]. L'aiguille présente un canal latéral sur chaque face, la section de ce dernier faisant $10 \times 50 \mu m$.

Moon *et al.* 2007 [37] présentent par exemple une microélectrode d'infusion en parylène servant également à l'électrophysiologie. Krauze *et al.* 2005 [31] ont développé un système d'injection anti-reflux (« step design cannula ») qu'ils ont testé *in vitro* sur des gels agarose, sur des rats puis avec des primates (tissu cérébral sain) (voir aussi Sanftner *et al.* 2005 [38] pour ce type de géométrie d'aiguille). Ce système est constitué d'une aiguille 27 G biseautée droit dans laquelle est inséré et collé un tube en silice non biseauté de diamètre externe $168 \mu m$ et de diamètre interne $102 \mu m$, cf. Figure 11 (C). La hauteur de silice dépassant par rapport à l'aiguille 27 G était de 1 mm pour les études sur gels et rats, et de 5 mm pour celles sur primates. Ils injectent pour les gels et les rats $10 \mu L$ de bleu trypan en faisant varier le débit d'injection entre 0.5 et $50 \mu L \cdot min^{-1}$. Avec la « step design cannula », la distribution devient irrégulière à partir de $10 \mu L \cdot min^{-1}$, cf. Figure 11 (F). Au-delà (20 et $50 \mu L \cdot min^{-1}$), le colorant se distribue en forme de disque, signe de dommages structuraux, mais sans reflux toutefois. Il est par ailleurs connu qu'avec une aiguille 32 G, le reflux apparaît autour de $5 \mu L \cdot min^{-1}$. Pour les rats, ils n'observent pas de reflux de colorant à l'histologie à aucun de ces débits (ni par l'injection de liposomes fluorescents), signe d'une géométrie restreignant effectivement le reflux. Cela dit, l'influence des forts débits sur la structure et l'intégrité des tissus est discutée à la Figure 7, p. 14.

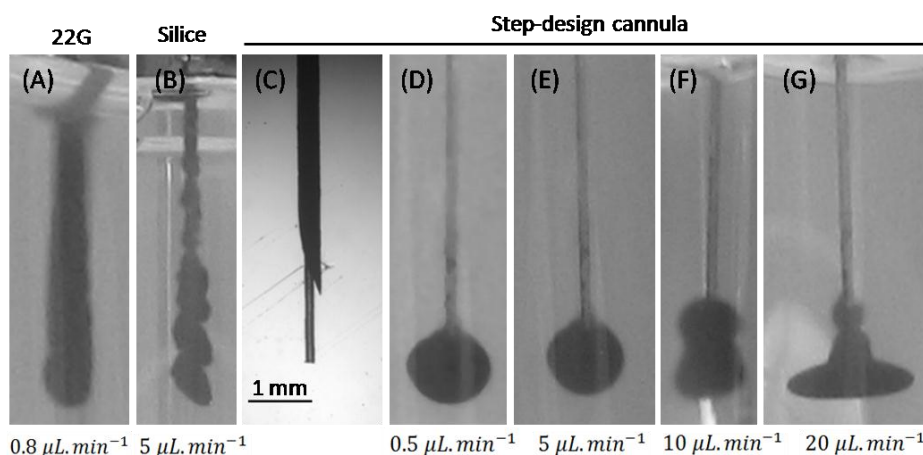


Figure 11 : Photos d'injections de bleu trypan dans des gels agarose 0.5 %. (A) Injection à $0.8 \mu\text{L} \cdot \text{min}^{-1}$ avec une aiguille 22G : présence de reflux. (B) Injection à $5 \mu\text{L} \cdot \text{min}^{-1}$ avec une aiguille en silice (OD = 168 μm ; ID = 102 μm) seule : présence de reflux. (C) Géométrie du système anti-reflux « step design cannula » (27 G + aiguille en silice). (D-E-F-G) Injections de 10 μL à différents débits avec la « step design cannula ». (d'après Krauze *et al.* 2005 [31])

Dans la partie de l'étude concernant les primates, ils administrent 700 μL (70 $\times$ plus que pour les rats) de liposomes fluorescents dans le corona radiata et le tronc cérébral respectivement. Le débit d'injection initialement à $0.1 \mu\text{L} \cdot \text{min}^{-1}$ est augmenté toutes les dix minutes jusqu'à $5 \mu\text{L} \cdot \text{min}^{-1}$, chaque injection durant un peu moins de 2 h 30. Ils valident dans un premier temps leur dispositif dans les gels agarose avec des infusions de 100 μL de bleu trypan à $5 \mu\text{L} \cdot \text{min}^{-1}$. On notera que si l'ensemble de ces résultats sur les gels et les rats suggèrent qu'une injection à $5 \mu\text{L} \cdot \text{min}^{-1}$ est faisable sans reflux avec ce système, les auteurs réalisent les injections sur les primates avec un débit progressif de 0.1 à $0.5 \mu\text{L} \cdot \text{min}^{-1}$, ceci n'a théoriquement pas les mêmes conséquences hydrauliques à la sortie de l'aiguille qu'un débit de $5 \mu\text{L} \cdot \text{min}^{-1}$ appliqué dès le début de l'injection. Il s'agit à notre connaissance du seul dispositif d'injection limitant le reflux disponible dont l'efficacité a été démontrée *in vivo* à notre connaissance.

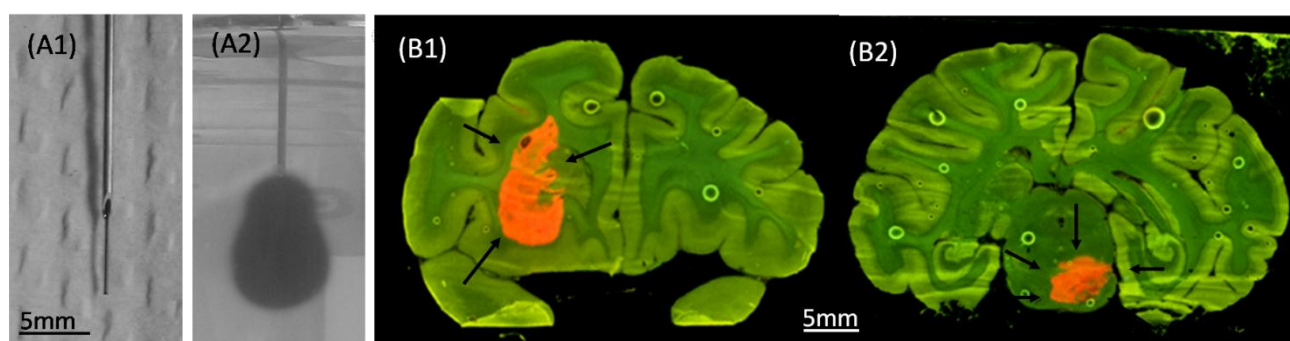


Figure 12 : Protocole d'injection de Krauze *et al.* 2005 pour les primates avec le système anti-reflux « step design cannula ». (A1-2) Validation du protocole sur gels d'agarose 0.5 % recevant l'injection de 100 μL de bleu trypan à $5 \mu\text{L} \cdot \text{min}^{-1}$, ce dernier étant le débit maximal utilisé pour les injections sur primates. L'aiguille en silice dépasse ici de 5 mm par rapport à l'aiguille 27 G. (B) Coupes histologiques sur primates après injection de 700 μL de liposomes fluorescents (signal rouge) dans le corona radiata (B1) et dans le tronc cérébral (B2) respectivement. Les auteurs ne rapportent pas de reflux

Raghavan *et al.* 2006 [32] ont effectué des études expérimentales en injectant des colorants dans des gels agarose. Ils testent pour cela un certain nombre de cathéters utilisable en clinique dont le Tableau 1 suivant fait le résumé. Ils s'intéressent notamment aux cathéters multi-ports qui, de par leur plus grande surface de contact entre le fluide du lumen et le tissu adjacent, pourraient

accroître le transport interstitiel des agents injectés. Cela dit, ils relatent des difficultés quant à la délivrance effective par ce type de cathéters, observant la sortie d'un colorant optique uniquement au niveau des premiers ports, et non pas ceux proches de l'extrémité de distale du cathéter.

Type de port de cathéter	Matériel	Diamètre externe (mm)	Diamètre interne (mm)
mono, terminal	polyamide rigide	0.95	0.75
mono, terminal	silicone flexible	2.5	1.25
mono, coupé au laser	silicone flexible	2.5	1.25
quatre, ouvertures radiales	silicone flexible	2.25	1.0
3 lignes radiales, 10 trous laser	« clear » silicone	1.75	0.75
mono, terminal	silicone & baryum	2.0	1.0
« fishmouth »	silicone	2.25	0.75

Tableau 1 : Résumé des paramètres de cathéters testés dans les gels d'agarose par le groupe de Raghavan *et al.* [32]

On notera par ailleurs que le système désigné à la Figure 10 par « HFC » correspond au système dit « hollow fiber catheter » développé par Oh *et al.* 2007 [33]. Ce cathéter est constitué d'une partie supérieure classique en dessous de laquelle est connectée une partie dont l'épaisseur est poreuse sur 3 mm de haut ici (taille de pores moyenne : 0.45 μm). Cette géométrie est avancée par les auteurs comme permettant d'augmenter la surface de contact avec le tissu par laquelle la drogue peut se transporter. Qui plus est, cette augmentation de surface réduirait les forces de déformations s'exerçant sur le tissu, maximisant l'efficacité du transport convectif. Pour valider leur design, ils injectent notamment du bleu d'Evans dans des gels d'agarose 4 % puis dans des cerveaux de souris avec leur géométrie d'aiguille (OD = 380 μm) ou avec une aiguille conventionnelle 28 G (OD = 355 μm). Ils comparent ensuite les volumes de distribution associés sur la base d'une injection lente de 2 μL à 0.1 $\mu\text{L} \cdot \text{min}^{-1}$. Ils rapportent dans les gels un facteur d'augmentation de volume de distribution d'environ 2. Pour les souris, ils trouvent pour ce facteur 2.7. Cela dit, on peut noter qu'ils sacrifient les animaux une heure après injection, laissant un temps significatif au colorant pour diffuser dans les tissus, ce qui augmente probablement l'effet d'écart de surface entre les deux aiguilles sur la distribution. Ils mesurent également une meilleure distribution de vecteurs viraux (vecteurs adénoviraux RAdLUC et RAdGFP) avec le cathéter qu'avec l'aiguille commerciale. Ils discutent les avantages de ce cathéter en termes d'adaptation d'impédance hydraulique. Par ailleurs, ils estiment que ce système est plus avantageux que les cathéters multi-ports présentés plus tôt en raison du rapport entre la faible conductivité hydraulique transmurale et la forte conductivité hydraulique le long du lumen du cathéter conduisant à un écoulement transmural homogène de haut en bas du cathéter. Ils ajoutent qu'avec cette géométrie, davantage de cellules sont exposées directement à la concentration du lumen du cathéter délivrée par transport convectif transmural (facteur 360° sur 3 mm de hauteur comparé à une section droite terminale d'aiguille conventionnelle). On trouve par ailleurs des géométries particulières pour des injections corticales, celles-ci étant particulièrement exposées à des risques de reflux en raison des faibles profondeurs de tissu traversées, cf. Figure 13 ci-dessous.

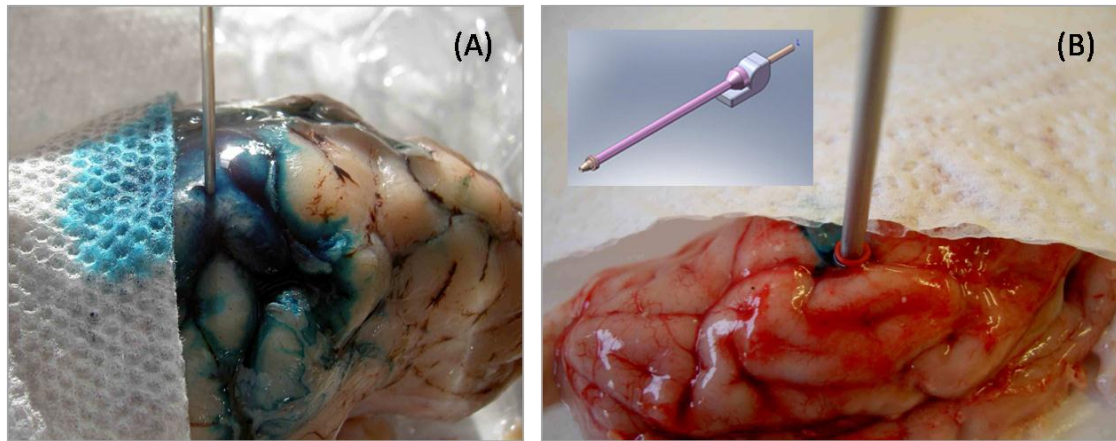


Figure 13 : Infusion corticale d'un colorant optique dans un cerveau de mammifère avec (A) un cathéter conventionnel et (B) un cathéter conçu pour limiter le reflux dans l'espace sous-arachnoïdien. (d'après Raghavan)

Guarnieri *et al.* 2005 [39] ont discuté l'influence de la rigidité du cathéter sur la qualité de la distribution d'agents platinés *in vivo* chez le rat. Ils injectent 100 μg de drogue à un débit de $1 \mu\text{L} \cdot \text{h}^{-1}$ ($\cong 0.016 \mu\text{L} \cdot \text{min}^{-1}$) pendant 7 jours avec une pompe osmotique implantée. Les injections sont pratiquées dans du tissu cérébral sain ou tumoral (F98 ou 9L) avec un cathéter rigide ou flexible. La Figure 14 ci-dessous résume leurs résultats et conclusion. Un des résultats notable de cette étude est qu'ils observent des distributions attendues de platine dans 10/17 cerveaux sains et 15/28 cerveaux porteurs de tumeurs avec un cathéter rigide, contre 10/10 cerveaux sains et 16/16 cerveaux porteurs de tumeurs avec un cathéter flexible. Les auteurs écartent l'hypothèse que l'absence de distribution de platine soit due à la présence de chemins de moindre résistance hydraulique (fibres de substance blanche et ventricules) étant donné que des débits d'injection 30 à 360 fois plus élevés (analogie avec les débits CED définies par Morrison *et al.* 1994 [6]) ne conduisent pas à de tels mécanismes de transport. Ils excluent également la possibilité d'occlusion du cathéter par un débris de tissu ou une coagulation étant donné leur pression d'injection. Ils proposent finalement que les mouvements naturels du cerveau dans le cas d'un cathéter rigide puissent réduire l'adhésion entre ce dernier et la surface de tissu adjacente, favorisant l'apparition de reflux le long du cathéter. Si cette hypothèse est juste, il est frappant de constater que cela peut conduire à l'absence complète de distribution de platine dans le tissu.

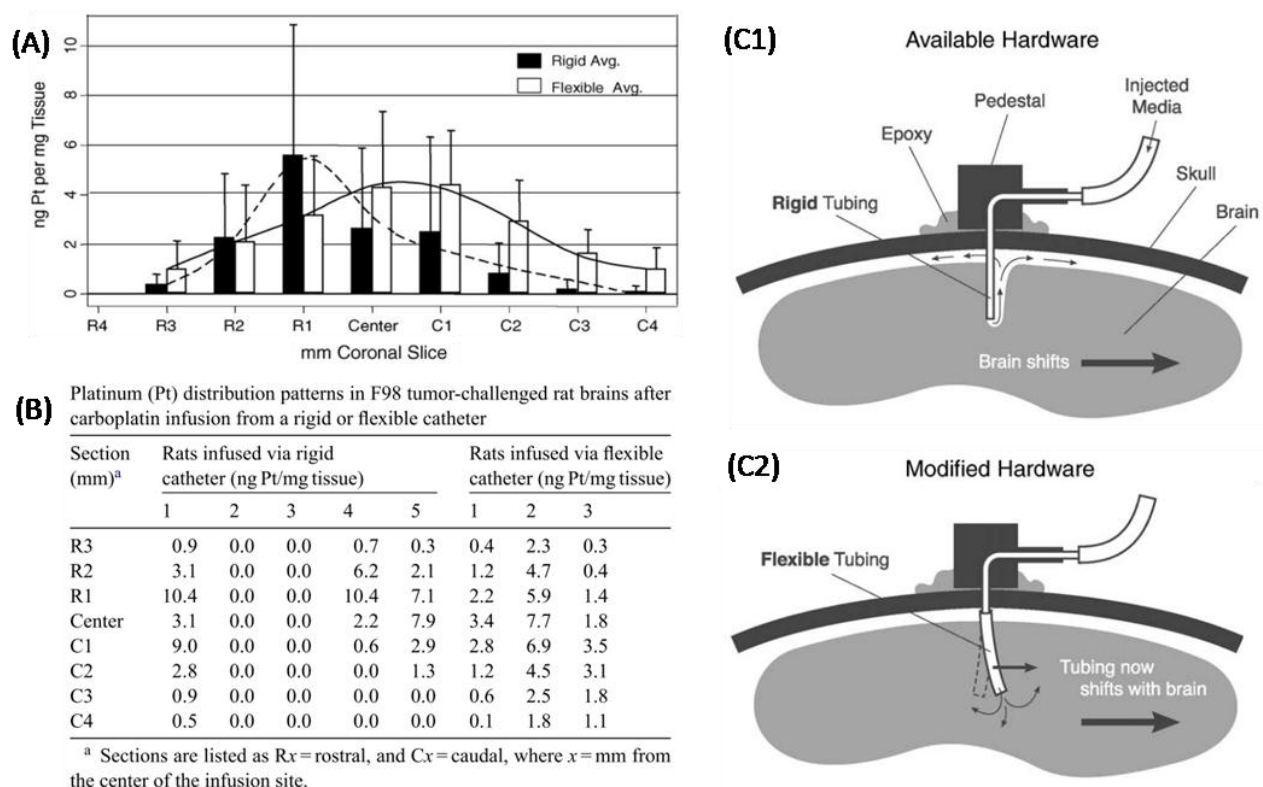


Figure 14 : Résultats obtenus par Guarnieri *et al.* 2005 [39]. (A) Profils de concentration de carboplatine par coupes histologiques de 1 mm pour un cathéter rigide ou flexible. (B) Valeurs de concentrations de Pt mesurées pour chaque rat porteur de tumeur F98 des groupes « cathéter rigide » et « cathéter flexible ». 2/5 rats du groupe « cathéter rigide » ne présentent pas de signe d'infusion effective tandis que 3/3 rats ont une distribution effective de platine avec un « cathéter flexible ».

1.3.2.4 Viscosité du fluide

Les travaux de Mardor *et al.* 2005 [40] suggèrent que l'augmentation de la viscosité du fluide infusé puisse améliorer la distribution d'agents *in vivo*, en l'occurrence augmenter le volume de distribution en raison d'une réduction du reflux associée à une convection plus efficace. Cette étude CED a été menée sur le striatum de rats sains. Différentes solutions (*cf.* Figure 15 (A)) sont mélangées à un agent de contraste IRM (Gd-DTPA) puis injectées à $1 \mu\text{L} \cdot \text{min}^{-1}$ avec une aiguille 33 G pendant différentes durées selon les cas. La distribution du traceur IRM est quantifiée immédiatement après fin d'injection avec une IRM pondérée T_1 , permettant le calcul coupe par coupe du volume de distribution de l'agent de contraste (exclusion des cas de transport dans les ventricules). Cette méthode de calcul était validée par une mesure histologique du volume de distribution de bleu d'Evans coinjecté au Gd-DTPA à 17 % de sucrose ($r^2 = 0.95$). Ils ont, entre autres, évalué l'impact de la viscosité du fluide injecté sur la distribution de l'agent de contraste, *cf.* Figure 15. Une « faible convection » était alors définie par une injection présentant du reflux le long de l'aiguille ou bien dans les ventricules avec peu ou pas de rehaussement de signal dans le striatum. Au contraire, des injections à « convection efficace » étaient définies pour une distribution effective dans le striatum associée à peu de transport dans les ventricules.

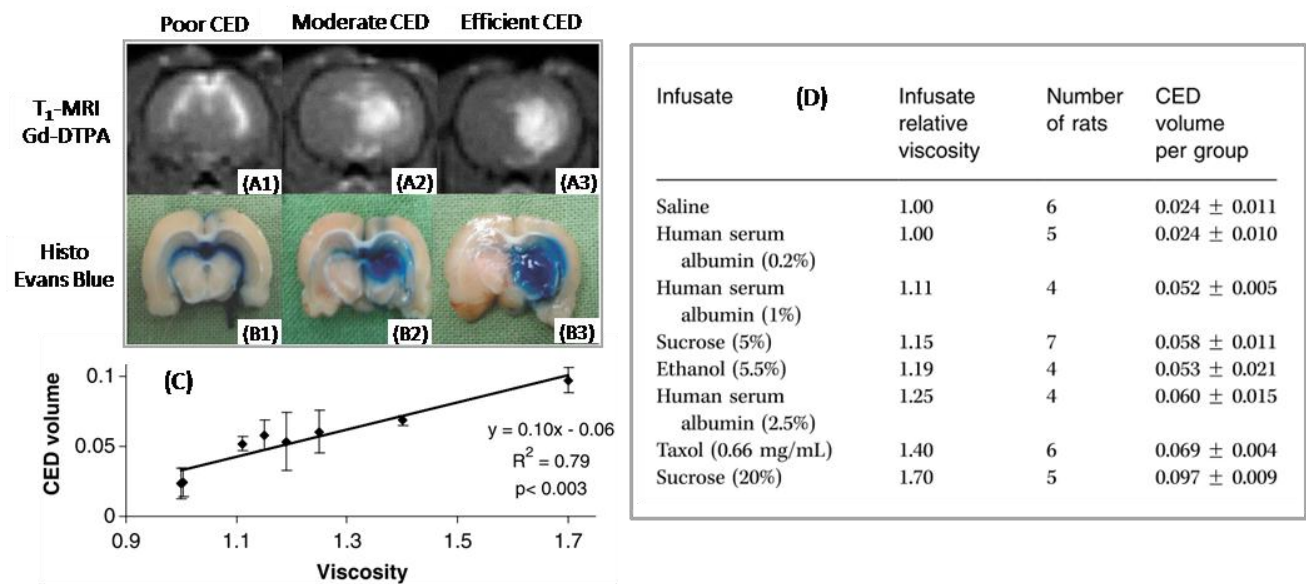


Figure 15 : Résultats de Mardor *et al.* 2005 [40] par imagerie IRM du Gd-DTPA en faisant varier la viscosité du fluide injecté (D). Injections faites dans le striatum de rats sains à $1 \mu L \cdot min^{-1}$ avec une aiguille 33 G. (A) indique des coupes IRM coronales obtenues après injection de {Gd-DTPA + bleu d'Evans + sucrose 17 %} pour des cas de convection faible, modérée et efficace (A1-2-3). (B) Coupes coronales histologiques pour les mêmes rats qu'en (A), avec la distribution visible du colorant dans chaque cas (B1-2-3). (C) représentent les volumes de distribution calculés en cm^3 pour chaque catégorie de mélange injecté, cf. (D), à partir des coupes IRM.

Dans une étude plus récente, Mardor *et al.* 2009 [41] rapportent un résultat qui conforte le précédent. Afin de mieux comprendre les résultats d'essais cliniques CED de phase I/II à base de toxines PRX321, ils ont repris la concentration de toxine utilisé dans ce protocole et réalisé une étude CED dans le striatum de rats sains. Les conditions d'injection sont les suivantes : $40 \mu L$ de solution sont administrés à un débit de $1 \mu L \cdot min^{-1}$ au travers d'une aiguille 33 G. L'étude porte sur le rôle de la viscosité du solvant et les quantifications par imagerie IRM sont réalisées avec la même méthodologie que dans la publication précédente. La solution est mélangée au traceur Gd-DTPA dans les mêmes proportions d'un groupe à l'autre. La viscosité est variée à partir de la concentration de sérum d'albumine humaine (HSA en anglais). Ils observent que le PRX321 à basse viscosité (0.02 % HSA) réduit le volume de distribution d'un facteur 1.98 par rapport à une injection du traceur seul à la même viscosité. Par ailleurs, l'infusion de PRX321 à haute viscosité (3 % HSA) augmente le volume de distribution du traceur d'un facteur ~ 3 par rapport à l'injection de PRX321 à basse viscosité. Bien que le volume d'injection reste le même entre les groupes de l'étude, on peut toutefois se demander pourquoi les volumes de distributions rapportés sont inférieurs à la valeur moyenne de $45.6 \mu L$. En effet, avec un volume injecté de $40 \mu L$, on s'attendrait à mesurer un volume de distribution de l'ordre de $200 \mu L$ pour une fraction volumique extracellulaire du tissu cérébral de 20 %. Or, c'est nettement moins ici, *e.g.* avec $29.5 \mu L$ rapporté pour l'injection du traceur seul à faible viscosité. Le volume d'injection considéré ici relativement au volume moyen interstitiel d'un hémisphère de cerveau de rat ($\sim 20 \% \times 300 mm^3 = 60 mm^3$) est assez conséquent pour 40 minutes d'injection et on peut se demander dans quelle mesure cela affecte ces résultats. Perlstein *et al.* 2008 [42] du même groupe ont étudié des infusions CED de nanoparticules de maghémite monodispersées chez le rat sain ici encore.

Finalement, le facteur de viscosité semble être important dans l'efficacité du transport convectif en sortie d'aiguille, notamment pour limiter le reflux et améliorer la durée de présence de l'agent dans le tissu en raison d'un coefficient de diffusion plus faible par conséquent. C'est ce que les données théoriques suggéreraient comme explication. Toutefois, la réalité d'un traitement CED intratumoral étant toute autre que dans le tissu sain, on peut se demander dans quelle mesure ces résultats sur tissu cérébral sain peuvent être transposés à des injections intratumorales ?

1.3.2.5 Mécanismes de reflux

Le reflux du point de vue expérimental consiste en la remontée du fluide injecté et de son soluté le long de l'aiguille pendant l'injection (*cf.* Figure 5, p. 12 ; Figure 9, p. 15 ; Figure 11, p. 17 ; Figure 13, p. 19). On parle aussi de reflux lorsque des chemins de moindre résistance hydraulique se créent dans le tissu pendant l'injection. Dans les deux cas, le transport convectif dans le volume de tissu cible peut se voir diminué, et du fait de la conservation de la masse, tout transport n'ayant pas lieu à un endroit donné se produit ailleurs ; par exemple, dans les cavités naturelles les plus proches comme les ventricules cérébraux, ou bien dans l'espace sous-arachnoïdien au niveau du cortex cérébral (lieu de circulation du liquide céphalo-rachidien) ; ou dans des cavités post-opératoires comme après une résection tumorale, où le lit tumoral est rempli de liquide interstitiel. Nous exposons dans cette section le résultat principal issu du modèle théorique de reflux proposé par Morrison *et al.* 1999 [7]. Ces derniers ont développé une théorie mathématique basée sur l'idée que la pression hydrostatique générée par la pompe sur le tissu à la sortie de l'aiguille peut déplacer la surface de ce dernier, épousant initialement la forme de l'aiguille. De sorte, un espace annulaire autour de la surface de l'aiguille est créé sur une certaine hauteur le long de l'aiguille. Si cette hauteur est suffisante, alors une partie du fluide peut y circuler, brisant par exemple la symétrie sphérique attendue lors d'une injection dans une structure isotrope de substance grise cérébrale. Le cas limite étant celui où l'espace annulaire atteint une distance telle que l'espèce peut se transporter jusqu'à la surface d'insertion de l'aiguille, *i.e., in vivo*, directement dans l'espace sous-arachnoïdien. Le formalisme des auteurs s'appuie sur un écoulement de Stokes, la loi de Darcy en milieu poreux et une loi de déformation élastique radiale depuis la surface du cathéter dans un espace semi-infini de substance grise isotrope, *cf.* Figure 16.

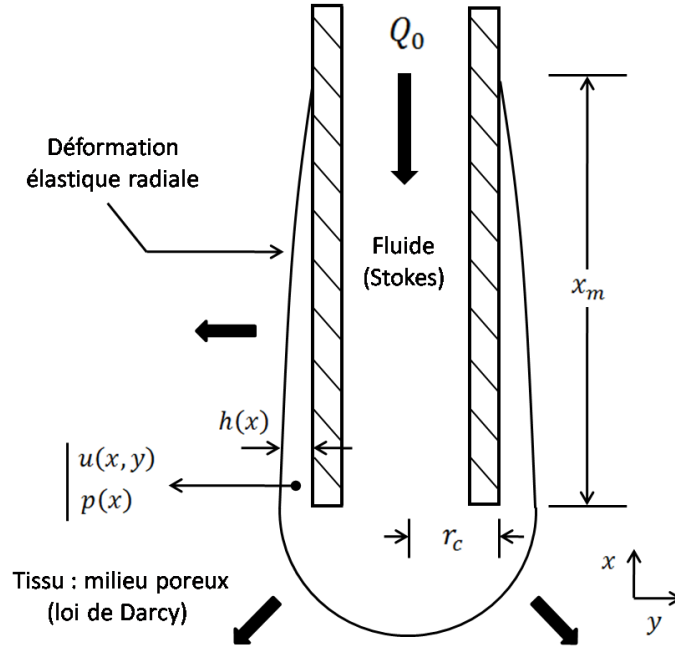


Figure 16 : Schéma du modèle théorique de reflux de Morrison *et al.* 1999 [7]. La pression hydrostatique du fluide à la sortie de l'aiguille pousse la paroi du tissu, autorisant la formation d'une cavité annulaire autour de l'aiguille, définie géométriquement par $h(x)$ et x_m dans laquelle le fluide possède une pression $p(x)$ et une vitesse $u(x,y)$.

La résolution analytique de ces équations couplées, notamment selon la théorie de lubrification, permet d'évaluer la hauteur de reflux x_m :

$$x_m \propto \left(\frac{Q_0^3 R^4 r_c^4}{\mu G^3} \right)^{1/5}$$

Eq. 2

Avec G (Pa) le module de cisaillement et R ($kg \cdot m^{-3} \cdot s^{-1}$) la résistance du tissu définie par :

$$R = \frac{\ln(L/r_c)}{2\pi \phi \kappa}$$

Eq. 3

Avec L (m) le rayon cylindrique équivalent du cerveau considéré, ϕ la fraction volumique extracellulaire du tissu. κ ($m^3 \cdot s \cdot kg^{-1}$) est la conductivité hydraulique du tissu s'exprimant aussi comme le rapport K/μ avec K (m^2) la perméabilité hydraulique du tissu. La combinaison de ces deux équations conduit à la formulation :

$$x_m \propto \left(\frac{\mu Q_0}{G} \right)^{3/5} \left(\frac{r_c \ln(L/r_c)}{2\pi \phi K} \right)^{4/5}$$

Eq. 4

L'équation Eq. 2 suggère que la hauteur de reflux x_m sera d'autant plus grande que le débit Q_0 sera grand et que l'aiguille sera de petite taille. On notera aussi la dépendance avec la viscosité du fluide injecté. Les auteurs réalisent également une adaptation du calcul au cas où l'aiguille traverse sur son chemin deux tissus ayant des propriétés hydrodynamiques différentes, en l'occurrence dans leur modèle, la substance grise (noyau caudé et cortex) et la substance blanche (corps calleux).

Pour une aiguille 32 G, ils évaluent les hauteurs de reflux x_m selon le débit d'injection, cf. Figure 17 (A).

(A) Table 2. Results of backflow model (32-gauge catheter)

Volumetric Inflow Rate (Q_0), $\mu\text{L}/\text{min}$	Backflow Distance (x_m), cm		Percent Mass in White Layer	
	Gray matter model	Layered model	Layered model	Experiment
0.03	0.03*	0.03*	0	—
0.10	0.07	0.07	0	4
0.50	0.21	0.20	0	5
0.65	0.24	0.23	2	—
1.00	0.32	0.25	15	23
5.00	0.84	0.57	38	30

* Included only to indicate a short backflow distance at this lowest flow rate. Axial flow component in porous media at this Q_0 may introduce a significant uncertainty in this value.

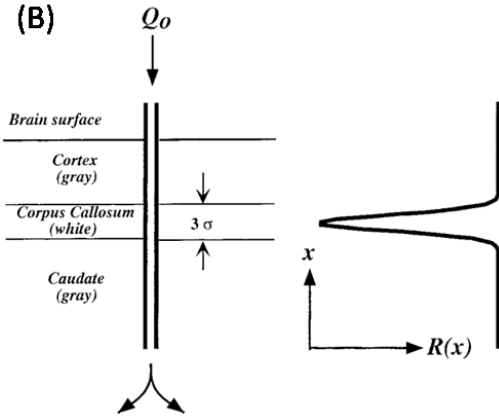


Figure 17 : Distances de reflux calculées par Morrison *et al.* 1999 [7] pour une aiguille 32 G dans le cas d'un seul tissu de substance grise ou bien pour deux tissus constitués de substance grise traversée par un faisceau de substance blanche, cf. (B).

Dans le cas d'injections dans la substance grise chez le rat, les auteurs donnent la constante de mise à l'échelle de l'équation Eq. 2, pondérée par les propriétés usuelles du tissu (G, R, μ) :

$$x_m = 11.414 \times r_c^{0.8} Q_0^{0.6}$$

Eq. 5

Avec $Q_0 (\mu\text{L} \cdot \text{min}^{-1})$ et $r_c (\text{cm})$. Le tracé de cette fonction est représenté Figure 18 ci-dessous pour trois dimensions d'aiguilles typiques (références diamètres : Hamilton®).

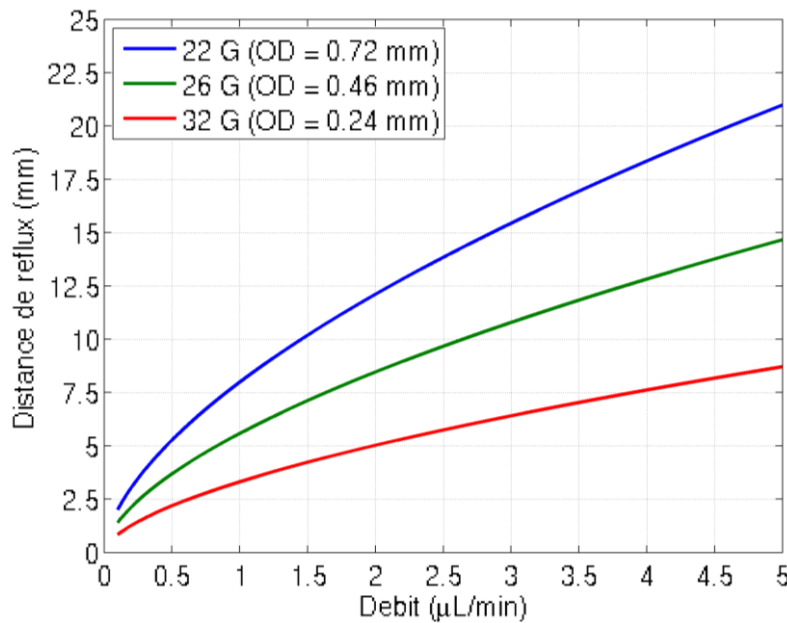


Figure 18 : Distances de reflux selon le débit d'injection pour des injections dans la substance grise du rat, d'après la formulation proposée par Morrison *et al.* 1999 [7].

Finalement aujourd'hui, pour des géométries d'aiguilles conventionnelles (simple port terminal), éviter le reflux est possible en injectant avec une aiguille 32 G à des débits inférieurs ou égal à $0.5 \mu\text{L} \cdot \text{min}^{-1}$. On notera en plus qu'en prenant en compte la variation de la résistance R du tissu avec les dimensions du cerveau considéré, la distance de reflux obtenue pour un certain débit avec

une certaine aiguille varie avec le placement de l'aiguille dans le cerveau. Plus récemment, Raghavan *et al.* 2010 [12] ont proposé une continuation des travaux théoriques de Morrison *et al.* 1999 [7] avec des comparaisons avec des données *in vitro* d'infusion dans des gels agarose faiblement concentrés.

1.3.2.6 Volume de distribution *versus* volume injecté

Le volume de distribution occupé par l'agent injecté dans le tissu est une grandeur qui varie rigoureusement selon un grand nombre de paramètres, *cf.*

Figure 4. En pratique, pour des molécules présentant un rayon hydrodynamique suffisamment petit devant la taille de l'espace interstitiel du tissu (environ 50 nm, Thorne *et al.* 2006 [43]), un calcul de ce volume au premier ordre est possible. Il est fondé sur l'hypothèse que le transport de l'agent est uniquement convectif, sans diffusion moléculaire, ni fixation extracellulaire, ni échanges intra/extracellulaires ou métabolisme, *i.e.* que le front d'avancement du fluide dans le tissu coïncide précisément avec le front d'avancement du soluté. Puis la seconde hypothèse est que l'écoulement dans le tissu est décrit par la loi de Darcy en milieu poreux rigide homogène et isotrope. Sous ces conditions, le volume de distribution du soluté à un instant t d'injection résulte simplement de la dilution du volume injecté dans l'espace extracellulaire du tissu :

$$V_d(t) = \frac{V_i(t)}{\phi}$$

Eq. 6

La notion de seuil de calcul du volume de distribution n'a pas de sens ici, le profil de concentration étant une fonction d'Heaviside. Cette formulation peut d'ailleurs servir d'estimateur au premier ordre de la fraction volumique extracellulaire ϕ . Le cerveau sain des mammifères présente une fraction volumique extracellulaire de l'ordre de 20 % dans les conditions physiologiques normales d'où on peut déduire un rapport $V_d/V_i \approx 5$ au premier ordre. Un élément supplémentaire qui peut écarter un rapport V_d/V_i expérimental de 5 est la nature poroélastique des tissus cérébraux. Au-delà d'un certain débit ou pour des durées d'injections longues, l'espace poreux peut se dilater localement. L'espace interstitiel dans lequel est pratiqué l'injection n'est plus alors caractérisé par une fraction volumique extracellulaire scalaire ϕ mais par une distribution spatiale $\phi(\vec{r}, t)$. En géométrie sphérique, dans le cas d'une cavité sphérique de rayon r_0 par laquelle un volume $V_i(t) = Q_0 t$ de fluide est injecté, le rayon de distribution R à l'instant t est connu selon (*cf.* [44]) :

$$V_i = \int_{r_0}^R \phi(r, t) 4\pi r^2 dr$$

Eq. 7

Et le volume de distribution à l'instant t est connu alors par $V_d = 4/3 \pi R^3$.

Nous avons pu noter deux cas de figure majoritaires dans la littérature amenant à des évaluations de V_d qui sortent de ces considérations théoriques : 1) le cas où il y a apparition de reflux pendant l'injection conduisant une partie du transport à se faire dans d'autres structures adjacentes non ciblées (tissus ou bien cavités si le reflux est important (ventricules, espace sous arachnoïdien) ; le volume de distribution dans le tissu est alors typiquement plus faible que l'estimation V_i/ϕ . 2)

Lorsque les molécules infusées sont des particules en suspension présentant une taille de l'ordre de la taille de l'espace interstitiel du tissu cérébral, alors elles peuvent se distribuer très localement autour de la sortie de l'aiguille, avec par exemple un volume de distribution mesuré inférieur à V_i (Neeves *et al.* 2007, Chen *et al.* 2005 [45, 46]).

1.3.2.7 Pression sur la ligne d'injection

La mesure de pression sur la ligne d'injection consiste typiquement à placer une jonction T sur la ligne d'injection, i.e. entre la seringue et l'aiguille. La jonction est ensuite reliée à un capteur de pression qui est suivi d'une chaîne d'acquisition de données. Si les diamètres des tubes de la ligne d'injection sont suffisamment grands alors la perte de charge (i.e. de pression) le long de la ligne est négligeable et la pression mesurée à la jonction T est une mesure de la pression à la sortie de l'aiguille. Les premières mesures de ce type dans un contexte de CED ont été publiées par Bobo *et al.* 1994 [5], les pionniers de la CED. Ils ont mesuré lors d'infusions CED réalisées en intracérébrale chez le chat la pression sur la ligne d'injection ainsi que la pression intra-cisternale, mesure de la pression intracrânienne, cf. Figure 19 ci-dessous. Ils observent un pic de pression à 18 min ($n = 9$) à $57 \pm 24 \text{ mmHg}$ soit 7.6 kPa . La pression se stabilise ensuite à sa valeur nominale. Les auteurs expliquent ce transitoire de début d'injection par la présence de débris de tissus accrochés à l'extrémité de l'aiguille qui seraient relâchés lorsque la pression devient suffisamment grande.

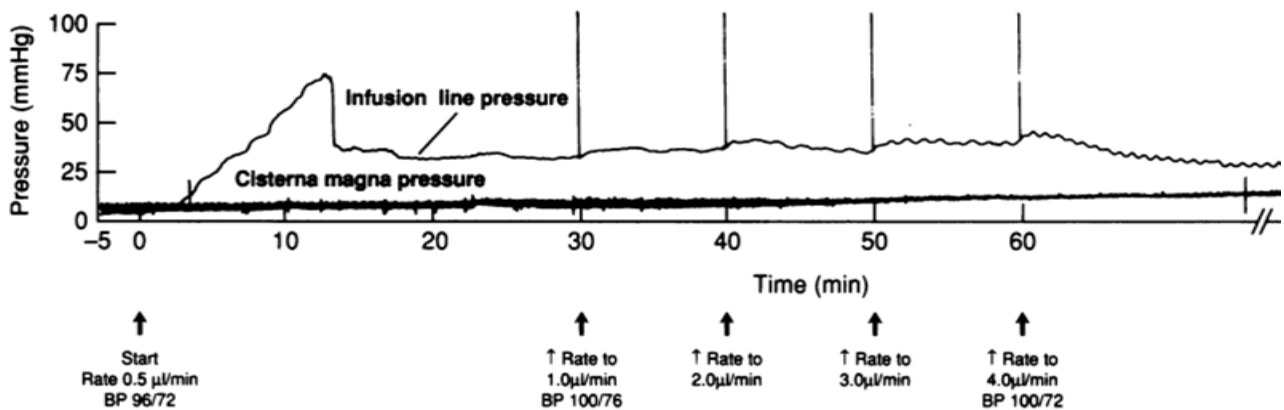


Figure 19 : Mesure de la pression sur la ligne d'injection par Bobo *et al.* 1994 [5] durant l'injection intracérébrale à débit variable de $300 \mu\text{L}$ de liquide céphalo-rachidien artificiel radiomarké dans le coronal radiata de chats. La fin de l'injection, rognée sur cette figure, a lieu à 116 minutes. Le gradient de pression convectif est défini par les auteurs comme la différence entre la pression d'infusion et la pression intracrânienne une fois que la phase de plateau est atteinte. Ici, la pression d'infusion et la pression intracrânienne se stabilisent à $26 \pm 9 \text{ mmHg}$ (3.5 kPa) et $8 \pm 2.5 \text{ mmHg}$ (1 kPa) respectivement, atteignant une « pression convective » de $18 \pm 3 \text{ mmHg}$ (2.4 kPa).

Ce type de mesures a par la suite été repris par le groupe de Raghavan *et al.* dans les travaux [32, 44, 47, 48] avec le développement des fantômes de tissu cérébral à base de gels faiblement concentrés. Chen *et al.* 2002 [44] mesurent entre autres les pressions maximales de ligne d'injection pour des infusions de colorant dans des gels agarose 0.2 % à différents débits, cf. Figure 20 (B).

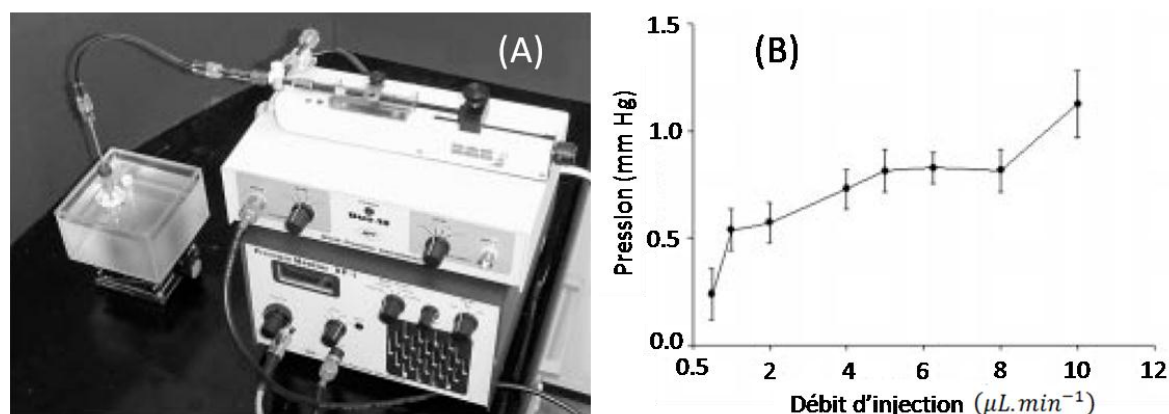


Figure 20 : (A) Dispositif expérimental d'injection de bleu de bromophénol (MW 690) dans des gels agarose 0.2 %. (B) Mesure de la pression de la ligne d'injection maximale pour des injections faites à différents débits. 1 mmHg correspond à 133.32 Pa (d'après Chen *et al.* 2002 [44])

Chen *et al.* 2004 [48] comparent ensuite les transitoires de pression de la ligne d'injection entre des infusions réalisées sur des gels d'agarose à différentes concentrations d'agarose et des infusions réalisées dans le cerveau de cochon, *cf.* Figure 21. Ils ont pu notamment valider l'approche d'utilisation de ces gels comme fantôme simple, inerte, reproductible et peu coûteux représentatif du tissu cérébral (gels agarose 0.6 %). Là encore, les pressions de la ligne d'injection passent par un maxima avant de se stabiliser vers un plateau. La différence des valeurs de plateau observées entre les gels 0.6 % et le cerveau de cochon serait due aux écarts de conductivité hydrauliques de ces deux milieux (de l'ordre de 1/3 plus élevé selon les auteurs).

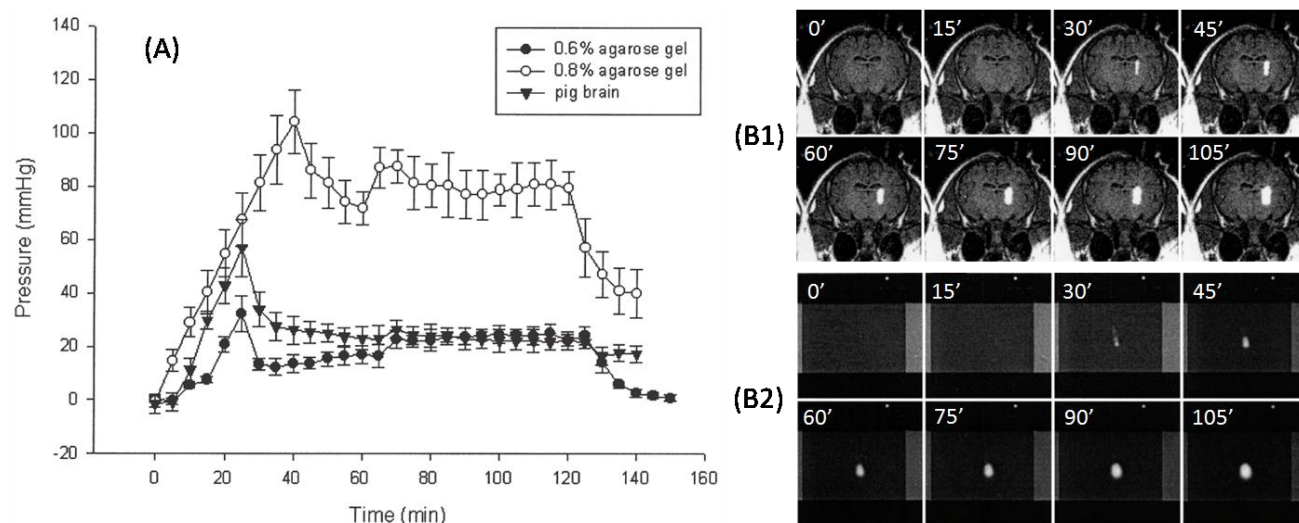


Figure 21 : (A) Courbes de pressions transitoires mesurées sur la ligne d'injection pour des infusions de gadodiamide (MW 573) pratiquées dans des gels agarose 0.6 et 0.8 % et dans le cerveau de cochon sain *in vivo* à $0.5 \mu\text{L} \cdot \text{min}^{-1}$ et $1 \mu\text{L} \cdot \text{min}^{-1}$ pendant 2×60 minutes ($V_i = 30 + 90 \mu\text{L}$). (B) Pendant injection, le gel ou l'animal était placé dans un IRM, imageant en suivi temporel l'arrivée interstitielle du gadodiamide sur les coupes coronales. (d'après Chen *et al.* 2004 [48])

Des pages internet récentes (2009) indiquent des travaux plus avancés sur les infusions dans les gels, *cf.* Figure 22 ci-dessous.

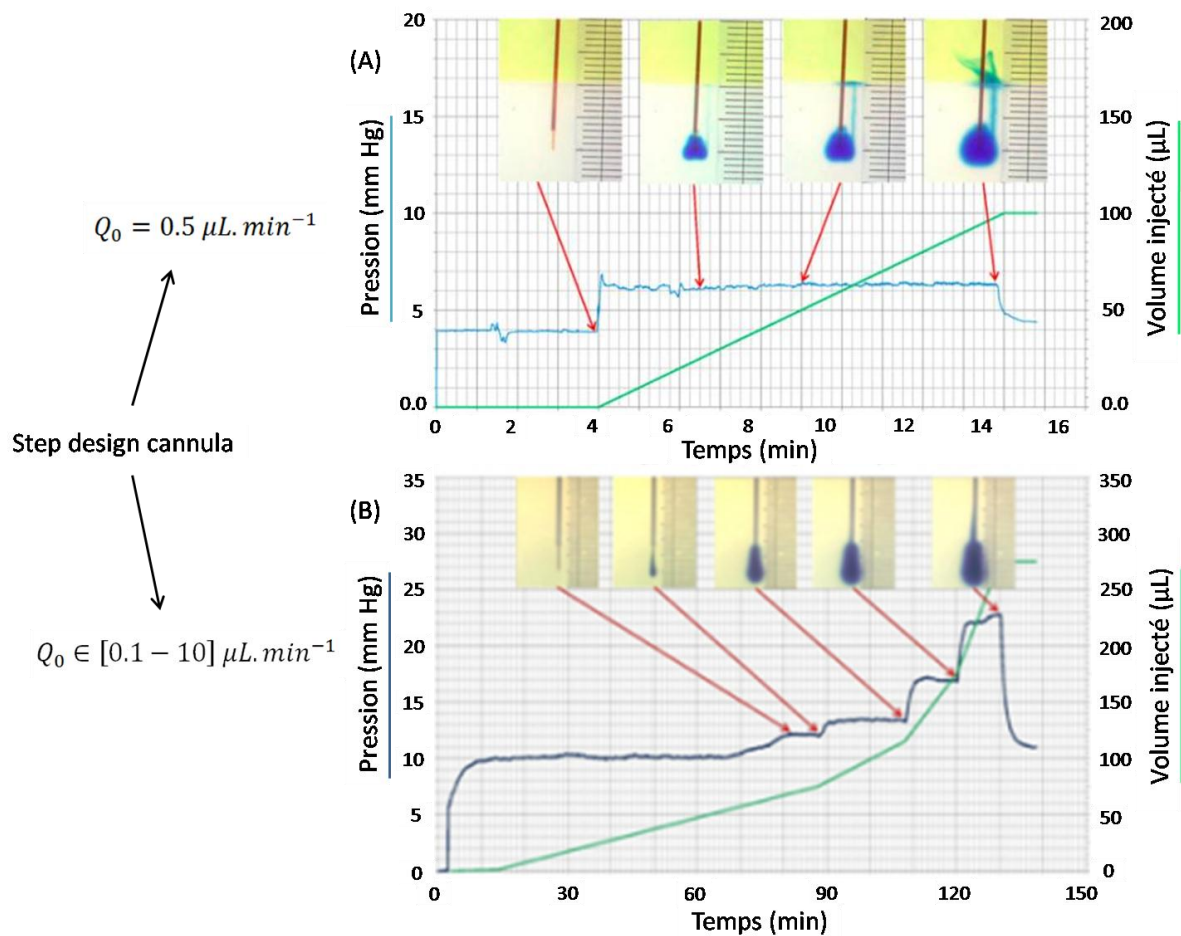


Figure 22 : Courbes de pression de ligne d'injection pour des infusions avec un « step design cannula » pour deux types de débits : (A) statique $0.5 \mu L \cdot min^{-1}$ et (B) dynamique entre 0.1 et $10 \mu L \cdot min^{-1}$. En vert est représentée la courbe de volume d'injection en fonction du temps. Chaque rupture de pente indique un incrément dans le débit d'injection. Dans le cas (A), une trace d'aiguille a été faite préalablement à côté du trajet actuel de la cannule, impliquant l'apparition de reflux dans ce chemin hydraulique vers 14 minutes. (B) Les sauts de débits impliquent une augmentation de pression à chaque incrément. Dans les deux cas, lorsque l'infusion est terminée, la pression décroît puis se stabilise.

Le suivi de la pression sur la ligne d'injection pendant les infusions permettrait de savoir si du reflux se produit à la sortie de l'aiguille. Cette mesure serait pertinente cliniquement pour pouvoir évaluer pendant la durée d'une injection, en plus des données d'imagerie s'il y en a, la qualité de transport convectif qui s'établit dans les tissus, et éventuellement appliquer des corrections au protocole en cours en cas de distribution tissulaire inadéquate. De plus, cette mesure pourrait renseigner sur la présence d'une éventuelle occlusion à la sortie de l'aiguille pour une insertion dans le tissu donnée.

1.3.2.8 Hétérogénéité et anisotropie des tissus

Les mammifères possèdent un cerveau sensiblement identique en termes d'organisation. On distingue à l'ordre 1 la substance grise de la substance blanche, ayant toutes deux des propriétés hydrauliques macroscopiques différentes (fraction volumique extracellulaire, perméabilité hydraulique et tortuosité). Qui plus est, en termes de transport, si on se base sur une analyse à l'ordre 1, on ne prendra en compte uniquement la contribution de la convection et de la diffusion. Le terme convectif est associé à une distribution de pression interstitielle dans le tissu. Celle-ci se traduit par un écoulement interstitiel associé à une conductivité hydraulique du tissu. Dans la

réalité du tissu, la substance blanche et la substance grise ne possèdent pas les mêmes valeurs de conductivité. De plus, la substance grise est connue pour être de nature isotrope, sa conductivité hydraulique se résumant à un scalaire. La substance blanche possède une architecture longitudinale, organisée sous forme de faisceaux. Un tenseur de conductivité hydraulique est alors nécessaire pour décrire plus rigoureusement l'écoulement dans une telle structure. Le transport diffusif interstitiel, quant à lui, dépend essentiellement de la molécule transportée, en rapport avec la géométrie de l'interstitium. Il est caractérisé habituellement par un coefficient de diffusion effectif scalaire. Là encore, en rapport avec la nature du tissu, un tenseur de diffusion est nécessaire pour décrire le transport dans une architecture comme celle de la substance blanche. Cette description est typiquement faite par un tenseur de tortuosité (Nicholson *et al.* 2001 [49]). Il en résulte que le cerveau est macroscopiquement un matériau hétérogène et anisotrope. Les injections d'agents thérapeutiques ou traceurs d'imagerie conduisent donc *a priori* et *a fortiori* à des distributions tissulaires hétérogènes, si l'on considère l'ensemble du tissu cérébral sain. Des injections dans les tumeurs constituent un troisième cas encore différent, les tumeurs étant connues pour être particulièrement hétérogènes et présentant une physiologie propre, cf. section 1.4.2, p. 37. La Figure 23 ci-dessous présente des exemples d'injections intracérébrales de traceurs chez différents animaux. Dans chaque cas, la distribution est hétérogène, et un transport préférentiel selon les axes de substances blanches qui constituent des directions privilégiées est observé.

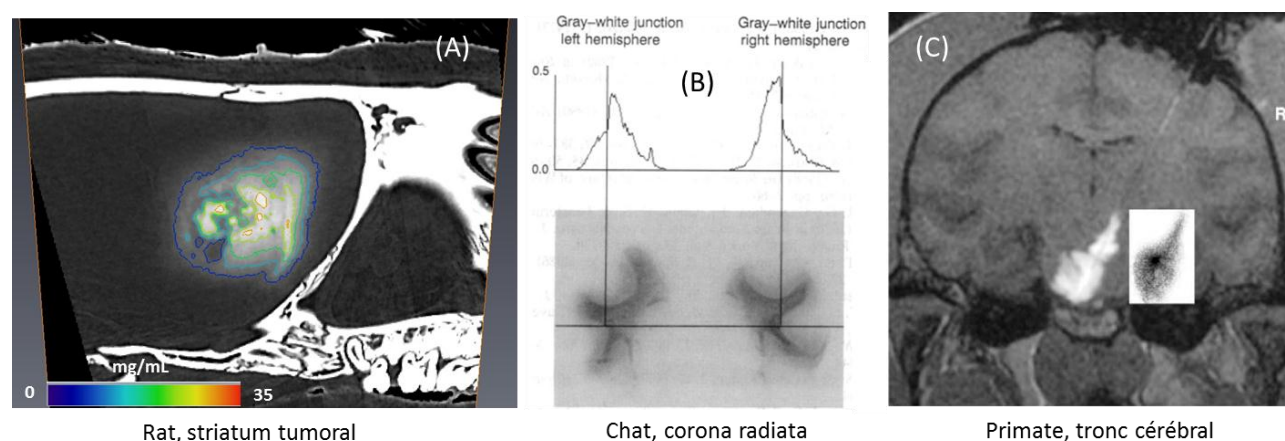


Figure 23 : Imagerie de traceurs administrés par voie intracérébrale (CED) dans (A) le striatum du cerveau de rat porteur de tumeur F98 (tomographie quantitative par rayonnement synchrotron); (B) le corona radiata sain du chat (autoradiographie) [5]; (C) le tronc cérébral sain du primate (imagerie IRM) [50].

1.4 Spécificités du tissu cible

1.4.1 Le tissu cérébral sain

1.4.1.1 Descriptions micro- méso- et macroscopique

Nous présentons dans un premier temps les caractéristiques du cerveau des mammifères, chez l'homme et chez le rat, sur la base de données anatomiques et physiologiques issues d'ouvrages sur le sujet (Paxinos 2004 [51], Fix 2004 [52], Bear *et al.* 2007 [53]). Etant donné les efforts de modélisation réalisés dans ce projet de recherche où l'on vient notamment homogénéiser le tissu à une échelle mésoscopique, spécifier des conditions aux limites sur des structures anatomiques

spécifiques, il reste important de comprendre les bases physiques et biologiques de telles hypothèses. On présentera ainsi de façon succincte les micro- méso- et macrostructures du tissu cérébral selon le point de vue nécessairement simplifié d'un ingénieur.

Le système nerveux central de tous les mammifères est divisé en, d'une part le système nerveux central (SNC), et d'autre part le système nerveux autonome (SNP). Nous décrivons ici seulement les éléments essentiels du SNC, les ventricules cérébraux situés à l'intérieur du cerveau et les membranes qui les recouvrent.

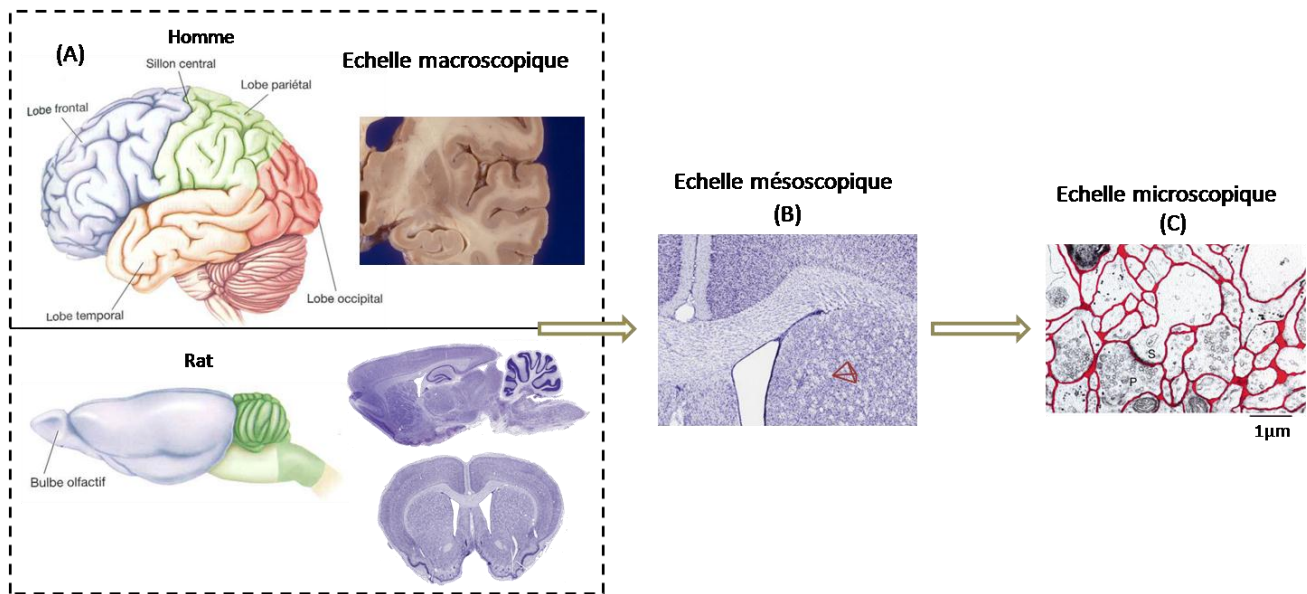


Figure 24 : Illustration du cerveau de l'homme et du rat à différentes échelles. (A) Les coupes histologiques indiquent la forte différence morphologique entre le cortex (ou néocortex) de l'homme par rapport à celui du rat, avec la présence de nombreux sillons. (B) A l'échelle du millimètre, on dénombrerait environ entre 50 et 500 cellules jointives sur cette distance, et à cette échelle, il devient équivalent de s'intéresser au cerveau de l'homme comme à celui du rat. On distinguera alors les structures des tissus comme appartenant à une classe de substance blanche ou grise, typiquement. (C) Echelle de la cellule où l'on distingue les éléments structurels cellulaires. Cette échelle est celle du micromètre. En rouge sur l'image du bas, l'espace interstitielle représentant environ 20 % du tissu. (d'après Nicholson *et al.* 1998 [54], Bear *et al.* 2007 [53], [55])

1.4.1.1.1 Microarchitecture du parenchyme cérébral

On distingue deux types de cellules dans le système nerveux : les neurones et les cellules gliales. Ils représentent tous deux une grande variété de catégories cellulaires selon leur structure, leur chimie ou leur fonction. Le cerveau humain compterait environ 100 milliards de neurones, et bien que les neurones méritent une grande attention de la littérature scientifique en comparaison aux cellules gliales, ces dernières seraient dix fois plus nombreuses. On considère que les neurones sont fonctionnellement plus importants que les cellules gliales en raison de leur rôle dans les circuits sur lesquels s'appuient les fonctions cérébrales. Les neurones sont en effet les unités responsables du traitement des informations émanant de l'environnement, communiquant entre eux et renvoyant par les voies motrices d'autres informations aux muscles et autres structures du corps. Les cellules gliales qui constituent la matrice des neurones sont à ce jour supposées leur apporter un soutien en les isolant, les protégeant et les nourrissant. Les neurones sont constitués d'un soma (ou corps cellulaire) et de neurites, structures fines qui se prolongent du soma. On détaille ici une fois pour toutes l'ordre de grandeur des dimensions des structures présentes dans la cellule neuronale, en

particulier le soma, afin de fixer les idées. Le corps cellulaire d'un neurone possède une taille typique de 20 μm et est limité à l'environnement extracellulaire par une membrane neuronale de 5 nm d'épaisseur. Il contient notamment le cytosol et le noyau cellulaire. Le noyau mesure environ 5 à 10 μm et se trouve enfermé dans l'enveloppe nucléaire, elle-même poreuse avec des trous de l'ordre de 0.1 μm de distance. On trouve, entre autres, à l'intérieur du noyau les chromosomes constitués d'ADN. Ce dernier y est sous forme compacte et sa double hélice possède un diamètre de 2 nm. Les gènes situés sur les chromosomes ont une taille caractéristique de 0.1 à plusieurs microns.

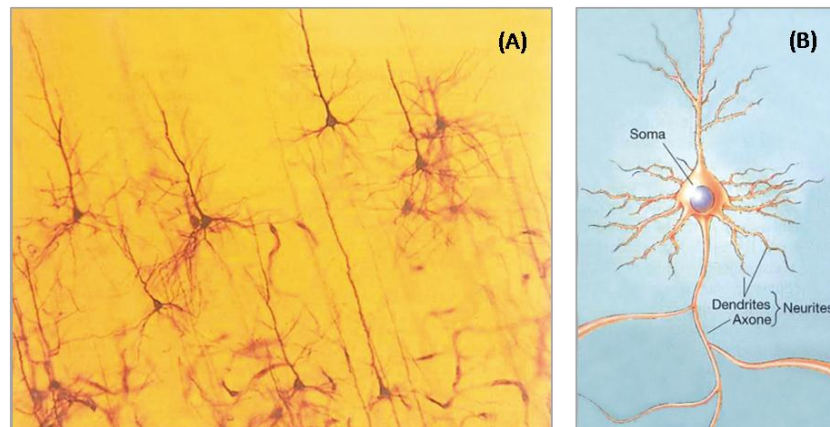


Figure 25 : (A) Neurones (coloration de Golgi). (B) Schéma structurel d'un neurone. (Bear *et al.* 2007 [53])

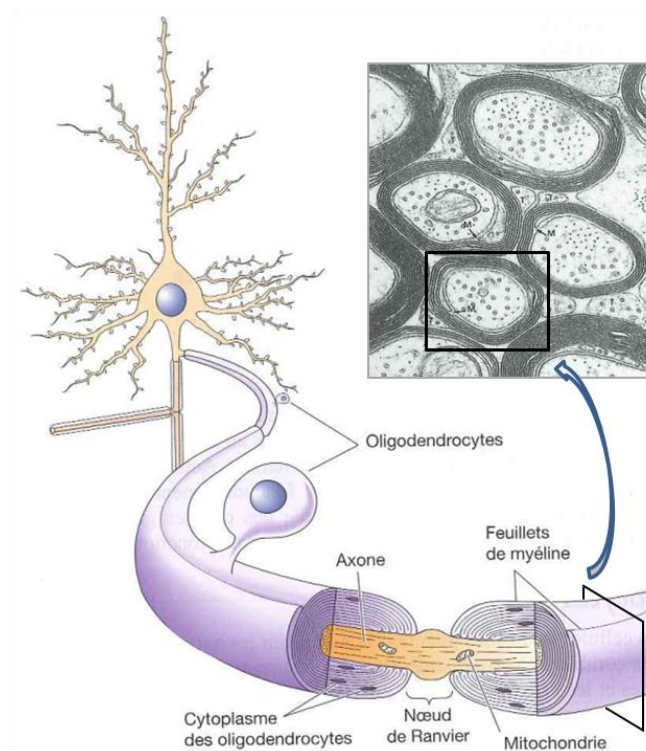


Figure 26 : Représentation d'un oligodendrocyte. La gaine de myéline est interrompue à intervalles réguliers par les nœuds de Ranvier. L'image encadrée représente une coupe d'axones myélinisés du nerf optique vue au microscope électronique (Bear *et al.* 2007 [53], source originale : Dr Alan Peters)

1.4.1.1.2 Description macroscopique du système nerveux central

Le cerveau de l'homme est constitué en poids de 78 % d'eau, 10 à 12 % de phospholipides, 8% de protéines et de faibles quantités de glucides, sels inorganiques et substances organiques solubles. On y distingue majoritairement les compartiments suivants : le parenchyme cérébral, le système ventriculaire et le système vasculaire. On ne présente ici que le parenchyme cérébral et le système ventriculaire.

Compartiment 1 – parenchyme cérébral

Les structures cérébrales majeures du rat et de l'homme sont présentées sur la Figure 27 ci-dessous.

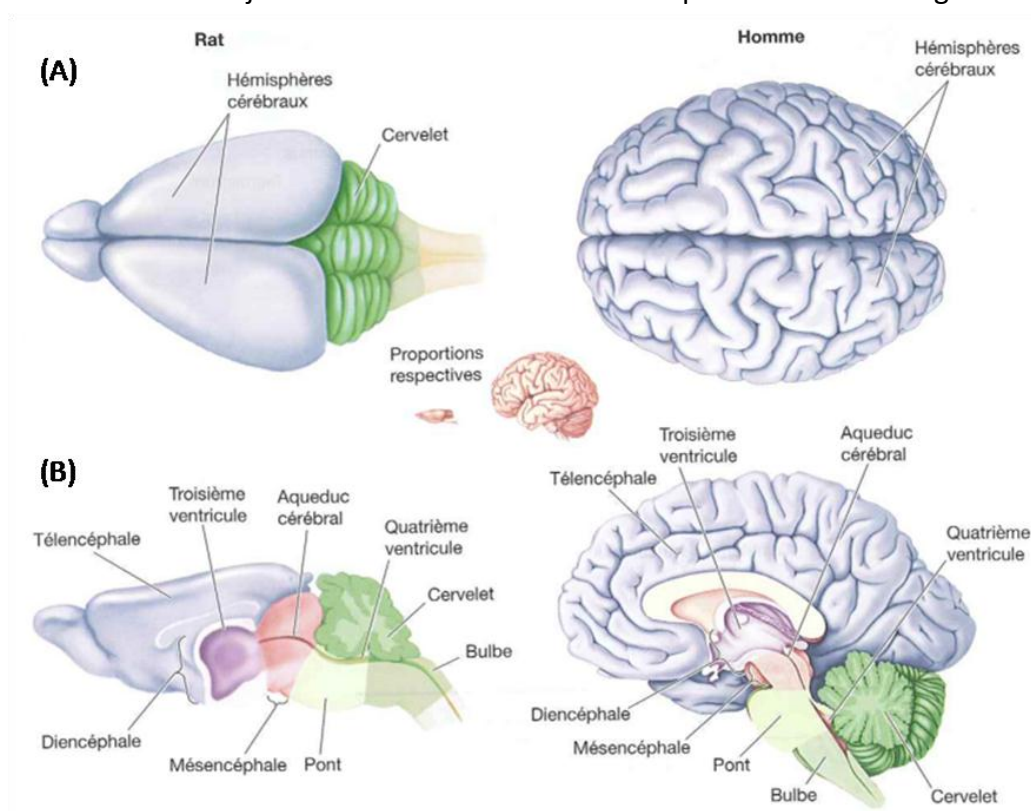


Figure 27 : (A) Vue dorsale et (B) vue médiosagittale du cerveau de l'homme et du rat. [53]

Une des principales différences entre le cerveau de l'homme et celui du rat réside dans l'allure du cortex (ou néocortex plus exactement). A titre informatif, il est responsable des facultés tel que le raisonnement et la cognition. Il constitue la couche externe du cerveau adulte sur une épaisseur moyenne de 2.5 mm, variant entre 1 et 4.5 mm (Fischl *et al.* 2000 [56]) (données cortex humain, écart-type inter-sujets inférieur à 0.5 mm dans cette étude). Chez l'homme, la structure du cortex est nettement plus complexe avec de nombreuses circonvolutions. Les sillons sont appelés des « sulcus » et les crêtes des « gyrus ». On parle de gyrencéphale pour l'homme et de lissencéphale pour le rat. Cette différence structurelle serait due à la différence de taille entre les deux espèces. On note ici que dans l'évolution du développement cérébral humain, on considère que la surface du cortex atteint sa forme finale à l'âge d'environ un an (*cf.* Paxinos *et al.* 2004 [51], p. 50). On note par ailleurs que la masse cérébrale évolue linéairement avec le poids corporel pour des données de type primate non-humain, l'homme se situant selon ce même axe. Le volume du cortex évolue

linéairement avec le volume total du cerveau. Par ailleurs, toujours en termes de volume, on comptera chez l'adulte humain un volume cérébral moyen de $1243 \pm 122 \text{ cm}^3$, avec $1297 \pm 113 \text{ cm}^3$ chez l'homme et $1205 \pm 116 \text{ cm}^3$ chez la femme (Hasboun *et al.* 1996 [57]), en raison des écarts de taille de chacun. La surface corticale associée à ce volume est d'environ 1100 cm^2 d'après (Bear *et al.* 2007 [53]), soit un carré de $(33 \text{ cm})^2$. Chez le rat, le volume du cerveau est de l'ordre de $599 \pm 11 \text{ mm}^3$ (Sahin *et al.* 2001 [58]), soit un cerveau environ 2000 fois moins volumineux que celui de l'humain. Le lecteur peut consulter la page web suivante [59] pour mieux visualiser les plages de variation des tailles de cerveau de différentes espèces.

Neuroanatomie de l'homme

Chez l'homme, le cerveau est délimité par quatre lobes – frontal, pariétal, temporal et occipital – nommés selon les structures osseuses adjacentes. On note par ailleurs l'existence de sillons profonds anatomiques, appelés scissures, séparant certains d'entre eux. Par exemple le sillon central, ou encore sillon de Rolando, sépare le lobe frontal du lobe pariétal ; le lobe temporal est séparé du lobe frontal et pariétal par la scissure latérale, ou encore scissure de Sylvius. Une partie du cortex est située à l'intérieur de la scissure de Sylvius, il s'agit du cortex insulaire. Les deux hémisphères cérébraux sont séparés par la scissure sagittale (ou médiane). Le cervelet quant à lui, situé en arrière du cerveau, est dominé par le cerveau. Il compte toutefois le même nombre de neurones que les deux hémisphères cérébraux réunis. Il est impliqué dans le contrôle du mouvement, et contrairement aux deux hémisphères cérébraux, l'hémisphère cérébelleux gauche contrôle le côté gauche du corps et de même pour le côté de droit. La troisième partie du cerveau est constituée du tronc cérébral, lieu d'échanges des informations entre le cerveau, la moelle épinière et le cervelet. Il est souvent considéré comme la partie la plus primitive du cerveau. Il est constitué du mésencéphale, du pont et du bulbe. La moelle épinière enfin, est rattachée au tronc cérébral. Elle est la principale structure de transmission du corps vers le cerveau au travers des nerfs spinaux.

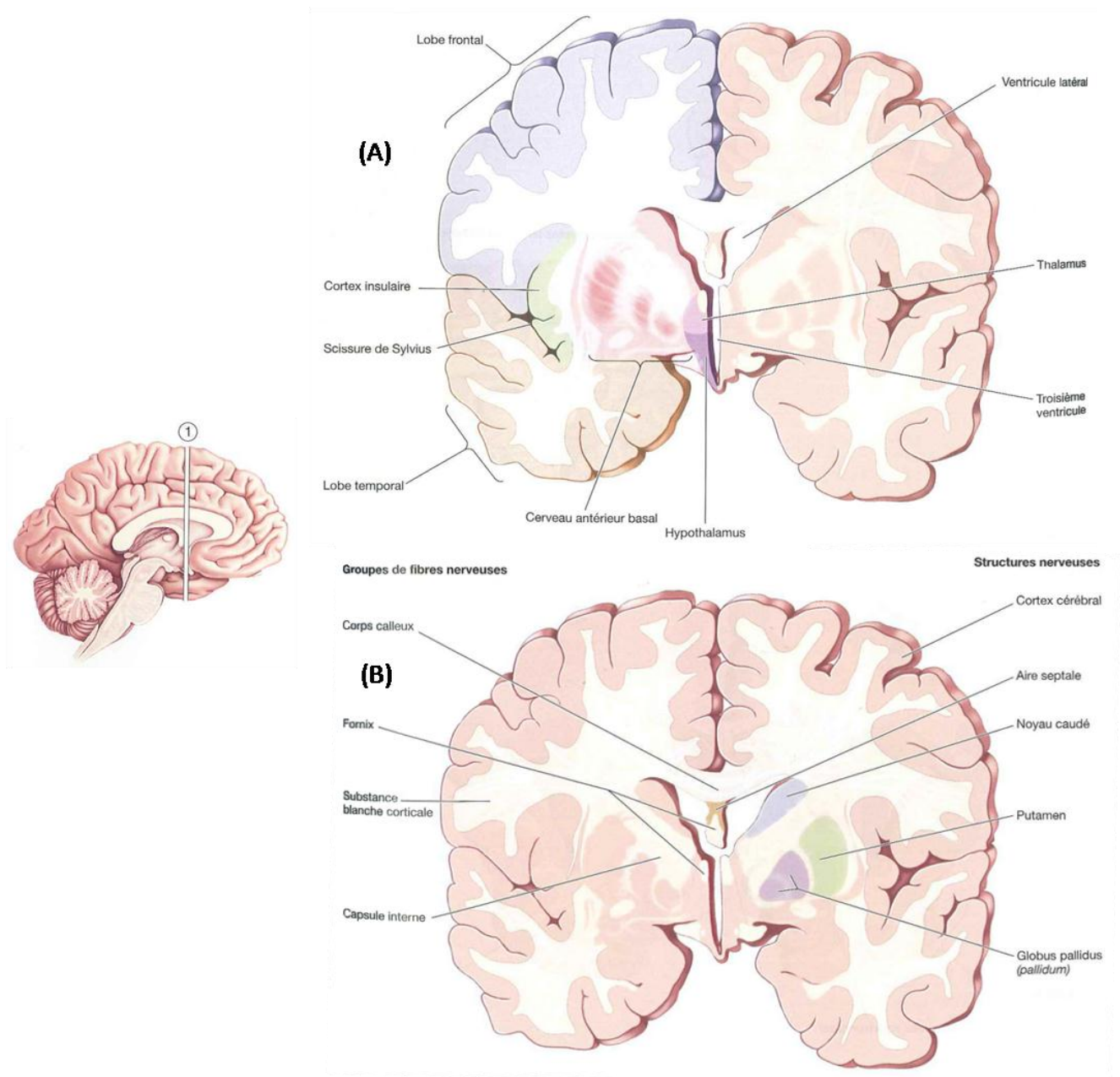


Figure 28 : Cerveau antérieur de l'homme au niveau de la jonction thalamus – télencéphale. (A) Organisation générale. (B) Principales structures et faisceaux nerveux. (d'après Bear et al. 2007 [53])

On notera également que les deux hémisphères cérébraux sont reliés entre eux par des faisceaux de substance blanche en trois endroits, le pont principal étant réalisé au niveau du corps calleux, cf. Figure 28 (B). Les deux autres étant les commissures antérieure et postérieure. Les faisceaux du corps calleux sont en continuité avec la substance blanche corticale reliant ainsi les neurones corticaux de chaque hémisphère.

Conditions limites du cerveau

La boîte crânienne qui contient le cerveau *in vivo* lui assure une protection. Cela dit, sous la voûte crânienne, des éléments anatomiques supplémentaires sont présents pour maintenir son homéostasie. On notera en effet que le cortex est entouré de plusieurs enveloppes – les méninges

– dans lesquels se trouve un espace où circule le liquide céphalo-rachidien assurant un rôle de protection mécanique et immunitaire, ainsi que de drainage des déchets métaboliques. Le cerveau est par ailleurs maintenu structurellement par des extensions de la dure mère avec la faux du cerveau et la tente du cervelet.

Les méninges

Le cortex cérébral *in vivo* est enveloppé des méninges formés des trois feuillets suivants, du crâne vers le cerveau : la dure-mère, l'arachnoïde et la pie-mère (*cf.* Figure 29). La dure-mère, la plus externe est une membrane rigide à la texture du cuir, formée par du tissu conjonctif dense. Elle est adhérente aux structures osseuses adjacentes ; fortement sur la base et faiblement sous la voûte crânienne. L'arachnoïde, située au contact inférieur de la dure-mère, a quant à elle l'apparence d'une toile d'araignée comme son nom l'indique. Cette membrane est conjonctive, avasculaire et en contact avec la dure-mère sous la pression du liquide céphalo-rachidien circulant sous son bord inférieur. Lors de la rupture d'une veine cérébrale supérieure, un hématome peut se former dans l'espace sous-dural, entraînant la compression du cerveau. La pie-mère, qui enveloppe directement l'encéphale et la moelle épinière jusque dans les sillons cérébraux, est constituée de tissu conjonctif et est parcourue par de nombreux vaisseaux sanguins qui s'enfoncent dans le parenchyme cérébral. Au niveau terminologique, on parle de pachyméninge pour la dure-mère et de leptoméninge pour l'arachnoïde et la pie-mère. On distingue également trois espaces méningés : extra-dural, sous-dural et sous arachnoïdien.

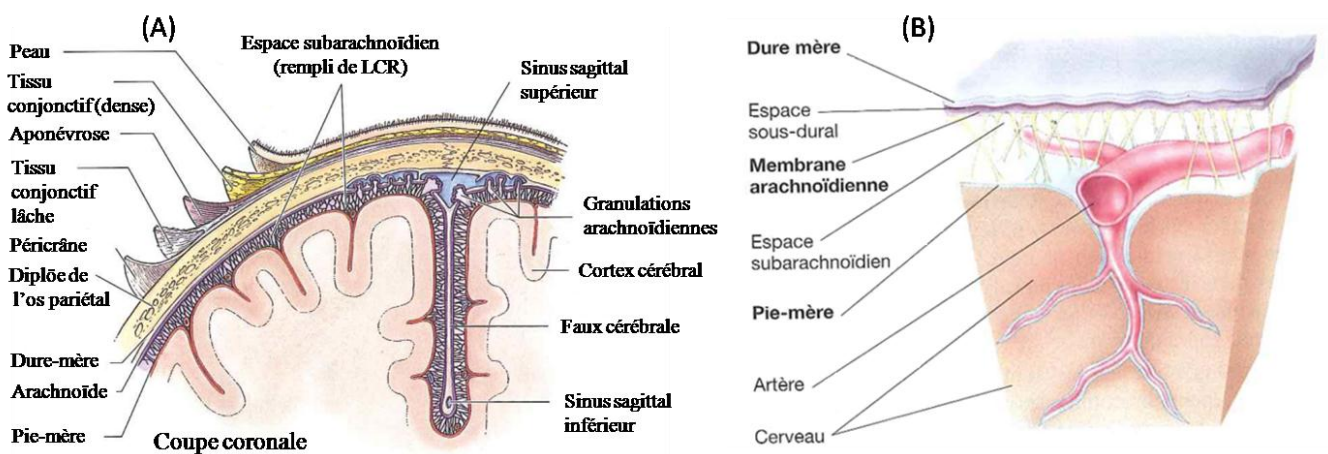


Figure 29 : (A) Schéma d'une coupe coronale de la boîte crânienne (Moore *et al.* 2006 [60]). (B) Schéma des méninges (Bear *et al.* 2007 [53]). La première membrane sous la voûte crânienne est la dure-mère, suivi directement de la membrane arachnoïdienne puis de la pie-mère qui épouse le cortex. L'espace sous-arachnoïdien accueille le liquide céphalo-rachidien qui circule depuis les ventricules cérébraux.

Expansions de la dure-mère

La dure-mère est étendue au-delà de la simple enveloppe du cerveau. On la retrouve essentiellement aux endroits suivants : la faux du cerveau et la tente du cervelet. La faux du cerveau, dont la forme est bien décrite par son nom, est située dans la scissure inter-hémisphérique (*cf.* Figure 30). En arrière du cerveau, la faux repose sur la tente du cerveau. Cette dernière est tendue quasiment horizontalement en dessous du lobe occipital et au-dessus du cervelet. La tente

du cervelet définit la notion anatomique d'étage sous ou sus-tentorial, ou encore infra ou supra-tentorial, pour décrire les structures étant situées en-dessous ou au-dessus d'elle. On notera également que la dure-mère se déforme localement au niveau du sinus veineux sagittal supérieur là où des granulations arachnoïdiennes se projettent dans le sinus veineux, ces granulations étant impliquées dans le processus de résorption du liquide céphalo-rachidien, tel que décrit plus loin. Deux autres expansions de la dure-mère existent : la faux du cervelet et le diaphragme sellaire ; elles ne sont pas explicitées ici.

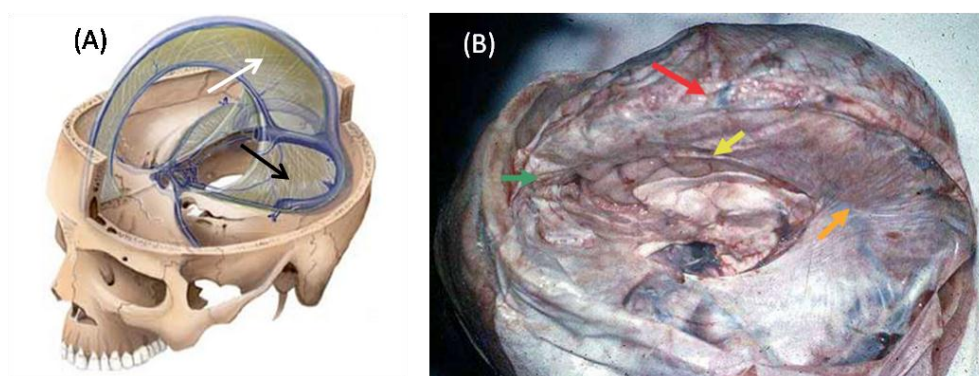


Figure 30 : (A) Représentation schématisée de la faux du cerveau (flèche blanche) et de la tente du cervelet (flèche noire). Le sinus sagittal supérieur apparaît en bleu comme la veine surplombant la faux, et le sinus sagittal inférieur correspond à l'arc inférieur de la faux. (B) Image d'un cerveau post-mortem après hémisphérectomie gauche. Les flèches décrivent la faux : la verte correspond au sommet, la rouge au bord supérieur, la jaune au bord inférieur et la orange à la base. (d'après Hasboun [61])

Compartiment 2, le système ventriculaire

Le système ventriculaire est formé par un réseau de cavités présentes dans le cerveau, assurant la circulation du liquide céphalo-rachidien (LCR ou CSF de l'anglais « cerebrospinal fluid »), cf. Figure 31 (A). Ce dernier est produit à l'intérieur des ventricules cérébraux au niveau des plexus choroïdes. Il s'écoule ensuite par des cavités inférieures jusqu'au niveau du tronc cérébral où il pénètre par de petites ouvertures dans l'espace sous-arachnoïdien. Il circule ensuite dans cet espace tout autour du cerveau jusqu'à être résorbé par le sinus sagittal supérieur au niveau de structures particulières, les granulations arachnoïdiennes (cf. Figure 29). Du point de vue anatomique, les ventricules latéraux (1^{er} et 2^{ème} ventricules) sont les plus grandes cavités du système ventriculaire. Ils sont en forme de « C » et sont séparés au niveau médian par une membrane fine, le septum pellicidum (cf. aire septale, Figure 28 (B)). Chaque ventricule latéral communique avec le troisième ventricule par le foramen interventriculaire, appelé foramen de Monroe. Le troisième ventricule, entouré des parois médiales du diencephale, communique ensuite par un conduit étroit, l'aqueduc cérébral, vers le 4^{ème} ventricule. Un conduit étroit se poursuit ensuite jusqu'à la région cervicale de la moelle épinière où l'on parle de canal central. Le LCR est drainé dans l'espace sous-arachnoïdien depuis le 4^{ème} ventricule par l'ouverture médiane et les ouvertures latérales paires, cf. Figure 31 (A). Les plexus choroïdiens sont constitués de franges vasculaires de surface piaie qui sont recouvertes de cellules épithéliales, ces dernières assurant la production du LCR. Ils sont situés dans les ventricules latéraux au niveau du sol central et des cornes inférieures, ainsi que dans le toit du 3^{ème} et 4^{ème} ventricule. Quant au fonctionnement du système ventriculaire, on note que des anomalies dans la circulation (obstruction des ouvertures, sténose de l'aqueduc) ou dans la résorption du LCR peuvent

être responsables d'hydrocéphalie, caractérisée par une dilatation des ventricles avec pour conséquence une compression du cerveau dans le cas de l'adulte et une dilatation de la boîte crânienne chez l'enfant.

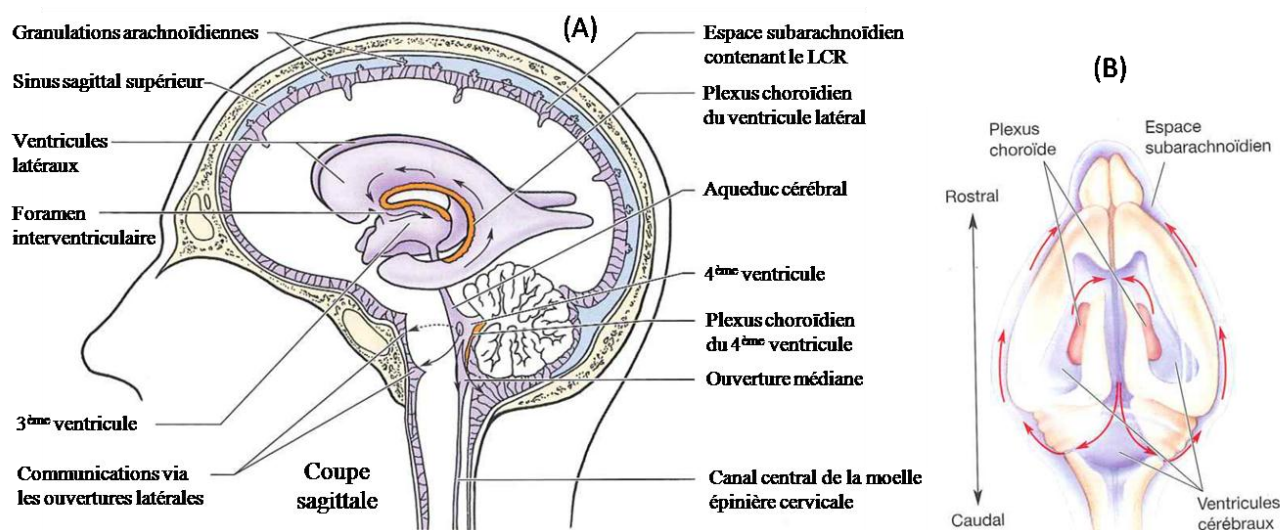


Figure 31 : Système ventriculaire (A) chez l'homme [60] et (B) chez le rat [53].

Le LCR est un liquide clair, incolore et acellulaire ($< 5 \text{ lymphocytes} \cdot \text{mm}^{-3}$). Le taux de protéine est inférieur à 45 mg par 100 mL , et le taux de glucose est supérieur à 45 mg par 100 mL (Fix 2004 [52]). Ces caractéristiques changent par exemple dans le cas d'une hémorragie sous-arachnoïdienne ou d'une méningite bactérienne. Ses fonctions se résument ainsi : il entoure et protège mécaniquement le système nerveux central contre les chocs extérieurs, il transporte des hormones et des nutriments et enfin il résorbe et élimine les produits du métabolisme. Par ailleurs, le volume de LCR chez l'adulte est d'environ 135 mL avec un taux de production d'environ 400 à 500 mL par jour, soit environ un renouvellement complet toutes les 3 à 4 heures (Moore *et al.* 2006 [60], Maurer *et al.* 2010 [62]).

1.4.2 Le tissu cérébral tumoral

1.4.2.1 Angiogenèse et croissance tumorale

La croissance des vaisseaux sanguins connue comme angiogenèse est un processus physiologique naturel essentiel pour la croissance des organes et la réparation des tissus. Des déséquilibres associés à cette croissance sont à l'origine de plusieurs pathologies telles qu'une tumeur, une inflammation, une ischémie, une infection ou des désordres immunitaires. Les vaisseaux sanguins sont responsables de l'apport en oxygène et en nutriments nécessaires au développement d'un tissu. Durant l'angiogenèse, de nouveaux vaisseaux germent à partir des vaisseaux existants, se remodelant ensuite en un réseau vasculaire structuré. La vascularisation cérébrale normale est constituée de cellules endothéliales, de péricytes et d'astrocytes formant la Barrière Hémato-Encéphalique (BHE, ou « BBB » en anglais pour « Blood Brain Barrier ») [63]. Les cellules endothéliales présentent des jonctions étroites qui limitent le transport transvasculaire d'espèces systémiques, typiquement pour des molécules hydrophiles de poids moléculaire supérieur à 500

kDa. La BHE constitue ainsi un obstacle pour la délivrance de drogues dans le parenchyme cérébral par voie systémique. Cela dit, pour des tumeurs cérébrales primaires ou métastatiques, la BHE tumorale commence à se modifier structurellement et fonctionnellement dès qu'elles atteignent environ 1 à 2 mm en diamètre. En plus de ces modifications, ces tumeurs sont caractérisées par une angiogenèse prononcée associée à une forte prolifération endothéliale. Dans un glioblastome, les vaisseaux sanguins sont connus pour être tortueux, anarchiques et fortement perméables dépendamment du mur endothélial, cf. Figure 32. Parmi les facteurs agissant dans cette prolifération endothéliale et augmentation de perméabilité capillaire intervient notamment le facteur de croissance endothéliale vasculaire (VEGF).

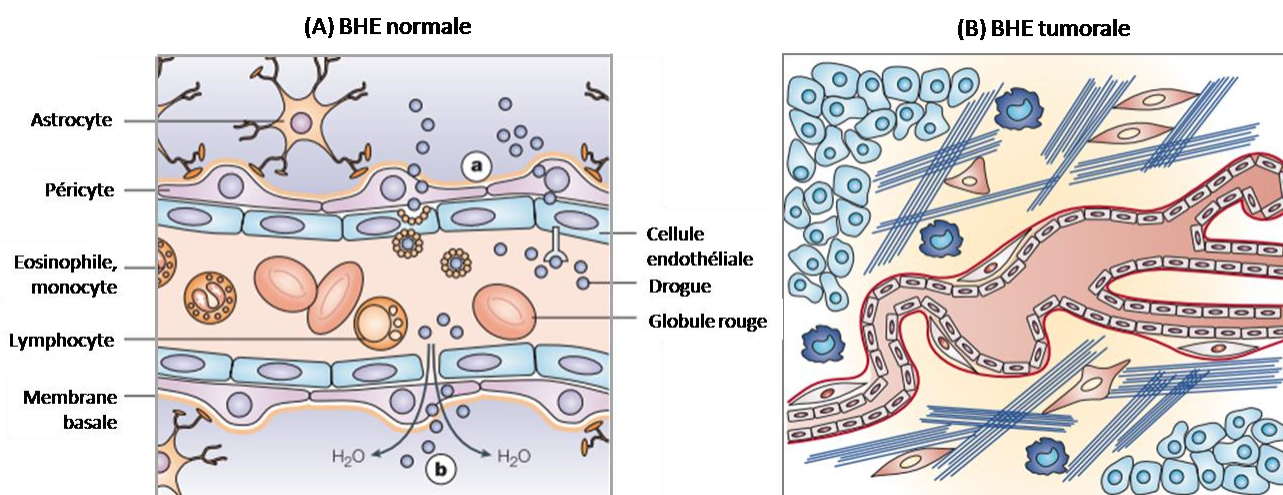


Figure 32 : Schémas d'organisation de la barrière hémato-encéphalique (BHE) saine ou tumorale. (d'après [64, 65]). (A) La BHE saine est constituée de jonctions endothéliales étroites qui limitent les échanges entre la circulation systémique et l'interstitium tumoral. Une meilleure pénétration des drogues administrées par voie systémique nécessite par exemple une augmentation de la perméabilité du mur capillaire (Aa). (Ab) indique une perturbation temporaire de la BHE. (B) La BHE tumorale possède des vaisseaux sanguins tortueux présentant une fonctionnalité altérée. Ils fuient davantage que la BHE saine et ceci de façon hétérogène et dépendante du temps.

La perméabilité vasculaire de tumeurs intracrâniennes est rapportée comme généralement élevée par rapport au tissu cérébral sain ; de l'ordre d'un facteur 20 sur la base des paramètres choisis par Baxter et Jain 1989 [2] pour des macromolécules. Elle varie toutefois selon le type de tumeur, la localisation intratumorale et elle dépend du temps. Il s'agit donc d'une caractéristique dynamique. De plus, l'hétérogénéité spatiale de la perméabilité peut induire des anomalies de l'écoulement dans les vaisseaux sanguins (Jain *et al.* 2007 [63]).

Il est intéressant de noter au niveau des modèles animaux qu'une tumeur implantée en sous cutanée par rapport à une tumeur implantée en intracrânien ne possède pas les mêmes propriétés transvasculaires. En particulier, la taille de coupure (perméabilité) est plus faible dans le cas d'une tumeur intracrânienne (Hobbs *et al.* 1998 [66]). Cela indique une influence du microenvironnement tumoral sur le transport transvasculaire.

1.4.2.2 Pressions intratumorales

Plusieurs études rapportent expérimentalement l'existence de pressions intratumorales élevées dans les tumeurs solides chez l'animal comme chez l'homme pour plusieurs types de tumeurs (Jain

et al. 1987 [67], Jain *et al.* 1988 [1], Boucher *et al.* 1990 [3], Boucher *et al.* 1992 [68], Boucher *et al.* 1997 [69]), avec des valeurs typiques de 10 à 50 *mmHg* (i.e. 1.3 à 6.7 *kPa*). Ces pressions sont mesurées *via* différentes méthodes selon les études : implantation de capsules perforées ou poreuses, l'introduction d'un cathéter contenant une mèche (« wick catheter »), ou bien d'une aiguille à port latéral contenant plusieurs fils de nylon (« wick-in-needle »), ou bien par l'insertion d'une micropipette asservie en pression, *cf.* Fadnes *et al.* 1977 [70], Wiig *et al.* 1986 [71], Boucher *et al.* 1990, 1992 [3, 68].

Boucher *et al.* 1990 [3] observent des pressions interstitielles plus élevées (de l'ordre de 10 à 15 *mmHg*, i.e. 1.3 à 2 *kPa*) au centre tumoral qu'en périphérie. Leurs mesures sont réalisées avec des micropipettes sur des tumeurs isolées Walker 256 et sous-cutanées R3230AC de masse de 0.5 à 6 *g* chez le rat. Boucher *et al.* 1992 [68] trouvent pour des tumeurs isolées R3230AC que la pression interstitielle tumorale égale environ la pression microvasculaire sauf à la périphérie tumorale où cette dernière est supérieure à la pression interstitielle. Ils rapportent également une pression intratumorale (au centre) qui augmente en fonction du temps post-implantation tumorale (de 10 à 16 jours). DiResta *et al.* 1993 [72] trouvent des résultats similaires à Boucher *et al.* 1990 [3] sur le modèle de tumeur NMB-7 en sous-cutané chez le rat, en adjoignant des mesures de vitesse interstitielle par la méthode CLGH (« Clearance of Locally Generated Hydrogen »). Boucher *et al.* 1996 [73] observent par la suite une corrélation entre néovascularisation tumorale et élévation de la pression intratumorale : des écarts significatifs de pression sont mesurés par micropipette à trois stades de développement « tumeur avasculaire », « apparition de boucles vasculaires » et « tumeur vascularisée » pour des tumeurs MCalV et LS174T chez la souris, *cf.* Figure 33 ci-dessous. Netti *et al.* 1995 [74] établissent une corrélation entre la dynamique de la pression vasculaire et la dynamique de pression intratumorale sur un modèle de tumeur isolée LS174T chez la souris. Boucher *et al.* 1997 [69] ont par ailleurs étudié les pressions intratumorales dans des tumeurs intracrâniennes F98 et R3230AC chez le rat. Ils rapportent notamment pour le modèle F98 implanté dans le parenchyme que pour des volumes tumoraux de l'ordre de 10 *mm*³, la pression intratumorale est plus élevée que dans le cortex adjacent, tandis que pour des tumeurs de volume ≥ 16 *mm*³, ces deux pressions s'équilibrent. Ils discutent pour cela l'hypothèse qu'au-delà d'un certain volume tumoral, le taux de filtration de fluide du sang vers l'interstitium tumoral est tel qu'il ne peut être résorbé suffisamment vite par le cerveau, réduisant ainsi le gradient de pression tumeur - cortex.

Parmi les études où les pressions intratumorales sont mesurées chez l'homme (technique « wick-in-needle » typiquement), on pourra noter Gutmann *et al.* 1992 [75], Boucher *et al.* 1997 [69], Boucher *et al.* 1991 [76], Nathanson *et al.* 1994 [77], Less *et al.* 1992 [78], Curti *et al.* 1993 [79].

Ces mécanismes physiologiques intratumoraux seraient une des causes d'échec de délivrance des drogues *in vivo* car elles chasseraient les agents thérapeutiques de l'interstitium tumoral vers l'interstitium sain périphérique. Nous présentons ci-dessous les bases théoriques associées à ce type de mécanismes.

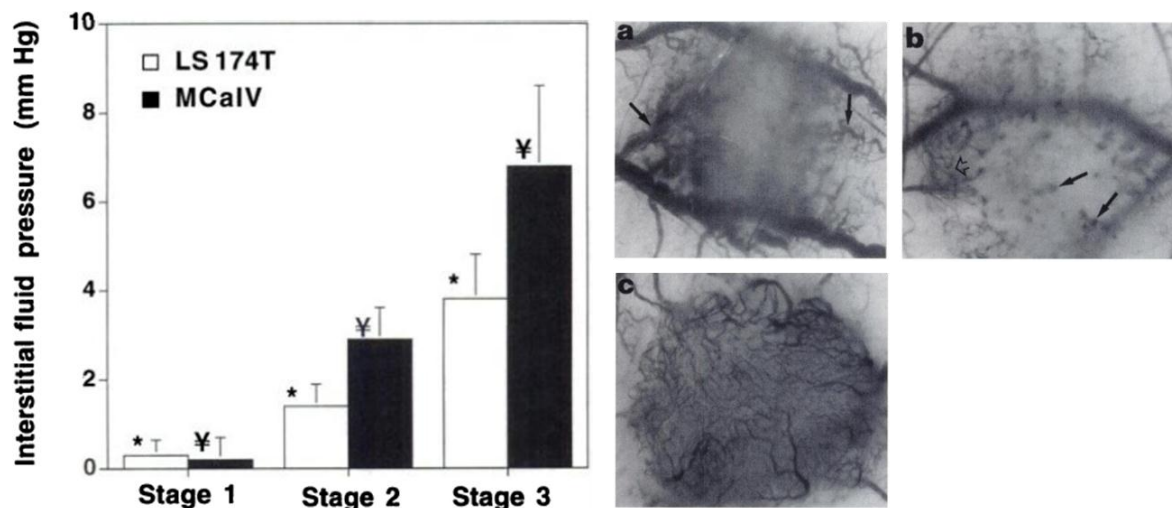


Figure 33 : Evolution de la pression interstitielle intratumorale en fonction du stade de vascularisation tumorale pour des tumeurs LS174T et MCalV sous des fenêtres dorsales chez la souris. A droite, les trois stades observés pour les tumeurs LS174T : (a) Stade I : tumeur avasculaire entourée de vaisseaux normaux ; (b) Stade II : Apparition de germes vasculaires ; (c) Stade III : tumeur vascularisée. D'après Boucher *et al.* 1996 [73]

1.4.2.3 Modèles théoriques de physiologie tumorale

Il existe plusieurs modèles mathématiques permettant d'étudier la physiologie tumorale, i.e. qui traduisent la relation entre vascularisation et écoulement interstitiel. On distingue notamment les modèles macroscopiques des modèles compartimentaux et des modèles microscopiques. Nous présentons ici quelques mécanismes physiologiques des tumeurs solides en décrivant le formalisme mathématique d'hydrodynamique et de transport selon une approche macroscopique en abordant nécessairement le couplage entre la vascularisation et l'interstitium du tissu tumoral. Ce dernier s'appuie typiquement sur la loi de Starling, reliant les échanges de fluide entre ces deux domaines par un différentiel de pression comme nous l'expliquons plus loin.

Baxter *et Jain* [2] ont proposé en 1989 un modèle mathématique macroscopique de transport transvasculaire et interstitiel de macromolécules dans le contexte d'injection systémique d'agents thérapeutiques pour le traitement des tumeurs solides (pas nécessairement cérébrales). Leur modèle est basé sur une approche de milieu poreux rigide avec des paramètres de tissus continus et uniformes par domaine. Ils ont poursuivi cette approche au travers des références (Baxter *et al.* 1990 [80], Baxter *et al.* 1991a [81], Baxter *et al.* 1991b [82]). Ces travaux constituent à ce jour une des références essentielles de la littérature sur le transport d'espèces par voie transvasculaire et interstitielle dans les tumeurs. Nous en faisons un condensé ici tout en explicitant les solutions d'hydrodynamique interstitielle, ces résultats étant essentiels pour la compréhension des mécanismes de barrière physiologique dans les tumeurs au sens large, y compris pour les tumeurs cérébrales. Nous rappelons que la différence entre les tumeurs cérébrales et celles non-cérébrales se situent au niveau du cerveau qui possède une vascularisation différente (présence de la barrière hémato-encéphalique) et qui n'a pas de système lymphatique effectif. Leurs calculs menés à la fois analytiquement et numériquement portent sur les équations d'écoulement quasi-stationnaire et de transport transitoire dans le tissu d'une tumeur à symétrie sphérique et présentant une vascularisation homogène (pas de nécrose par exemple). Leur modèle n'intègre pas les interactions

de type liaisons chimiques entre les macromolécules et l'espace interstitiel (matrice extracellulaire, surface des cellules). Selon ces conditions de modélisation, leur approche permet d'identifier le rôle de la distribution de pression interstitielle dans la tumeur, et d'analyser sa conséquence sur le transport interstitiel d'espèces administrées par voie vasculaire. Le modèle décrit en particulier l'existence de pressions interstitielles intra-tumorales élevées, avec une distribution radiale non uniforme, avec pour conséquences : 1) une réduction de la force d'extravasation du fluide et des macromolécules dans la tumeur ; 2) un taux de filtration hétérogène, particulièrement faible dans la région centrale de la tumeur ; 3) l'existence d'un mouvement convectif du fluide interstitiel dirigé vers la périphérie tumorale, qui s'oppose à la diffusion moléculaire des espèces périphériques vers l'intérieur de la tumeur. Le formalisme mathématique développé est appliqué par la suite à deux cas de figure : le cas d'une tumeur isolée puis le cas d'une tumeur entourée de tissu sain. Les hypothèses mathématiques et physiologiques sous-jacentes à leur description sont décrites ci-dessous.

Les interactions entre capillaires, qui pourraient réduire la quantité de fluide extravasée des vaisseaux sanguins par rapport à la loi de Starling, sont négligées.

Ce modèle est macroscopique ; il ne décrit pas la géométrie microstructurale du tissu, plus précisément les vaisseaux sanguins, les cellules, la matrice extracellulaire et l'espace interstitiel. Ils sont représentés mathématiquement au travers des équations appliquées.

- Hydrodynamique : couplage des échanges transvasculaires et de l'écoulement interstitiel

Le formalisme mathématique est présenté en prenant en compte la présence d'un système lymphatique dans le domaine tumoral (ce qui serait utile pour décrire le comportement physiologique d'une tumeur infiltrante non cérébrale par exemple), bien que ce terme ne soit pas ensuite considéré dans la résolution analytique des équations d'écoulement. Le formalisme inclus également dans un premier temps la présence d'un cœur nécrotique de rayon R_C dans la tumeur de rayon R_T . L'hydrodynamique interstitielle est décrite par deux équations : la loi de Darcy, puis l'équation de continuité :

$$\begin{cases} \vec{v}_i = -\kappa \overrightarrow{\text{grad}} p_i \\ \text{div}(\vec{v}_i) = \begin{cases} 0 & \text{pour } r \leq R_C \\ \Omega_V(r) - \Omega_L(r) & \text{pour } r \geq R_C \end{cases} \end{cases}$$

Eq. 8

Où p_i (Pa) est la pression interstitielle du fluide, $\vec{v}_i$ ($m.s^{-1}$) la vitesse interstitielle du fluide et κ ($m^3.s.kg^{-1}$) la conductivité hydraulique du tissu pour un fluide donné. Les termes Ω_V et Ω_L (s^{-1}) décrivent la source et perte de fluide interstitiel en raison des échanges vasculaires et lymphatiques, respectivement. Ils sont tous deux proportionnels à un différentiel de pression faisant intervenir la pression interstitielle selon la loi de Starling [83] :

$$\text{pour } r \geq R_C \left\{ \begin{array}{l} \Omega_V(r) = \frac{J_V}{V} = \frac{L_p S}{V} (p_V - p_i - \sigma_T(\pi_V - \pi_i)) \\ \Omega_L(r) = \frac{J_L}{V} = \frac{L_{pL} S_L}{V} (p_i - p_L) \end{array} \right.$$

$$\text{et } \Omega_V(r) = \Omega_L(r) = 0 \text{ s}^{-1} \text{ pour } r \leq R_C$$

Eq. 9

Avec J_V ($m^3 \cdot s^{-1}$) le débit volumique de fluide passant de la vascularisation à l'interstitium, puis J_L ($m^3 \cdot s^{-1}$) le débit volumique de fluide interstitiel passant de l'interstitium dans le système lymphatique. V (m^3) est le volume de tissu considéré, équivalent à la masse de tissu ρV (kg). L_p ($m^2 \cdot s \cdot kg^{-1}$) est la conductivité hydraulique vasculaire et $s = S/V$ ($m^2 \cdot m^{-3}$) la surface d'échanges microvasculaires rapportée au volume de tissu considéré. La pression effective de Starling p_e (Pa) est définie par $p_e = p_v + \sigma_T(\pi_i - \pi_v)$ où p_v (Pa) est la pression vasculaire et la seconde partie un terme de nature osmotique ; π_i et π_v (Pa) étant les pressions osmotiques interstitielles et vasculaires et σ_T un coefficient de réflexion osmotique. Si un coeur nécrotique était pris en compte dans le modèle, cela se traduirait par une condition de débits vasculaire et lymphatique nuls dans cette région (cf. Eq. 9).

Sous l'hypothèse d'homogénéité de la conductivité hydraulique κ , la combinaison des équations de Darcy et de continuité conduit à l'équation stationnaire suivante sur la pression interstitielle :

$$\Delta p_i = \frac{\alpha^2}{R_T^2} (p_i - p_{ss}) \quad \text{avec} \quad \left\{ \begin{array}{l} \alpha = R_T \sqrt{\frac{(L_p S + L_{pL} S_L)}{\kappa}} \\ p_{ss} = \frac{L_p S p_e + L_{pL} S_L p_L}{L_p S + L_{pL} S_L} \end{array} \right.$$

Eq. 10

α étant un facteur adimensionnel faisant intervenir le rapport entre le produit conductivité hydraulique vasculaire par la surface d'échanges capillaires et la conductivité hydraulique du tissu. Et p_{ss} (Pa) est la pression interstitielle pour laquelle le débit volumique vasculaire égale le débit volumique lymphatique ($J_V = J_L$), appelée pression quasi-stationnaire par Baxter et Jain.

Deux cas de figure sont abordés dans la résolution des équations : le premier, noté (a), est une tumeur sphérique isolée ; le second, noté (b), est une tumeur sphérique entourée de tissu sain. Dans les deux cas, la tumeur possède un rayon R_T . Dans le deuxième cas, R_T est considéré comme petit comparé au reste du tissu adjacent (l'infini). Les conditions aux limites sont alors définies de la façon suivante : 1) la vitesse interstitielle est nulle au centre de la tumeur (symétrie géométrique) ; 2) (a) la pression interstitielle en $r = R_T$ est fixée par p_∞ ; 2) (b) la pression et la vitesse interstitielle sont continues à l'interface tumeur – tissu normal.

$$\left\{ \begin{array}{ll} \frac{\partial p_i}{\partial r} \Big|_{r=0} = 0 & (a) \text{ et } (b) \\ p_i(R_T) = p_\infty & (a) \\ p_i(R_T^-) = p_i(R_T^+) \text{ et } -\kappa_T \frac{\partial p_i}{\partial r} \Big|_{R_T^-} = -\kappa_N \frac{\partial p_i}{\partial r} \Big|_{R_T^+} & (b) \end{array} \right.$$

Eq. 11

Les auteurs exhibent alors les solutions analytiques stationnaires associées à ces deux cas de figure. Cette résolution suppose finalement que les paramètres suivants sont homogènes dans la tumeur : $\kappa, L_p, S, p_V, \pi_V, \pi_i$ et σ . Pour une tumeur isolée, la pression et la vitesse interstitielle s'écrivent en notation adimensionnelle selon ¹ :

$$\left\{ \begin{array}{ll} \tilde{p}_i(\tilde{r}) = \frac{p_i(r) - p_\infty}{p_e - p_\infty} = 1 - \frac{1}{\tilde{r}} \frac{\sinh(\alpha_T \tilde{r})}{\sinh(\alpha_T)} & (1) \\ \tilde{v}_i(\tilde{r}) = \frac{v_i(r) R_T}{\kappa_T (p_e - p_\infty)} = \frac{1}{\tilde{r}^2} \left(\frac{\alpha_T \tilde{r} \cosh(\alpha_T \tilde{r}) - \sinh(\alpha_T \tilde{r})}{\sinh(\alpha_T)} \right) & (2) \end{array} \right.$$

Eq. 12

Avec $\tilde{r} = r/R_T$ et $\alpha_T = R_T \sqrt{((L_p S)_T / \kappa_T)}$.

Dans le cas d'une tumeur entourée de tissu sain, la pression interstitielle définie par $\tilde{p}_i(\tilde{r}) = (p_i(r) - p_e) / (p_\infty - p_e)$ s'écrit :

$$\tilde{p}_i(\tilde{r}) = \left\{ \begin{array}{ll} 1 - \frac{1}{\tilde{r}} \frac{(1 + \alpha_N) \sinh(\alpha_T \tilde{r})}{(1 + \alpha_N) \sinh(\alpha_T) + \hat{K}(\alpha_T \cosh(\alpha_T) - \sinh(\alpha_T))} & \text{pour } \tilde{r} \leq 1 \\ \frac{1}{\tilde{r}} \frac{\hat{K}(\alpha_T \cosh(\alpha_T) - \sinh(\alpha_T)) e^{-(\alpha_N - 1)\tilde{r}}}{[(1 + \alpha_N) \sinh(\alpha_T) + \hat{K}(\alpha_T \cosh(\alpha_T) - \sinh(\alpha_T))]} & \text{pour } \tilde{r} \geq 1 \end{array} \right. \quad \text{avec } \hat{K} = \kappa_T / \kappa_N$$

Eq. 13

La vitesse interstitielle du fluide dans la tumeur, définie par $\tilde{v}_i(\tilde{r} \leq 1) = v_i R_T / (\kappa_T (p_e - p_\infty))$, s'écrit :

$$\tilde{v}_i(\tilde{r} \leq 1) = \frac{1}{\tilde{r}^2} \left(\frac{(1 + \alpha_N) (\alpha_T \tilde{r} \cosh(\alpha_T \tilde{r}) - \sinh(\alpha_T \tilde{r}))}{(1 + \alpha_N) \sinh(\alpha_T) + \hat{K}(\alpha_T \cosh(\alpha_T) - \sinh(\alpha_T))} \right)$$

Eq. 14

Et la vitesse interstitielle dans le tissu sain, définie par $\tilde{v}_i(\tilde{r} \geq 1) = v_i R_T / (\kappa_N (p_e - p_\infty))$, s'écrit :

$$\tilde{v}_i(\tilde{r} \geq 1) = \frac{1}{\tilde{r}^2} \left(\frac{\hat{K}(\alpha_T \cosh(\alpha_T) - \sinh(\alpha_T)) (1 + \alpha_N \tilde{r}) e^{-(\alpha_N - 1)\tilde{r}}}{(1 + \alpha_N) \sinh(\alpha_T) + \hat{K}(\alpha_T \cosh(\alpha_T) - \sinh(\alpha_T))} \right)$$

Eq. 15

¹ $\cosh, \sinh, \coth$ = $1/\tanh$ sont respectivement le cosinus, le sinus et la cotangente hyperbolique.
 $\cosh(x) = (e^x + e^{-x})/2$; $\sinh(x) = (e^x - e^{-x})/2$; $\coth(x) = (e^{2x} + 1)/(e^{2x} - 1)$

Ces solutions satisfont effectivement l'équation en pression (cf. Eq. 10) et ses conditions aux limites dans les deux cas de figure. On notera de plus que, dans le cas de la tumeur entourée de tissu sain, la pression et la vitesse interstitielle à l'interface tumeur – tissu normal valent respectivement :

$$\left\{ \begin{array}{l} p_i(R_T) = p_e + \frac{(p_\infty - p_e)}{1 + \frac{(1 + \alpha_N)}{\bar{K}(\alpha_T \cotanh(\alpha_T) - 1)}} \quad (1) \\ v_i(R_T) = \frac{\kappa_T(p_\infty - p_e) (\alpha_T \cotanh(\alpha_T) - 1)}{R_T \left(1 + \frac{\bar{K}(\alpha_T \cotanh(\alpha_T) - 1)}{(1 + \alpha_N)}\right)} \quad (2) \end{array} \right.$$

Eq. 16

Les distributions radiales de pression et de vitesse interstitielle associées aux équations (Eq. 12, Eq. 13, Eq. 14, Eq. 15) sont représentées sur la Figure 34 ci-dessous.

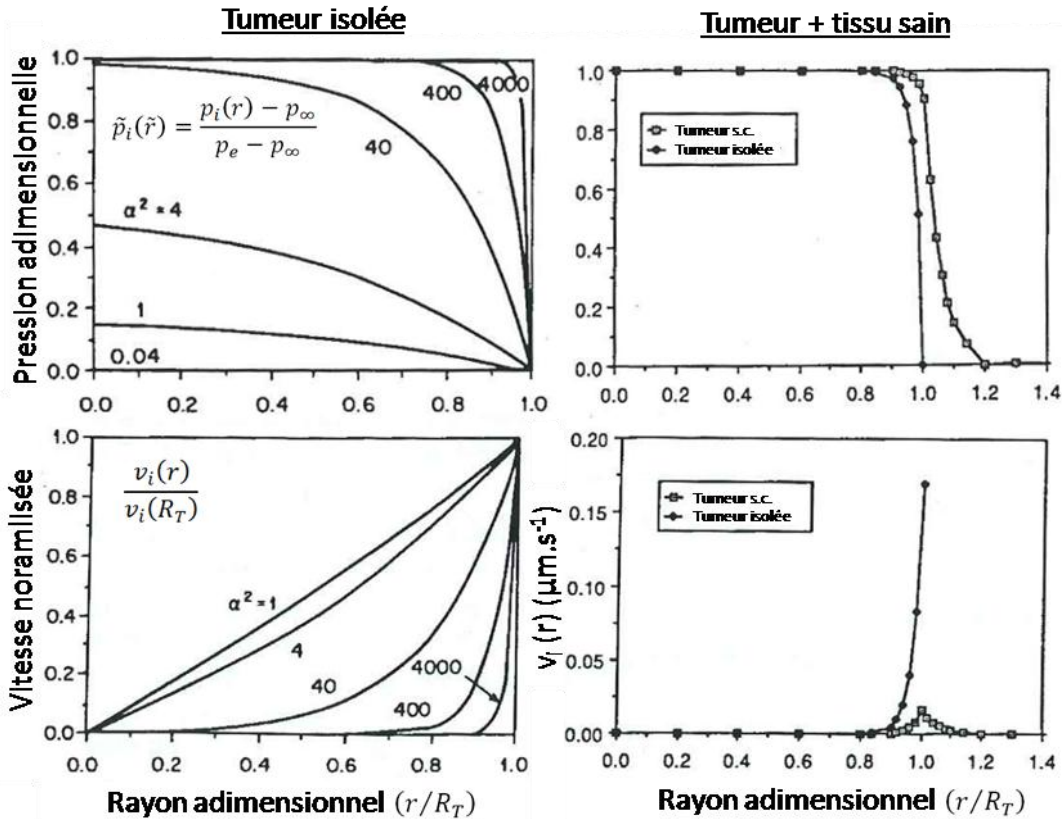


Figure 34 : Profils de pression et de vitesse interstitielle dans le cas d'une tumeur ($R_T = 1 \text{ cm}$) isolée ou entourée de tissu normal (notée également « tumeur s.c. » pour tumeur sous-cutanée). Ces grandeurs sont calculées à différentes valeurs du facteur adimensionnel tumoral α_T (valeur nominale $\alpha_T = 36.8$). Dans le cas de la tumeur entourée de tissu normal, on a $\alpha_N = 17.5$ et $\bar{K} = 4.8$. Les pressions interstitielles varient entre 0 et 11.5 mm Hg. La vitesse interstitielle pour la tumeur isolée atteint $10.2 \mu\text{m} \cdot \text{min}^{-1}$ à la frontière. (adapté de Baxter et Jain, 1989 [2])

Les profils de pression interstitielle ont la même allure dans le cas d'une tumeur isolée que pour une tumeur entourée de tissu normal pour les valeurs nominales de α_T et α_N . La pression est élevée au centre, puis décroît à la périphérie. Elle décroît plus abruptement en périphérie pour la tumeur isolée que pour celle entourée, du fait des conditions aux limites. Plus la pression décroît

abruptement quand $r \rightarrow R_T$, plus la vitesse interstitielle y est élevée. La vitesse interstitielle en $r = R_T$ est de $10.2 \mu m \cdot min^{-1}$ pour la tumeur isolée soit 10.3 fois moins que pour la tumeur entourée de tissu normal (calcul analytique). On relève également pour l'étude de la tumeur isolée que la pression interstitielle est d'autant plus stable au centre et plus abrupte en périphérie que α est grand (par exemple pour des valeurs entre 40 et 4000) ce qui correspond aux fortes valeurs de conductivité hydraulique vasculaire L_{pT} ou de surface d'échanges vasculaires s_T , ou bien à une faible conductivité hydraulique du tissu tumoral κ_T . En termes de vitesse interstitielle, elle est d'autant plus forte à la périphérie tumorale et faible au centre que α est grand également. On note que pour la tumeur entourée de tissu normal, la pression ne décroît pas instantanément vers p_∞ et les auteurs suggèrent une distance typique d'environ $20 \% \times R_T$. Un point important d'après les courbes de pression interstitielle p_i est, qu'au centre de la tumeur, p_i devient proche de la pression effective de Starling p_e (ici $1.5 kPa = 11.5 mm Hg$), notamment lorsque $\alpha \gg 1$, ce qui implique que le taux de filtration vasculaire $\Omega_V(r)$ est très faible dans cette région, tandis qu'il est maximal à la périphérie. Par conséquent, l'extravasation des macromolécules dans l'interstitium est nécessairement hétérogène dans le cas d'un transport transvasculaire essentiellement convectif.

On pourra noter en complément de cette partie hydrodynamique que l'on peut calculer le taux de filtration interstitielle total $TFIT$ ($m^3 \cdot s^{-1}$) dans la tumeur selon (cas sans drainage lymphatique):

$$TFIT = \int_{\frac{4}{3}\pi R_T^3} \Omega_V(r) (\phi_T dV) = \phi_T \int_0^{R_T} 4\pi r^2 \Omega_V(r) dr$$

Eq. 17

Où ϕ_T est la fraction volumique extracellulaire du tissu tumoral. Ce taux de filtration totale représente la variation de volume de fluide interstitiel produit dans toute la tumeur par échange transvasculaire pendant un intervalle de temps donné. Le calcul dans le cas d'une tumeur isolée (a) et pour une tumeur entourée de tissu sain (b) conduit à :

$$TFIT = \phi_T \times 4\pi R_T \times \kappa_T (p_e - p_\infty) f$$

$$\text{avec } f = \begin{cases} \frac{(\alpha_T - 1)\cosh(\alpha_T) + 1}{\sinh(\alpha_T)} & (a) \\ \frac{\alpha_T^2}{3} - \frac{(1 + \alpha_N)((\alpha_T - 1)\cosh(\alpha_T) + 1)}{(1 + \alpha_N)\sinh(\alpha_T) + \hat{K}(\alpha_T \cosh(\alpha_T) - \sinh(\alpha_T))} & (b) \end{cases}$$

Eq. 18

Avec α_T et α_N s'écrivant toujours : $\alpha_T = R_T \sqrt{(L_p s)_T / \kappa_T}$ et $\alpha_N = R_T \sqrt{(L_p s)_N / \kappa_N}$.

Pour les paramètres nominaux de Baxter et Jain ainsi qu'une fraction volumique extracellulaire $\phi_T = 0.21$, on trouve en faisant varier le terme $(L_p s)_T$ que le taux de filtration interstitielle total augmente selon le rayon de la tumeur de façon linéaire (calculs pour $R_T \in [0, 10 mm]$). Il est d'autant plus grand que le rapport α_T est élevé, la différence entre le cas « tumeur isolée » et le cas « tumeur non isolée » provenant de l'écart sur la fonction f . La filtration totale est ainsi effectivement plus élevée pour une plus forte extravasation de fluide vasculaire ainsi que pour une

tumeur de grande taille par rapport à une tumeur de petite taille. Ce résultat apparaît à la fois dans le cas de la tumeur isolée comme pour la tumeur entourée de tissu sain.

- Transport interstitiel transitoire de macromolécules

Leur approche est celle qui sera reprise notamment par Morrison *et al.* 1994 [6] (modèle de transport interstitiel pendant une injection intratumorale convective). Seul le cas de la tumeur entourée de tissu normal est considéré ici. L'équation de transport en milieu poreux s'écrit en coordonnées sphériques selon :

$$\frac{\partial C_i}{\partial t} + \frac{1}{r^2} \frac{\partial}{\partial r} (r^2 r_f v_i C_i) = \frac{1}{r^2} \frac{\partial}{\partial r} \left(r^2 D_{eff} \frac{\partial C_i}{\partial r} \right) + \varphi_S(r) - \varphi_R(r)$$

Eq. 19

Où C_i ($mol.m^{-3}$) est la concentration interstitielle de macromolécules. r_f est un facteur de retardement de la vitesse du soluté par rapport à celle du fluide, pris égal à 1 ici. D_{eff} ($m^2.s^{-1}$) est le coefficient de diffusion effectif des macromolécules pris homogène dans le tissu considéré. φ_S et φ_R ($mol.m^{-3}.s^{-1}$) sont les taux d'apport ou de réaction des macromolécules dans le tissu par unité de temps. Le terme φ_R est pris nul ici. Le terme d'apport vasculaire φ_S , dans un formalisme prenant à nouveau en compte la contribution lymphatique le temps d'une équation, est écrit comme :

$$\varphi_S = \frac{J_S}{V} - \frac{J_L}{V} C_i = \frac{J_V(1-\sigma)}{V} C_p + \frac{PS}{V} (C_p - C_i) \left(\frac{Pe_v}{e^{Pe_v} - 1} \right) - \frac{J_L}{V} C_i$$

Eq. 20

C_p ($mol.m^{-3}$) étant la concentration plasmatique de macromolécules. PS est le produit perméabilité capillaire $\times$ surface. Pe_v est le nombre de Peclet vasculaire (adimensionnel) qui compare le transport convectif au transport diffusif au travers des parois microvasculaires :

$$Pe_v = \frac{J_V(1-\sigma)}{PS}$$

Eq. 21

Il est intéressant de noter que φ_S se simplifie dans les cas de haut ou faible nombre de Peclet vasculaire ainsi qu'en négligeant la contribution lymphatique :

$$\left\{ \begin{array}{l} Pe_v \ll 1 \Rightarrow \varphi_S(r) = \frac{PS}{V} (C_p - C_i) \quad (1) \\ Pe_v \gg 1 \Rightarrow \varphi_S(r) = \frac{J_V(1-\sigma)}{V} C_p \quad (2) \end{array} \right. \quad \text{avec } C_i = C_p e^{-PS/Q}$$

Eq. 22

Où la concentration interstitielle est décrite en fonction de la concentration plasmatique, du produit PS de diffusion moléculaire et du débit Q (Curry *et al.*, 1983). Les auteurs proposent une résolution numérique (éléments finis) basée sur les conditions aux limites suivantes : 1) un flux nul

au centre de la tumeur (symétrie sphérique) ; 2) la continuité de la concentration et du flux à l'interface entre la tumeur et le tissu sain adjacent :

$$\left\{ \begin{array}{l} -D_{eff} \frac{\partial C_i}{\partial r} \Big|_{r=0} + (v_i C_i) \Big|_{r=0} = 0 \quad (1) \\ C_i(R_T^-) = C_i(R_T^+) \quad (2) \\ -D_{eff}^T \frac{\partial C_i}{\partial r} \Big|_{R_T^-} + (v_i C_i) \Big|_{R_T^-} = -D_{eff}^N \frac{\partial C_i}{\partial r} \Big|_{R_T^+} + (v_i C_i) \Big|_{R_T^+} \quad (3) \end{array} \right.$$

Eq. 23

Le transport est résolu pour trois macromolécules (IgG, F(ab')₂ et Fab') de poids moléculaires respectifs 50 000, 100 000 et 150 000 Da. Les auteurs considèrent deux fonctions d'entrées vasculaires : une concentration plasmatique constante C_p^0 et une concentration transitoire (plus réaliste donc) décroissant exponentiellement avec un temps caractéristique τ_p selon $C_p(t) = C_p^0 e^{-t/\tau_p}$. La Figure 35 ci-dessous illustre l'allure des profils de concentration de macromolécules (50 000 Da) dans la tumeur ainsi que la cinétique de transport en son centre.

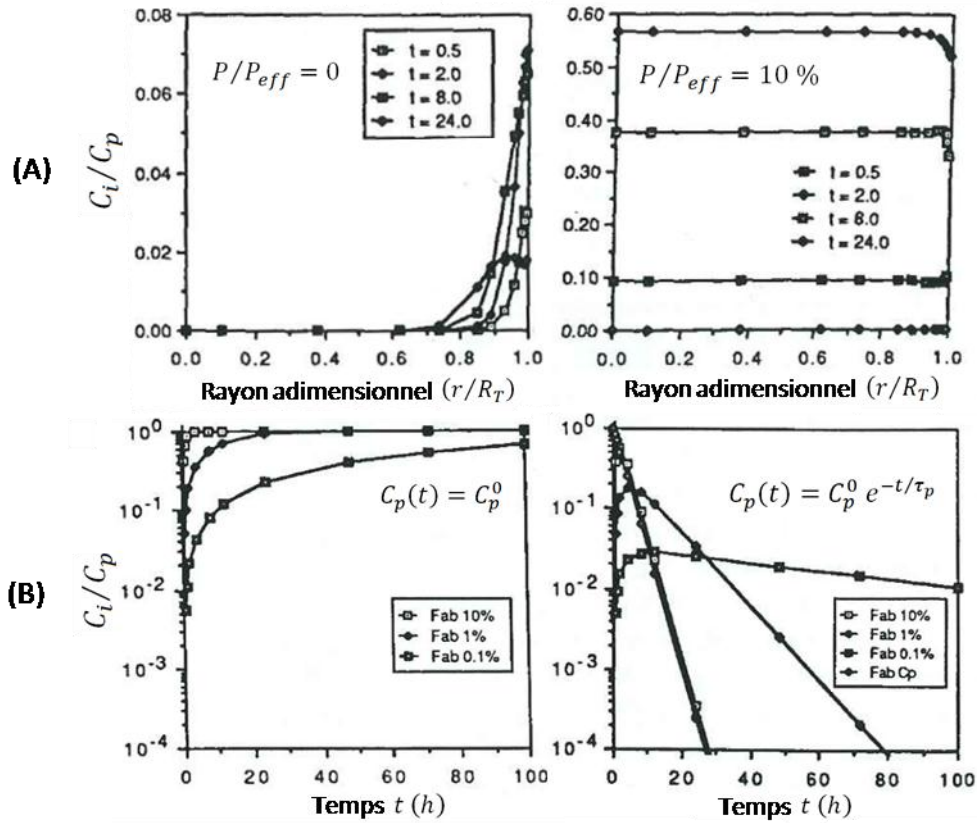


Figure 35 : (A) Profils transitoires de concentration interstitielle de Fab' (poids moléculaire 50 000 Da) entre 0 et 24 h, pour une fonction d'entrée vasculaire de type $C_p = C_p^0 e^{-t/\tau_p}$ avec $\tau_p = 2h$, pour des échanges vasculaires diffusifs P/P_{eff} valant 0 ou 10 %. Le calcul est fait pour une tumeur sphérique de rayon $R_T = 1 \text{ cm}$. (B) Evolution de la concentration interstitielle de Fab' au centre de la tumeur en fonction du temps d'injection systémique pour un ratio P/P_{eff} valant respectivement 0.1, 1 et 10 %.

Les profils (Figure 35, (A)) indiquent une allure assez abrupte en périphérie tumorale en raison du nombre de Peclet vasculaire élevé (transport convectif au moins à 90 %) favorisant les échanges entre concentration plasmatique et concentration interstitielle en raison du fort différentiel de

pression ($p_e - p_i$) local. *A contrario*, la concentration interstitielle au centre de la tumeur est nettement plus faible, et la cinétique d'extravasation des macromolécules est liée au terme de diffusion PS , comme l'indique les deux figures pour $P/P_{eff} = 0$ ou 10 %. D'après les courbes cinétiques d'arrivée des macromolécules au centre de la tumeur (Figure 35 (B)), on retrouve effectivement le fait que les macromolécules Fab' avec un ratio $P/P_{eff} = 10$ % arrivent plus rapidement à la concentration proche de C_p^0 que celles avec $P/P_{eff} = 0$. Cela dit, on observe pour la fonction d'entrée vasculaire transitoire que ces molécules se rapprochant plus vite de C_p^0 à ce 10 % de taux de perméabilité capillaire décroissent plus rapidement par la suite. Dans le cas de la fonction d'entrée sous forme d'exponentielle décroissante, les auteurs estiment dans la période initiale de transport la concentration centrale en fonction du temps ainsi que le temps de post-injection vasculaire nécessaire pour que cette concentration atteigne sa valeur maximale selon :

$$\frac{C_{centre}}{C_p^0} = \frac{e^{-t/\tau_p} - e^{-tPs}}{1 - 1/(\tau_p Ps)} \quad et \quad \tau_{max} = -\tau_p \frac{\ln(\tau_p Ps)}{1 - 1/(\tau_p Ps)}$$

Eq. 24

Sur la base d'un produit Ps qui décroît pour un composé de fort poids moléculaire, cette formulation implique que τ_{max} décroît quand le poids moléculaire diminue. De plus, une réduction de la perméabilité diffusive conduit à des valeurs plus faibles de C_{centre} et un plus grand temps τ_{max} . En conclusion de ce modèle de physiologie tumorale, une tumeur décrite par une géométrie sphérique de tissu homogène (κ) présentant des propriétés vasculaires homogènes ($L_p, S, p_v, \pi_v, \pi_i$ et σ) : 1) possède un taux de filtration vasculaire hétérogène (minimal au centre et maximal à la périphérie) qui affecte la cinétique d'extravasation en particulier pour un nombre de Peclet vasculaire élevé. 2) L'hétérogénéité de la distribution de macromolécules est due à la faible pression interstitielle périphérique qui favorise l'extravasation dans cette région ; cela couplée au flux convectif de fluide du centre vers la périphérie (régi par le ratio α) ainsi qu'au faible coefficient de diffusion des grandes molécules. Il en résulte une accumulation périphérique aux faibles temps de post-injection vasculaire suivi plus tard d'une accumulation au centre. Encore plus tard (suffisamment après la fin du bolus plasmatique), la concentration périphérique est résorbée et reste essentiellement la concentration centrale qui fait effet de réservoir pour une certaine durée.

Ces auteurs ont également abordé dans Baxter *et al.* 1990 [80] la question de l'influence d'une vascularisation hétérogène associé éventuellement à la présence d'un système lymphatique effectif dans la tumeur et dans le tissu sain adjacent. Ces calculs étaient également menés par une résolution analytique quasi-stationnaire de l'écoulement puis numérique transitoire de la concentration de macromolécules (IgG et Fab) non liantes et sans métabolisme. La vascularisation hétérogène est décrite par la présence d'un cœur nécrotique centré dans la tumeur, les échanges transvasculaires et lymphatiques n'étant pas possibles à l'intérieur de ce dernier ($L_p S/V = 0$ dans les deux cas). Ils trouvent que la pression interstitielle centrale n'est pas réduite par la présence de la nécrose, à moins que cette dernière ait un rayon supérieur à 90 % du rayon tumoral. L'effet du système lymphatique sur l'allure des profils de pression interstitielle est également mineur. Cela dit, différentes valeurs de $L_{pL} S_L/V$ affecte la pression quasi-stationnaire p_{ss} ($L_{pL} S_L/V \nearrow \Rightarrow p_{ss} \searrow$). Un

plus net effet est observé quant à l'impact sur le transport des macromolécules. L'absence de capillaires sanguins (et accessoirement de système lymphatique) dans la nécrose n'autorise pas l'extravasation de fluide et des macromolécules dans cette région. Cela implique que la seule source d'espèces dans le cœur nécrotique provient de la concentration de macromolécules située à l'interface nécrose – tumeur viable, cette dernière ne pouvant se transporter dans la nécrose que par diffusion moléculaire (plus restreinte donc pour de grosses molécules que pour de petites). Et la concentration de macromolécules dans la tumeur viable dépend ici également de la nature des échanges transvasculaires dans ce domaine, la contribution par perméabilité diffusive y étant favorable pour l'extravasation. Les auteurs simulent ainsi l'influence de la taille de la nécrose sur ce transport transitoire. Ils discutent également l'effet de réservoir nécrotique : bien qu'aux faibles temps les macromolécules sont quasiment absentes dans le cœur nécrotique, elles s'accumulent par diffusion moléculaire plus tard (plus d'une semaine pour la Fab et des mois pour l'IgG pour une tumeur de 1 cm), puis la concentration dans la partie viable décroît en raison de la clairance capillaire et du drainage convectif vers le tissu sain adjacent. Les auteurs notent toutefois dans le cas des macromolécules que la formation d'un tel réservoir dans la nécrose ne peut se produire que si la diffusion moléculaire est suffisante pour qu'il y ait accumulation, et en l'occurrence il est peu probable que cela se produise pour des macromolécules diffusant au sein d'une tumeur de rayon 1 cm. Quant à l'influence sur le transport d'un possible système lymphatique, les auteurs proposent les deux effets suivants : 1) la présence de canaux lymphatiques fonctionnels feraient décroître la pression interstitielle centrale, réduisant le drainage convectif périphérique ; et 2) ils pourraient réduire significativement la concentration de soluté dans l'interstitium par réabsorption lymphatique. Cela réduirait également la concentration de macromolécules disponibles pour diffuser dans le cœur nécrotique, diminuant ainsi l'effet de réservoir central. Enfin, essayer de profiter du réservoir nécrotique serait limité par la réabsorption capillaire dans la tumeur viable, plus rapide que la diffusion moléculaire, excepté pour une tumeur présentant une petite région périphérique vascularisée.

Les mêmes auteurs ont finalement questionné la question de l'influence de la fixation interstitielle des macromolécules ainsi que leur métabolisme une fois liées, tout en prenant en compte des échanges transvasculaires comme précédemment, avec un modèle macro- et microscopique (Baxter *et al.* 1991a [81], Baxter *et al.* 1991b [82]). Ils trouvent notamment que le transport des macromolécules dépend de l'affinité de fixation (k_{assoc}/k_{dissoc}), de la densité d'antigènes, de la perméabilité vasculaire et de la présence d'un cœur nécrotique. L'influence de ces paramètres n'est pas explicitée ici car cela demanderait davantage de développements. Cela dit le lecteur est invité à consulter les deux références associées au besoin. Cela dit, une approche prédictive du transport interstitiel de molécules étant soumises *in vivo* à ce type de mécanismes (fixation, métabolisme) devrait être pris en compte.

Nous présentons maintenant un court résumé de la contribution de Zhao *et al.* de 2007 [84]. Celle-ci porte sur une adaptation du formalisme mathématique de Baxter et Jain 1989 à un cas de géométrie tumorale réaliste issue de l'imagerie IRM, avec une estimation par imagerie DCE-MRI des paramètres vasculaires J_V/V et PS/V (fit par un modèle à deux compartiments). Ces cartes sont

normalisées par leur valeur moyenne respective puis mises à l'échelle de données de la littérature, en particulier celles de Baxter *et al.* 1989 [2]. Ces coefficients sont mis en entrée des équations d'hydrodynamique et de transport en milieu poreux rigide continu tel que présenté par ces derniers et leur permet d'évaluer l'influence de l'hétérogénéité du taux de filtration et de la perméabilité transvasculaire. Les cartes de pression et de vitesse interstitielle prédites, avec le transport d'albumine 60 kDa (ou de Gd-DTPA, 0.57 kDa), sont présentées à la Figure 36 ci-dessous.

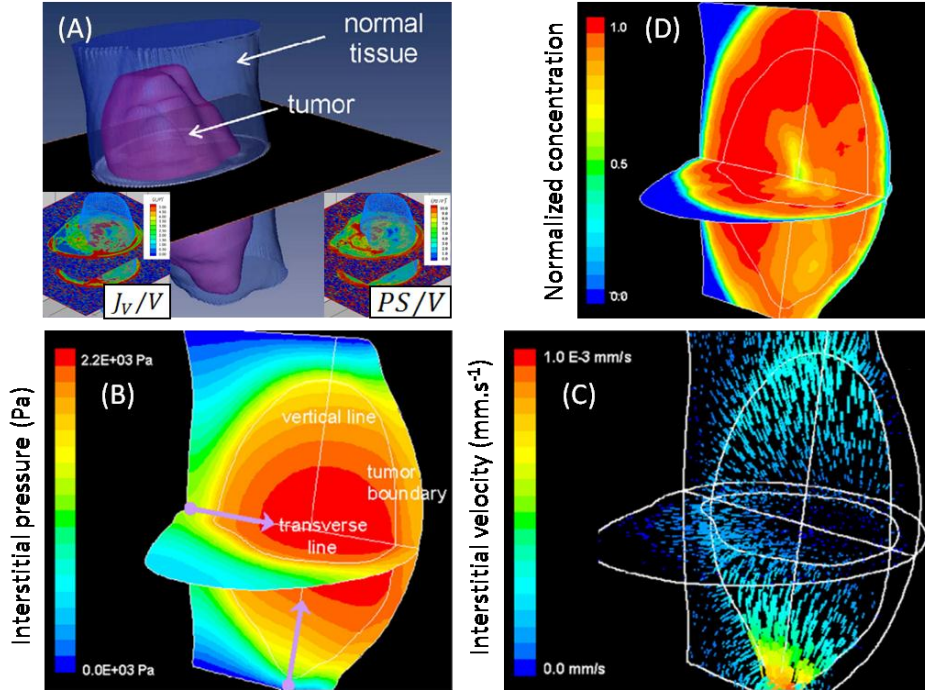


Figure 36 : (A) Géométrie issue de l'imagerie IRM (tissu sain et tumoral) ainsi que les cartes fittedes des paramètres vasculaires J_v/V et PS/V . (B et C) Pression et vitesse interstitielle calculées à partir des cartes J_v/V et PS/V précédentes, normalisées puis mises à l'échelle des valeurs nominales de Baxter et Jain [2]. (D) Cartes de concentration d'albumine au temps $t = 30\text{min}$ simulées à partir de (C). La concentration est normalisée selon $C/(1 - \sigma_T)C_p^0$, avec $C_p(t) = C_p^0 \exp(-t/(\tau_{1/2} \ln 2))$ la concentration plasmatique en entrée vasculaire et $\tau_{1/2} = 3h$ pour l'albumine. (d'après Zhao *et al.* [84])

Ils retrouvent des pressions interstitielles élevées dans la tumeur, ainsi que des vitesses interstitielles dirigées vers la périphérie tumorale, avec une intensité sensible aux conditions aux limites étant donné les dimensions relatives de la géométrie (sain + tumeur). Le transport transitoire intratumoral prédit pour le traceur Gd-DTPA est moins hétérogène que pour l'albumine. Dans les deux cas, le nombre de Peclet (transport convectif / transport diffusif) dans l'interstitium est supérieur à un, et très largement dans le cas de l'albumine qui diffuse peu, impliquant un transport interstitiel essentiellement convectif après extravasation. En complément du travail de [2], les auteurs discutent la sensibilité de ces résultats au terme de filtration $L_p S/V$ et au rapport des conductivités hydrauliques du tissu tumoral par rapport au tissu sain κ_T/κ_N . Pour leur plage de paramètres des tissus, une augmentation de $L_p S/V$ jusqu'à 15 fois implique de plus fortes pressions interstitielles, ainsi que des vitesses interstitielles périphériques plus élevées, avec une augmentation uniforme de la concentration intratumorale de Gd-DTPA et d'albumine de 20 et 45 % respectivement, avec conservation de l'hétérogénéité des profils. Pour de plus grandes valeurs de κ_T/κ_N (jusqu'à 100 fois plus), ils rapportent une augmentation significative de la pression interstitielle, associée à une diminution de vitesse interstitielle (surtout en périphérie). L'explication

correspondante est que plus la conductivité hydraulique du tissu tumoral est grande devant la conductivité hydraulique du tissu adjacent, plus un fort gradient de pression interstitiel est nécessaire pour assurer le transfert du fluide tumoral dans le tissu normal périphérique. Du fait de la diminution de la vitesse interstitielle avec l'augmentation du ratio κ_T/κ_N , le transport d'espèces intratumoral se trouve également réduit (-23 % et -53 % pour le Gd-DTPA et l'albumine). L'approche et l'implémentation de cette étude est particulièrement intéressante et illustre bien les travaux de Baxter et Jain [2] à un niveau réaliste de géométrie où la tumeur est décrite par un volume fixé défini par une forme non sphérique avec des paramètres vasculaires ($L_p S/V$ et PS/V) hétérogènes qui sont estimés à partir de données d'imagerie IRM de perfusion, puis par des conditions aux limites qui affectent les calculs comme cela est souvent le cas du point de vue anatomique et physiologique. Pour l'influence du terme $L_p S/V$ sur le transport interstitiel couplé aux échanges transvasculaires, El-Kareh *et al.* 1995 [85] trouvent que l'effet d'augmentation de l'extravasation du fluide ($L_p S/V \nearrow$) sur la filtration transvasculaire dépend de la taille de la tumeur (R_T) et éventuellement, dans de moindres proportions, de sa forme (considérations pour des ellipsoïdes).

Finalement, d'autres modèles théoriques décrivent en plus de la géométrie vasculaire et de l'écoulement vasculaire associé, contrairement à Baxter *et Jain* qui modélisent l'espace vasculaire comme une distribution continue de points sources (pression vasculaire homogène sur la tumeur, sauf pour la prise en compte de la nécrose où il y a deux cas). La vascularisation est considérée alors soit sous forme d'un seul vaisseau ou bien un réseau de capillaires. On notera l'étude de Pozrikidis *et al.* 2003 [86] qui développent un modèle théorique sous forme intégrale permettant de calculer l'écoulement dans une tumeur solide. Leur géométrie est constituée d'un réseau de tubes quasi-cylindriques, leur modèle étant ensuite appliquée au cas d'un seul capillaire. L'écoulement dans ce domaine fluide est décrit par une loi de Poiseuille avec des conditions aux limites de pression adéquates dans l'artère et la veine du réseau. L'extravasation du fluide vasculaire depuis les capillaires dans l'interstitium est décrite par la loi de Starling, avec des conditions de continuité supplémentaires sur la surface d'échanges. Puis l'écoulement dans l'interstitium suit la loi de Darcy. Celui de Baish *et al.* 1997 [87], basé sur les trois mêmes lois d'écoulement, étudie également le couplage entre écoulement vasculaire, transvasculaire et interstitiel, la vascularisation étant décrite par un réseau de vaisseaux perméables et compliants (capable de se déformer sous la pression). Ils trouvent que la microcirculation pourrait être fortement affectée par la compliance vasculaire et la plus grande perméabilité des vaisseaux sanguins tumoraux. En plus de prédire une forte pression interstitielle centrale, cette dernière affecterait la distribution vasculaire de pression, modifiant l'écoulement vasculaire lui-même. Ils suggèrent que l'augmentation de la compliance et de la perméabilité vasculaire amène à une redistribution de l'écoulement vasculaire du centre vers la périphérie tumorale. Mollica *et al.* 2003 [88], généralisant le modèle de Netti *et al.* 1996 [89], trouvent un débit vasculaire oscillant en étudiant un seul capillaire perméable et déformable en raison du flambage (collapse) du vaisseau donnant une explication partielle aux hétérogénéités temporelles des écoulements dans les tumeurs. Le modèle de McDougall *et al.* 2002 [90] décrit quant à lui un réseau de capillaires de structure et de morphologie réalistes, basé sur un modèle

mathématique discret. Il permet de simuler l'angiogenèse et l'écoulement vasculaire puis de discuter des mécanismes associés aux thérapies anti-angiogéniques.

1.4.3 Résumé des propriétés des tissus cérébraux

Les propriétés usuelles des tissus cérébraux dans le contexte proche ou directement lié à la CED sont référencées dans plusieurs travaux de la littérature (Baxter *et al.* 1989 [2], Morrison *et al.* 1994 [6], Swartz *et al.* 2007 [91], Smith *et al.* 2007 [92]). On peut par exemple se rapporter à l'étude de modélisation de Smith *et al.* 2007 qui synthétise les valeurs de plusieurs de ces paramètres pour le tissu cérébral sain (sans hétérogénéités) ou tumoral, cf. Tableau 2 ci-dessous.

Propriétés des tissus	Notation	Valeur	
		Unité SI	Unité Courante
Conductivité hydraulique (SI : $m^3.s.kg^{-1}$ – UC : $cm^4.dyn^{-1}.s^{-1}$)	κ	B : 2×10^{-12} T : 10^{-13}	B : 2×10^{-9} T : 10^{-10}
Conductivité hydraulique capillaire (SI : $m^2.s.kg^{-1}$ – UC : $cm^3.dyn^{-1}.s^{-1}$)	L_p	B : 10^{-13} T : 10^{-10}	B : 10^{-12} T : 10^{-9}
Surface capillaire / volume tissu (SI : m^{-1} – UC : cm^{-1})	$s = S/V$	B : 10^4 T : 2×10^4	B : 10^2 T : 2×10^2
Pression effective de Starling (SI : $kg.m^{-1}.s^{-2}$ – UC : $dyn.cm^{-2}$)	p_e	B : 4×10^2 T : 1.5×10^3	B : 4×10^3 T : 1.5×10^4
Module d'Young (SI : $kg.m^{-1}.s^{-2}$ – UC : $dyn.cm^{-2}$)	E	B : 5×10^3 T : 5×10^3	B : 5×10^4 T : 5×10^4
Module d'élasticité isostatique (SI : $kg.m^{-1}.s^{-2}$ – UC : $dyn.cm^{-2}$)	K	B : 4×10^4 T : 10^5	B : 4×10^5 T : 10^5
Module de cisaillement (SI : $kg.m^{-1}.s^{-2}$ – UC : $dyn.cm^{-2}$)	G	B : 1.69×10^3 T : 1.76×10^3	B : 1.69×10^4 T : 1.76×10^4
Coefficient de Poisson	ν	B : 0.479 T : 0.417	
Coefficient de Biot-Willis	α	B : 1 T : 1	
Module de Biot (SI : $kg.m^{-1}.s^{-2}$ – UC : $dyn.cm^{-2}$)	M	B : ∞ T : ∞	B : ∞ T : ∞
Constante de Lamé (SI : $kg.m^{-1}.s^{-2}$ – UC : $dyn.cm^{-2}$)	$\lambda = \frac{\nu E}{(1-\nu)(1-2\nu)}$	B : 1.09×10^5 T : 2.15×10^4	B : 1.09×10^6 T : 2.15×10^5

B : "Brain" ; T : "Tumor"

Tableau 2 : Propriétés des tissus cérébraux estimées dans l'étude de Smith *et al.* 2007 [92].

D'autres propriétés des tissus sont également à prendre en compte, notamment la fraction volumique extracellulaire ϕ , ou porosité, décrivant le volume de fluide accessible à l'écoulement pendant une infusion CED. La tortuosité du tissu τ , le coefficient de diffusion effectif D_{eff} d'une substance dans un tissu donné sont également des paramètres courants (cf. Nicholson 2001 [49]). On notera que ces paramètres sont *in situ* hétérogènes et anisotropes (Lehmenkuhler *et al.* 1993 [93], Virosek *et al.* 1997 [94], Sarntinoranont *et al.* 2006 [95], Linninger *et al.* 2008 [11], Vargova *et al.* 2003 [96]) dans le cas du tissu sain, et qui peuvent également varier dans le temps dans

certaines cas. Les valeurs de la littérature constituent une base à laquelle peut se joindre des méthodes d'estimation de paramètres fondées sur des modèles empiriques (*e.g.* Swartz *et al.* 2007 [91], Kapellos *et al.* 2010 [97]). Les travaux du groupe de Raghavan et collaborateurs s'intéressent également à une méthodologie d'estimation de paramètres de type patient – spécifique à partir de données d'imagerie médicale (Raghavan *et al.* 2006 [32]).

1.5 Modèles prédictifs d'injection CED

1.5.1 Modèles analytiques en géométrie sphérique

Les premiers travaux substantiels théoriques sur les micro-infusions dans le cerveau ont été réalisés par Morrison *et al.*, en 1986 et 1994 [7, 98] ainsi que par Basser en 1992 [99]. Ces modèles sont traités en géométrie sphérique en 1D (dépendance radiale uniquement) et sont abordés de façon analytique avec des résolutions parfois numériques. Nous résumerons plus loin des travaux de modélisation plus récents portant sur des méthodes numériques de type « éléments finis » ou « volumes finis ». Nous allons détailler ici en première investigation le modèle de Basser avec les équations d'écoulement et de déformation, ainsi que l'équation de transport puis leurs solutions explicites en régime quasi-permanent. Malgré la complexité de la prise en compte de la déformabilité du milieu poreux, son modèle reste simple dans la mesure où les équations d'écoulement ne tiennent pas compte du réseau vasculaire. L'accent est mis sur l'hydrodynamique et le couplage avec les déformations mécaniques du milieu. Une équation de transport en milieu poreux déformable est finalement proposée, tenant compte de termes convectif, diffusif ainsi que de termes « puit » et « source ». Nous expliquerons dans une deuxième partie de cette section le travail de Morrison *et al.* 1994 [6], très souvent cité dans la littérature de la CED. Ce modèle, contrairement à celui de Basser, est basé sur un milieu poreux rigide. La réabsorption du liquide injecté ainsi que de son soluté dans la microvascularisation est prise en compte dans l'équation de continuité et dans l'équation de transport. Le modèle tient également compte de la pharmacocinétique de l'agent injecté ainsi que de la fixation / dissociation des molécules sur les surfaces de l'espace extracellulaire et finalement des échanges intra et extracellulaires.

1.5.1.1 Cas d'un milieu poreux homogène isotrope déformable : hydromécanique et transport

Les équations reprises et adaptées par Basser 1992 [99] s'appuient directement sur le modèle de consolidation² de Biot (1941-1955) [100-103]. Le modèle décrit le cerveau comme un milieu poreux homogène et déformable, saturé en liquide interstitiel. Il est constitué d'un réseau de fibres élastiques et de cellules au travers desquelles circule le liquide interstitiel. Le tissu défini de la sorte est considéré comme un milieu isotrope et compressible, le liquide interstitiel et le réseau étant individuellement considérés comme incompressibles. La vascularisation, qui est une troisième

² Le phénomène de consolidation est décrit comme la variation du volume d'un milieu poreux déformable sous l'application d'une contrainte mécanique externe.

phase du domaine *in vivo*, n'est pas prise en compte dans le modèle. L'hydromécanique du tissu est décrite par le système d'équations suivant :

$$\left\{ \begin{array}{l} \underline{\underline{\tau}} = 2 G \underline{\underline{\varepsilon}} + \lambda e \underline{\underline{I}} - p_i \underline{\underline{I}} \quad (1) \\ \text{div}(\underline{\underline{\tau}}) = 0 \quad (2) \\ \text{div}\left((1 - \phi) \frac{\partial \vec{u}}{\partial t} + \phi \vec{v}_i\right) = 0 \quad (3) \\ \phi \left(\vec{v}_i - \frac{\partial \vec{u}}{\partial t}\right) = -\kappa \overrightarrow{\text{grad}} p_i \quad (4) \end{array} \right.$$

Eq. 25

Où τ est le tenseur de contrainte effectif, ε le tenseur des déformations, I est le tenseur identité, λ la première constante de Lamé, G le module de cisaillement du tissu (ou seconde constante de Lamé), e la dilatation du réseau de fibres et p_i la pression interstitielle du fluide. ϕ est la fraction volumique extracellulaire, κ est la conductivité hydraulique du tissu pour un fluide donné, $\vec{v}_i$ est la vitesse interstitielle du fluide et $\vec{u}$ est le vecteur déplacement du réseau. La dilatation e et le tenseur de déformation ε du réseau sont définis à partir du vecteur déplacement selon :

$$\left\{ \begin{array}{l} \underline{\underline{\varepsilon}} = (\overrightarrow{\text{grad}} \vec{u} + (\overrightarrow{\text{grad}} \vec{u})^T)/2 \\ e = \text{Tr}(\underline{\underline{\varepsilon}}) = \text{div} \vec{u} \end{array} \right.$$

Eq. 26

Le tissu est décrit mécaniquement par une loi constitutive linéaire, cf. équation Eq. 25 (1). L'équation Eq. 25 (2) traduit l'équilibre mécanique du système. L'écoulement du fluide dans l'espace poreux est décrit simultanément par l'équation de conservation de la masse (Eq. 25 (3)) et l'équation de Darcy (Eq. 25 (4)). L'équation de Darcy relie notamment la vitesse interstitielle du fluide relative à la vitesse de déplacement du réseau de fibres en fonction du gradient de pression interstitielle. On note également que la pression interstitielle liée à l'écoulement apparaît dans la formulation Eq. 25 (1) et définit le couplage hydromécanique de l'ensemble du tissu. Le terme nul du membre droit de l'équation Eq. 25 (3) indique que le modèle ne prend pas en compte la filtration capillaire ni la récupération par les vaisseaux lymphatiques selon l'hypothèse que 1) la perméabilité de la paroi microvasculaire est négligeable devant le débit d'injection et 2) le fait que le cerveau ne possède pas de système lymphatique. Basser arrive finalement à une équation de consolidation de Biot selon :

$$\frac{\partial e}{\partial t} = c \Delta e \quad \text{avec } c = \kappa (2G + \lambda)$$

Eq. 27

Qui apparaît comme une équation de diffusion de la dilatation, représentée par le coefficient de consolidation c homogène à un coefficient de diffusion moléculaire ($m^2.s^{-1}$). L'auteur précise également que le modèle suppose que le soluté a la même osmolarité et composition ionique que le liquide céphalo-rachidien (décrit comme le liquide saturant l'espace interstitiel) et qu'un

terme supplémentaire dans l'équation Eq. 25 (1) suffirait à décrire la pression osmotique correspondante.

Les solutions associées à ces équations d'hydromécanique (déplacement du tissu, pression et vitesse interstitielles du fluide) sont déterminées à partir des conditions initiales et des conditions aux limites définissant le problème. L'auteur considère ici une géométrie sphérique pour laquelle l'extrémité de l'aiguille est entourée d'une cavité sphérique d'infusion de rayon a . Le débit ou la pression dans la cavité est considérée comme identique à celle délivrée à la sortie de l'aiguille. Deux modes d'injections sont étudiés : débit ou pression imposée. La résolution des équations est menée soit en régime quasi-stationnaire, soit avec une fonction d'entrée de type Heaviside. Ici, nous ne rapportons que les solutions développées en mode d'injection « débit constant » pour le régime quasi-stationnaire (le cas du régime transitoire fait par ailleurs appel à une formulation plus élaborée nécessitant une résolution numérique). Les solutions sont décrites en coordonnées sphériques et dépendent seulement du rayon r étant donné la symétrie de la géométrie. Les conditions aux limites sont définies de la façon suivante, cf. Eq. 28 : la dilatation du réseau à l'instant $t = 0$ est nulle ; la pression loin de la cavité (l'infini) égale la pression du liquide céphalo-rachidien qui est arbitrairement choisie comme nulle ; la continuité du débit est assurée à l'interface fluide / poreux de la cavité sphérique.

$$\begin{cases} e(r, t = 0^+) = 0 \\ p_i(r \rightarrow \infty) = p_{LCR} = 0 \text{ Pa} \\ Q(r = a, t) = Q_0 = 4\pi a^2 \phi v_i(a) \end{cases}$$

Eq. 28

En régime quasi-statique, la pression et la vitesse interstitielles du fluide sont indépendants du temps et l'équation de conservation de la masse se réécrit :

$$\frac{1}{r^2} \frac{\partial}{\partial r} (r^2 v_i(r)) = 0 \quad \text{soit} \quad v_i(r) = \frac{A}{r^2}$$

Eq. 29

Et d'après l'équation de Darcy (cf. Eq. 25 (4)) :

$$\phi v_i(r) = -\kappa \frac{dp_i}{dr}(r) \quad \text{soit} \quad p_i(r) = \frac{\phi A}{\kappa r} + B$$

Eq. 30

Avec A et B des constantes déterminées par les conditions aux limites, équation Eq. 28 : $A = Q_0/4\pi\phi$ et $B = 0$. Ces constantes seraient différentes dans le cas d'une injection à pression imposée.

Il en résulte les solutions de pression et vitesse interstitielles en fonction de r :

$$p_i(r) = \frac{Q_0}{4\pi \kappa r} \quad \text{et} \quad v_i(r) = \frac{Q_0}{4\pi \phi r^2}$$

Eq. 31

Qui peuvent être adimensionnalisées sous la forme :

$$\left\{ \begin{array}{l} \tilde{p}_i(\tilde{r}) = \frac{p_i(r)}{p_i(a)} = \frac{1}{\tilde{r}} \quad \text{avec } p_i(a) = \frac{Q_0}{4\pi \kappa a} \\ \tilde{v}_i(\tilde{r}) = \frac{v_i(r)}{v_i(a)} = \frac{1}{\tilde{r}^2} \quad \text{avec } v_i(a) = \frac{Q_0}{4\pi \phi a^2} \end{array} \right. \quad \text{et } \tilde{r} = r/a$$

Eq. 32

La pression interstitielle du fluide autour de la cavité décroît ainsi en $1/r$ tandis que sa vitesse interstitielle décroît en $1/r^2$. Tous deux varient proportionnellement au débit d'injection et sont inversement proportionnels au rayon de la cavité. Pour une aiguille de dimension donnée, une petite cavité induira une forte pression et vitesse sur sa surface et inversement pour une grande cavité. On constate également que la vitesse interstitielle, qui par ailleurs est responsable du transport convectif d'espèce dans une équation de transport, dépend de la fraction volumique extracellulaire ϕ et est indépendante de la conductivité hydraulique κ . En particulier, un tissu présentant une faible porosité, par exemple dans le cas d'un œdème cytotoxique, induira de fortes vitesses dans l'espace poreux du fait de la conservation du débit. Inversement, un tissu de forte porosité, par exemple dans le cas d'un œdème vasogénique, impliquera des plus faibles vitesses dans le domaine poreux. Si la vitesse, selon cette analyse, ne dépend pas de la conductivité hydraulique κ , c'est la pression interstitielle qui varie de façon inversement proportionnelle à cette dernière. Un tissu présentant une faible conductivité hydraulique nécessitera une pression élevée sur la surface de la cavité pour imposer le débit Q_0 . Cela peut également se représenter en termes de résistance hydraulique du tissu $R_h (kg \cdot m^{-2} \cdot s^{-1})$ tel que l'a défini Bassar :

$$R_h = \frac{p_i(a)}{Q_0} = \frac{1}{4\pi \kappa a}$$

Eq. 33

Nous représentons sur la Figure 37 ci-dessous l'allure des profils de pression et de vitesse interstitielle adimensionnels en fonction du rayon r selon les formulations trouvées à l'équation Eq. 32.

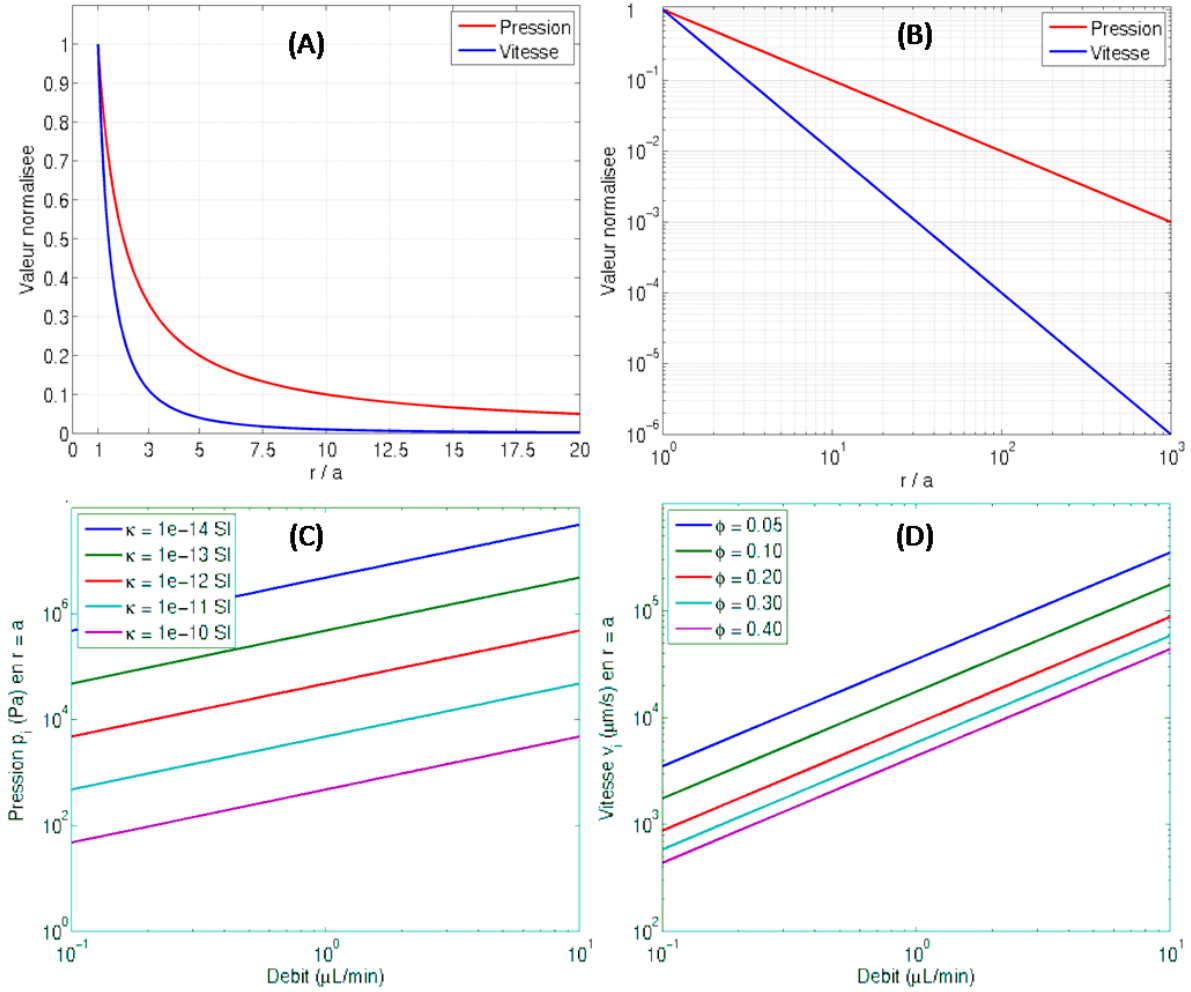


Figure 37 : (A) et (B) Profils radiaux de pression et vitesse interstitielle normalisée à leur valeur maximale $p_i(a)$ et $v_i(a)$ respectivement. a représente le rayon de la cavité d'infusion. (A) est représentation normale jusqu'à $r/a = 20$ et (B) en représentation log-log jusqu'à $r/a = 1000$. (C) représente la pression interstitielle en $r = a$ en fonction du débit d'injection et pour différentes valeurs de conductivité hydraulique κ ($m^3 \cdot s \cdot kg^{-1}$). (D) représente la vitesse interstitielle en $r = a$ en fonction du débit d'injection et pour différentes valeurs de fraction volumique extracellulaire ϕ . La vitesse interstitielle est directement impliquée dans le transport convectif de l'agent modélisé. Pour (C) et (D), on a considéré une cavité de rayon 0.028 mm, équivalent à une aiguille 32 G. Les courbes (B,C,D) sont représentées en échelle log-log.

Basser explicite également la solution quasi-stationnaire du déplacement radial du réseau dans le cas de non contrainte de surface aux frontières, selon :

$$u_r(r) = \frac{Q_0}{8\pi c} \left(1 + \frac{\lambda}{2G} \left(\frac{a}{r} \right)^2 \right)$$

Eq. 34

Où $c = \kappa(2G + \lambda)$ est le coefficient de consolidation de Biot. Cette formulation indique une décroissance en $1/r^2$ également. Il est intéressant de noter que le tenseur des déformations ε est restreint à ses valeurs diagonales en raison de la symétrie radiale et vaut $\varepsilon_{rr} = \partial u_r / \partial r$ et $\varepsilon_{\phi\phi} = \varepsilon_{\theta\theta} = u_r / r$. D'après l'équation Eq. 34, $\partial u_r / \partial r < 0$ ce qui indique une compression radiale du tissu. Les composantes de longitude et de latitude sont par ailleurs positives, indiquant une tension dans ces deux directions.

Si l'on se base sur les valeurs des constantes de Lamé et de conductivités rapportées par l'auteur, on peut faire l'approximation $\lambda \gg G$ ce qui conduit à $u_r(a) = Q_0 / (16 \pi G \kappa)$. D'après ces valeurs,

le produit ($G \kappa$) vaut 10^{-8} pour la substance grise et 6.75×10^{-9} pour la substance blanche, impliquant une déformation légèrement plus faible dans le cas d'une injection dans de la substance grise que dans de la substance blanche cérébrale, en particulier aux forts débits. Les valeurs de déplacement associées sont résumées dans le Tableau 3 ci-dessous pour des débits d'injection usuels. Ces calculs sont à considérer avec précaution dans la mesure où les valeurs des propriétés rhéologiques des tissus restent des estimations et non des mesures absolues.

$Q_0(\mu L \cdot min^{-1})$	0.1	0.5	2.5	5
$u_r(a) (mm) GM$	0.003	0.017	0.083	0.166
$u_r(a) (mm) WM$	0.005	0.025	0.123	0.246

GM : « Gray Matter » ; WM : « White Matter »

Tableau 3 : Valeurs de déplacement radial de la cavité sphérique d'infusion en régime quasi-stationnaire selon le modèle Bassar [99]. Le calcul est fait pour la substance grise et la substance blanche, selon le débit d'infusion, dans le cas avéré $\lambda \gg G$ (rapport 45).

Bassar considère finalement sur cette base la consolidation du milieu et le transport résultant d'une espèce chimique. La consolidation du milieu est l'augmentation du volume du tissu lorsqu'un certain volume de liquide interstitiel est injecté. Si l'on note V_T^0 et $V_T^0 + \delta V_T$ le volume de tissu avant et après déformation, V_{ECS}^0 et $V_{ECS}^0 + \delta V_{ECS}$ le volume de l'espace extracellulaire avant et après injection, alors, la dilatation du tissu aux faibles déformations s'écrit $e = \delta V_T / V_T^0$. Puis comme par ailleurs les deux phases du milieu (solide et fluide) sont individuellement considérées comme incompressibles, l'augmentation du volume interstitiel δV_{ECS} est directement égale à l'augmentation consécutive du volume du tissu δV_T . Puis, étant donné la définition $V_{ECS}^0 = \phi V_T^0$, la dilatation s'écrit finalement :

$$e = \frac{\delta V_T}{V_T^0} = \phi \frac{\delta V_{ECS}}{V_{ECS}^0}$$

Eq. 35

D'où il résulte que le changement du volume interstitiel de fluide est plus important que le changement associé du volume de tissu. En particulier, pour les tissus cérébraux présentant une fraction volumique extracellulaire $\phi \cong 0.2$, on pourra observer qu'un tissu se déformant de 5 % de son volume suite à une injection voit son volume de fluide interstitiel augmenté de 25 %. Connaissant la dilatation ($e = Tr(\varepsilon) = Q_0 / 4\pi c r$), la formulation du volume final déformé du tissu et de la phase fluide sont connus par :

$$\begin{cases} V_T = V_T^0(1 + e) \\ V_{ECS} = V_{ECS}^0(1 + e/\phi) \end{cases}$$

Eq. 36

Le temps caractéristique de consolidation du milieu est défini par Bassar à l'équation Eq. 37 ci-dessous. Il vaut $335 s \cong 6 min$ pour la substance grise et $500 s \cong 8 min$ pour la substance blanche (valeurs numériques de l'auteur).

$$\tau_{conso} = \left(\frac{2}{\pi}\right)^2 \frac{(R_0 - a)^2}{c}$$

Eq. 37

L'équation de transport d'une espèce chimique de concentration $C_i(r, t)$ dans l'espace interstitiel d'un milieu poreux s'écrit de la façon suivante dans le cas « simple » d'un réseau rigide :

$$\frac{\partial C_i}{\partial t} = D_{eff} \Delta C_i + \text{div}(\vec{v}_i C_i) + \varphi_s(C_i, p_i, t) - \varphi_p(C_i, p_i, t)$$

Eq. 38

Où D_{eff} est le coefficient de diffusion moléculaire effectif de l'espèce dans le milieu (considéré homogène). Le second terme correspond au transport convectif. φ_s et φ_p correspondent à des termes « source » et « puits », respectivement. Cependant, cette équation n'est plus valable en milieu poreux déformable. Dans le cadre d'un modèle de tissu poroélastique tel que celui de Basser, l'équation de transport Eq. 38 est modifiée par la condition de déformation :

$$C_i(r, t) = C'_i(r, t) \left(1 + \frac{e(r, t)}{\phi}\right)$$

Eq. 39

Où $C'_i(r, t)$ est la concentration interstitielle de l'espèce dans le tissu dans l'état déformé.

On retiendra de la validité de ce modèle de poroélasticité homogène isotrope que la théorie de consolidation de Biot n'est valable notamment qu'aux faibles déformations du réseau, que la déformation de ce dernier varie linéairement et de façon réversible avec la contrainte, puis que le liquide interstitiel est incompressible. Par ailleurs, le modèle ne tient pas compte de l'influence du réseau vasculaire sur l'injection, notamment l'hydrodynamique. Pour le transport, il est éventuellement décrit implicitement au travers du terme φ_p . Nous décrivons ci-dessous le modèle de Morrison, valable en milieu poreux rigide et davantage appliqué au transport, ainsi que tenant compte des mécanismes de réabsorption micro-vasculaire en hydrodynamique comme en transport.

1.5.1.2 Cas d'un milieu poreux homogène isotrope rigide : hydrodynamique et transport

Morrison *et al.* 1994 [6] ont développé un modèle d'écoulement et de transport en milieu poreux rigide, homogène et isotrope, pour décrire les injections de substances exogènes de poids moléculaires entre 20 à 180 kDa dans le tissu cérébral par micro-injection à haut débit (de l'anglais « high-flow microinfusion »). Les auteurs définissent ainsi la « Convection-Enhanced Delivery » par des injections à haut débit, entre 0.5 et 6 $\mu\text{L} \cdot \text{min}^{-1}$, en contraste avec des injections à bas débit (de l'anglais « low-flow microinfusion »), inférieur ou égale à 0.05 $\mu\text{L} \cdot \text{h}^{-1} = 0.83 \times 10^{-3} \mu\text{L} \cdot \text{min}^{-1}$ à partir duquel le transport diffusif devient majoritaire. Leur modèle est construit en géométrie sphérique de la même façon que pour Basser [99], à la différence conceptuelle près que le rayon a de la cavité sphérique remplace complètement l'aiguille. Ce rayon est ici le rayon équivalent sphérique du rayon du cathéter. Leur modèle apporte des solutions analytiques et numériques en quasi-stationnaire pour l'écoulement puis des solutions en régime transitoire pour la concentration

de l'espèce pendant et après injection. Les hypothèses de leur modèle sont les suivantes. Le mouvement convectif radial généré par la pompe d'infusion suit la loi de Darcy. Le volume cérébral est suffisamment grand devant le volume injecté de sorte à satisfaire $\|\overrightarrow{\text{grad}} p_i\|(r \rightarrow \infty) = 0$ et $p_i(r \rightarrow \infty) \cong p_{CSF}$. Le débit volumique d'injection est supposé constant et suffisamment grand pour assurer une continuité avec l'écoulement convectif dans le tissu proximal. Le transport de liquide interstitiel au travers des parois microvasculaires dans le milieu est uniformément réparti dans le cerveau, et ce transport est proportionnel à l'écart entre la pression interstitielle p_i et la pression effective de Starling p_e (cf. Eq. 41). Le modèle suppose également une fraction volumique extracellulaire et une perméabilité hydraulique homogènes. Ensuite, les molécules injectées peuvent également être réabsorbées par la microvascularisation bien qu'elles subissent un retard à la membrane d'échange, ou bien par simple diffusion au travers les pores de cette dernière. Par ailleurs, elles ne sont pas retardées par la matrice extracellulaire et elles peuvent se lier linéairement aux composantes immobiles de l'espace extracellulaire. Elles peuvent aussi se dégrader selon un métabolisme linéaire, soit directement dans le fluide interstitiel ou indirectement après liaison sur les éléments de l'espace extracellulaire. La dernière hypothèse de travail est que la substance administrée n'est pas produite de façon endogène dans le tissu.

L'hydrodynamique de l'injection est tout d'abord décrite par la loi de Darcy et l'équation de conservation de la masse (également appelée équation de continuité) :

$$\begin{cases} \phi \vec{v}_i = -\kappa \overrightarrow{\text{grad}} p_i \\ \text{div}(\phi \vec{v}_i) = \Omega_p \end{cases}$$

Eq. 40

Avec la même notation que pour le modèle de Basser, à l'exception du terme Ω_p (s^{-1}) qui est introduit ici pour décrire la réduction de vitesse interstitielle du fluide pendant l'injection dû au transfert d'une partie du fluide injecté au travers des parois microvasculaires cérébrales. Ce terme est décrit par la loi de Starling :

$$\Omega_p(r) = -L_p s (p_i(r) - p_e) \text{ avec } p_e = p_v + \sigma_T (\pi_i - \pi_v)$$

Eq. 41

Avec la pression effective de Starling p_e (Pa) exprimée en fonction de la pression vasculaire veineuse p_v (Pa) et d'un terme de nature osmotique ; π_i et π_v (Pa) étant les pressions osmotiques interstitielles et vasculaires et σ_T un coefficient de réflexion osmotique. L_p ($m^2.s.kg^{-1}$) est la conductivité hydraulique vasculaire et s ($m^2.m^{-3}$) la surface de la membrane microvasculaire d'échanges rapportée au volume de tissu de l'élément considéré. Ω_p est ainsi négatif dans le cadre d'une injection interstitielle dès lors que la pression interstitielle du fluide excède la pression effective de Starling, soit une perte nette de volume de fluide injecté au travers des parois microvasculaires. On note également que ce terme dépend directement de la pression interstitielle qui elle-même dépend de la position radiale r par rapport au centre de la cavité d'infusion. La réabsorption capillaire n'est donc pas homogène bien que la conductivité hydraulique vasculaire

soit considérée homogène ici. Les conditions aux limites du problème sont traduites de la façon suivante :

$$\begin{cases} \|\overrightarrow{\text{grad}} p_i\|(r \rightarrow \infty) = 0 \text{ Pa.m}^{-1} \\ Q_0 = 4\pi a^2 \phi v_i(a) \end{cases}$$

Eq. 42

Les solutions de pression et vitesse interstitielle du fluide sont alors :

$$\begin{cases} p_i(r) = p_e + \frac{Q_0}{4\pi \kappa (1 + \beta)} \frac{e^{-\beta \left(\frac{r}{a} - 1\right)}}{r} & (1) \\ v_i(r) = \frac{Q_0}{4\pi \phi (1 + \beta)} \left(\frac{\beta}{a} + \frac{1}{r}\right) \frac{e^{-\beta \left(\frac{r}{a} - 1\right)}}{r} & (2) \end{cases} \quad \text{avec } \beta = a \sqrt{L_p s / \phi \kappa}$$

Eq. 43

Où β est un facteur faisant intervenir le rapport entre le produit conductivité hydraulique vasculaire $\times$ surface d'échange par volume de tissu avec la conductivité hydraulique du tissu. Ce facteur est élevé par exemple lorsque la conductivité hydraulique vasculaire est grande devant la conductivité hydraulique du tissu et faible dans le cas inverse. On note que dans le cas où l'on néglige les échanges microvasculaires, *i.e.* $\beta = 0$, ces solutions coïncident avec les solutions quasi-stationnaires de Basser [99], *cf.* Eq. 31. De plus, sans négliger la contribution de β , la pression interstitielle en $r = a$ est différente dans les deux modèles ; cela dit la vitesse interstitielle en $r = a$ est identique et indépendante de β . La Figure 38 ci-dessous représente l'allure de ces solutions pour différentes valeurs de β , la valeur β_0 étant choisie à partir des données des auteurs.

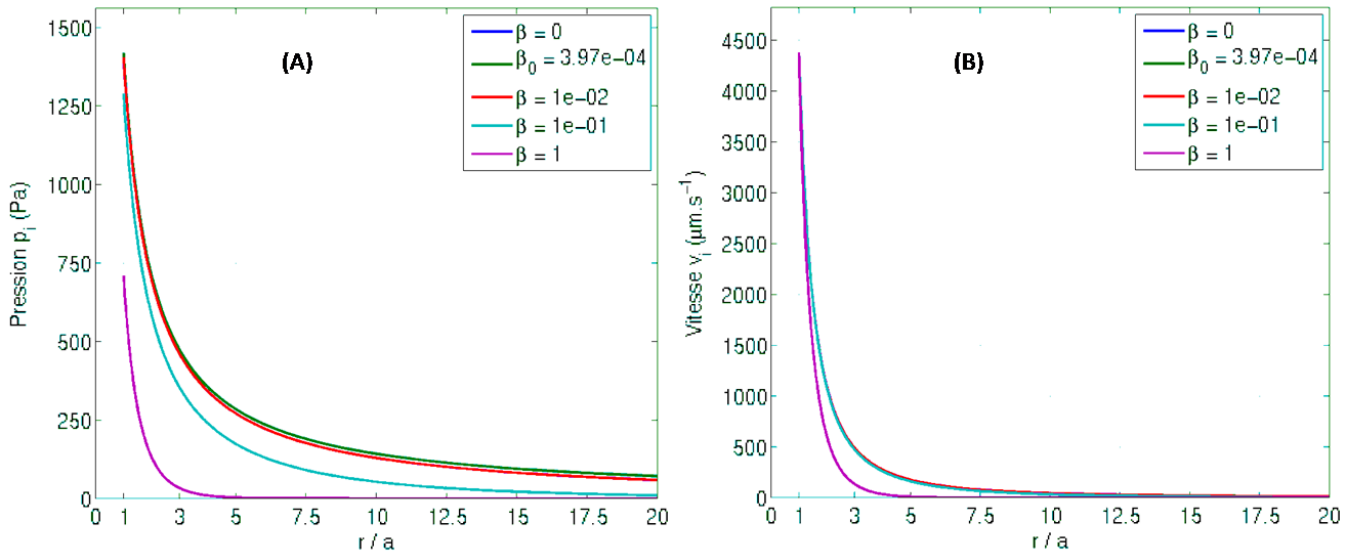


Figure 38 : Distribution radiale de la pression et de la vitesse interstitielle selon le modèle de Morrison *et al.* [6]. Le paramètre β est explicité à l'équation Eq. 43. Une cavité de rayon 0.028 mm est considéré ici, équivalente à une aiguille 32 G.

Il est par ailleurs possible d'estimer la fraction volumique de perte de liquide interstitielle à travers la microvascularisation pendant l'injection. La question est ici de savoir dans quelles proportions le

front d'injection est retardé par les pertes au travers des vaisseaux capillaires. Les auteurs proposent comme taux de perte de liquide interstitiel depuis l'espace extracellulaire le terme $-L_p s(p_i(r) - p_e)/\phi$. La fraction de liquide perdu au total durant une injection s'estime alors en intégrant ce terme selon le temps d'injection t . Le liquide injecté s'est alors propagé radialement à une distance $r_0(t)$. Cette position est connue en intégrant l'équation du mouvement sur la base de l'équation Eq. 43 (2). La fraction de liquide perdu dans la microvascularisation est alors estimée selon :

$$f(r_0(t)) \approx \int_0^{r_0(t)} \frac{L_p s}{\phi} (p_i(r) - p_e) \frac{dr}{v_i(r)}$$

Eq. 44

Le rayon a de la cavité est négligé dans cette intégrale du fait de sa contribution mineure. Le calcul direct d'après Eq. 43 conduit au résultat suivant :

$$f(r_0(t)) \approx \frac{\beta}{a} r_0(t) - \ln \left(1 + \frac{\beta}{a} r_0(t) \right) \quad \text{avec} \quad \frac{\beta}{a} = \sqrt{L_p s / \phi \kappa}$$

Eq. 45

Cette fonction est représentée sur la Figure 39 ci-dessous, toujours à partir des valeurs de paramètres de [6]. Elle dépend directement du rapport β/a et donc du rapport entre la conductivité hydraulique vasculaire à la conductivité hydraulique du tissu ce qui reste cohérent.

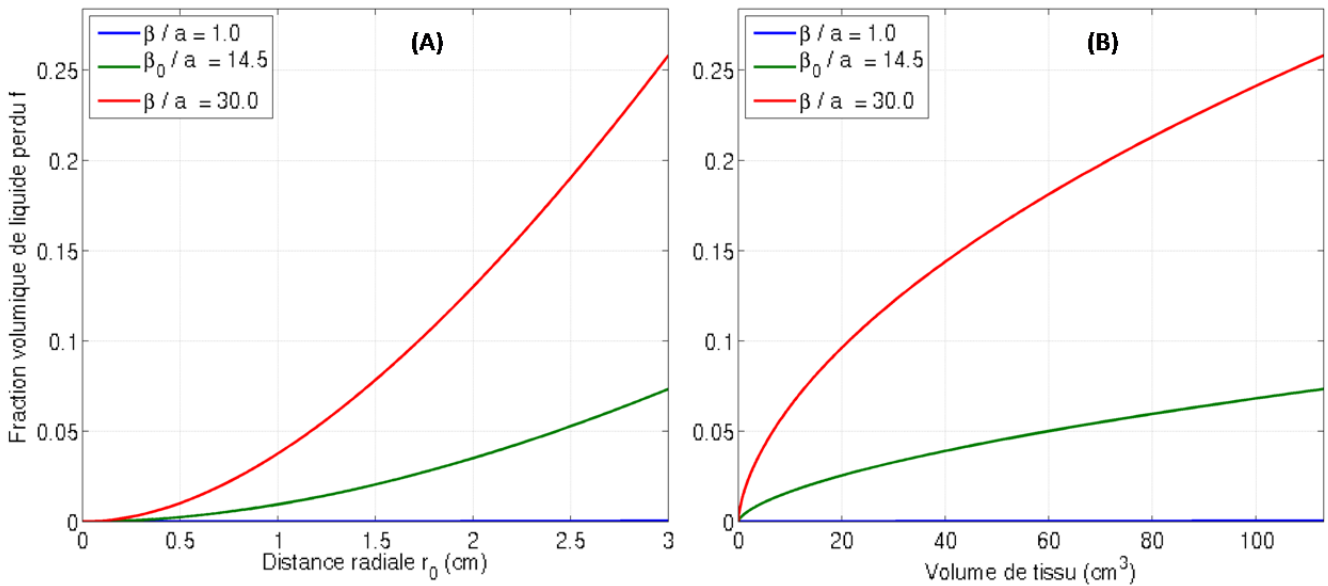


Figure 39 : Estimations de la fraction volumique de liquide perdu dans la microvascularisation selon la distance radiale (A) ou le volume de tissu $4/3 \pi r_0^3$ (B), d'après la proposition de Morrison *et al.* 1994 [6]; Le facteur β/a qui est explicité à l'équation Eq. 45 s'avère un paramètre très sensible. La valeur nominale β_0/a s'appuie sur les valeurs retenues de [6] pour l'homme.

Avec les paramètres de [6], f vaut environ 1 % à 1 cm de la cavité d'infusion et augmente avec la distance. Vu selon le volume de tissu équivalent sphérique, f augmente également mais avec une allure convexe. Cet angle d'analyse est plus pertinent car bien que le modèle soit simplifié à une analyse radiale, l'espace du modèle est tridimensionnel. De plus, lors d'une injection à débit imposé, le volume de fluide injecté varie linéairement avec le temps ce qui n'est pas le cas de $r_0(t)$. La

convexité des courbes Figure 39 (B) est ainsi cohérente avec la décroissance radiale de la pression interstitielle $p_i(r)$ (et donc du terme « puits » $\Omega_p(r)$). On retiendra de cette analyse que la fraction volumique de liquide réabsorbé par la microvascularisation pendant une injection interstitielle est mineure, inférieure par exemple à 5 % pour une injection distribuée sur 60 cm^3 de tissu.

L'équation du transport des macromolécules que les auteurs associent à ce premier calcul hydrodynamique est décrite par l'équation simplifiée suivante :

$$R_d \frac{\partial C_i}{\partial t} = D_{eff} \operatorname{div}(\phi \overrightarrow{\operatorname{grad}} C_i) - \operatorname{div}(\phi \vec{v}_i C_i) - L_p s \frac{(p_e - p_i(r))(1 - \sigma)}{e^{P_{mv}} - 1} C_i - k_{irr} C_i$$

Eq. 46

Où le terme $R_d C_i$ est la concentration totale {libre et liée}, avec $R_d = \phi(1 + k_{b1} B_0 / k_{b2})$ qui tient compte de la répartition intra et extracellulaire et de liaison linéaire; B_0 est la concentration de sites de liaisons de l'espace extracellulaire, k_{b1}/k_{b2} la constante d'affinité décrit depuis le milieu extracellulaire. Il résulte de cette équation que l'évolution temporelle de la concentration totale est décrite par un terme de diffusion moléculaire (1^{er} terme à gauche), un second terme de transport convectif, un troisième coefficient décrivant les pertes microvasculaires puis un dernier terme de métabolisme irréversible. k_{irr}/R_d est la constante de dégradation d'ordre 1. Et enfin, les nombres de Peclet microvasculaire P_{mv} et tissulaire P_{ti} , qui traduisent le rapport convection / diffusion au travers des surfaces capillaires et dans le tissu respectivement, sont proposés sous la forme :

$$P_{mv} = \frac{L_p s (p_e - p_i(r))(1 - \sigma)}{ps} \quad \text{et} \quad P_{ti} = \sqrt{\frac{Q_0}{3D_{eff}r}}$$

Eq. 47

Avec $p \text{ (m.s}^{-1}\text{)}$ la perméabilité microvasculaire.

Les conditions aux limites sont les suivantes : la concentration loin de la cavité (l'infini) est nulle et la concentration en $r = a$ égale la concentration d'injection C_0 . Sous l'hypothèse que les macromolécules traversent la microvascularisation par perméation majoritairement, *i.e.* $P_{mv} \ll 1$, le terme de pertes capillaires de l'équation Eq. 46 se simplifie et il ne reste que le facteur $-ps$. Puis étant donné le faible nombre de Peclet du tissu au débit qu'ils modélisent, $3 \mu\text{L.min}^{-1}$, le terme de transport diffusif est négligé. L'équation se réécrit alors sous la forme plus simple :

$$R_d \frac{\partial C_i}{\partial t} = -\operatorname{div}(\phi \vec{v}_i C_i) - K C_i \quad \text{avec } K = k_{irr} + ps$$

Eq. 48

Dont les auteurs exhibent la solution analytique suivante :

$$\frac{C_i(r, t)}{C_0} = \begin{cases} \exp\left(-\frac{4\pi K}{3Q_0}(r^3 - a^3)\right) & \text{pour } a \leq r \leq \left(a^3 + \left(\frac{3Q_0 t}{4\pi R_d}\right)\right)^{1/3} \\ 0 & \text{pour } r \geq \left(a^3 + \left(\frac{3Q_0 t}{4\pi R_d}\right)\right)^{1/3} \end{cases}$$

Eq. 49

A un instant t donné, le fluide atteint le rayon $r_0(t)$ et $r \in [a ; (a^3 + 3Q_0 t / 4\pi R_d)^{1/3}]$. Le cas où il n'y a pas de fixations de l'espèce est simplement décrit par $R_d = \phi$. Le profil de concentration normalisée est alors de la forme $a_1 \exp(-a_2 r^3)$. Toujours à un instant t donné, ce profil est d'autant plus large que le facteur de pertes K est petit devant le débit d'injection Q_0 . Le tracé de ces profils en fonction du temps indique un profil dont le front avance avec le temps. Au-delà d'un certain temps t_{equ} , le profil atteint un équilibre quasi-stationnaire, l'espèce étant dégradée chimiquement et réabsorbée au fur et à mesure de sa pénétration dans le tissu. Les auteurs proposent pour cela une formulation analytique du temps d'équilibre ainsi que du rayon r_{equ} de tissu atteint (défini au point d'inflexion du profil) selon :

$$t_{equ} = \frac{2R_d}{3K} \quad \text{et} \quad r_{equ} = \sqrt{\frac{2Q_0}{4\pi K}}$$

Eq. 50

Il en résulte un rayon de pénétration qui est directement lié au rapport Q_0/K . Le temps d'équilibre quasi-stationnaire dépend lui du facteur de pertes K et de la fraction volumique extracellulaire ϕ . Ce temps sera d'autant plus grand pour une espèce et un milieu présentant un faible facteur de pertes ainsi qu'une forte fraction volumique extracellulaire. Morrison *et al.* calculent par exemple pour des macromolécules de 180 kDa dont la constante métabolique est estimée à $k_{irr} = 1.15 \times 10^{-6} s^{-1}$ et $\phi = 0.2$ un rayon de pénétration $r_{equ} \sim 1.8 \text{ cm}$ atteint au bout du temps $t_{equ} \sim 1.2 \text{ jours}$.

Les auteurs ne se sont pas seulement intéressés au transitoire de concentration pendant l'injection, mais ont également abordé la cinétique de post-injection sous un angle analytique avec résolution numérique. Ils ont ainsi montré que la distribution de l'espèce en post-injection, soumis uniquement à la diffusion moléculaire, peut se calculer en considérant une série instantanée de sources de diffusion. Ils proposent alors l'évolution transitoire d'un profil de concentration en post-injection selon :

$$C_i(r, \hat{t} = t - t_{inf}) = \frac{e^{-K'\hat{t}}}{2r\sqrt{\pi D'\hat{t}}} \int_0^{r_0} C_i(r', t_{inf}) r' \cdot \left(e^{-(r-r')^2/4D'\hat{t}} - e^{-(r+r')^2/4D'\hat{t}} \right) dr'$$

Eq. 51

Avec $K' = K/R_d$, $D' = \phi D_{eff}/R_d$ et t_{inf} est le temps d'infusion. $r_0 = 3Q_0 t_{inf} / 4\pi R_d$ pour le régime de « high-flow microinfusion » (plage $Q_0 \in [0.5 - 6] \mu L \cdot \text{min}^{-1}$) et $r_0 = +\infty$ pour le régime de « low-flow microinfusion » (plage $Q_0 \leq 0.05 \mu L \cdot h^{-1}$).

Enfin, une approche intéressante est développée pour quantifier la distribution de concentration obtenue pendant et après injection en termes d'effets pharmacodynamiques, notamment afin de

pouvoir comparer les deux régimes d'injection qu'ils modélisent : « high-flow » *versus* « low-flow », avec $Q_0^{HF} = 3 \mu L \cdot min^{-1}$ *versus* $Q_0^{LF} = 0.05 \mu L \cdot h^{-1}$ pendant 12 h d'injection suivi de trois jours de post-injection. Elle consiste en l'utilisation de deux métriques pour faire ces quantifications : 1) l'intégrale temporelle de la distribution radiale de concentration du tissu, connue sous le nom d' $AUC(r)$ (« Area Under the Curve ») 2) le seuillage en concentration, de sorte qu'une interaction pharmacodynamique n'est possible qu'au-delà cette valeur seuil. L' AUC est défini ici par :

$$AUC(r) = \int_0^{t_{inf}} C_i(r, t) dt + \int_0^{\infty} C_i(r, \hat{t}) d\hat{t} \quad \text{avec } \hat{t} = t - t_{inf}$$

Eq. 52

Dont les auteurs proposent un développement analytique nécessitant une résolution numérique, cf. Figure 40 ci-dessous. La deuxième métrique est calculée de la façon suivante : la concentration maximale est évaluée à toute distance radiale r en fonction du tissu du volume correspondant.

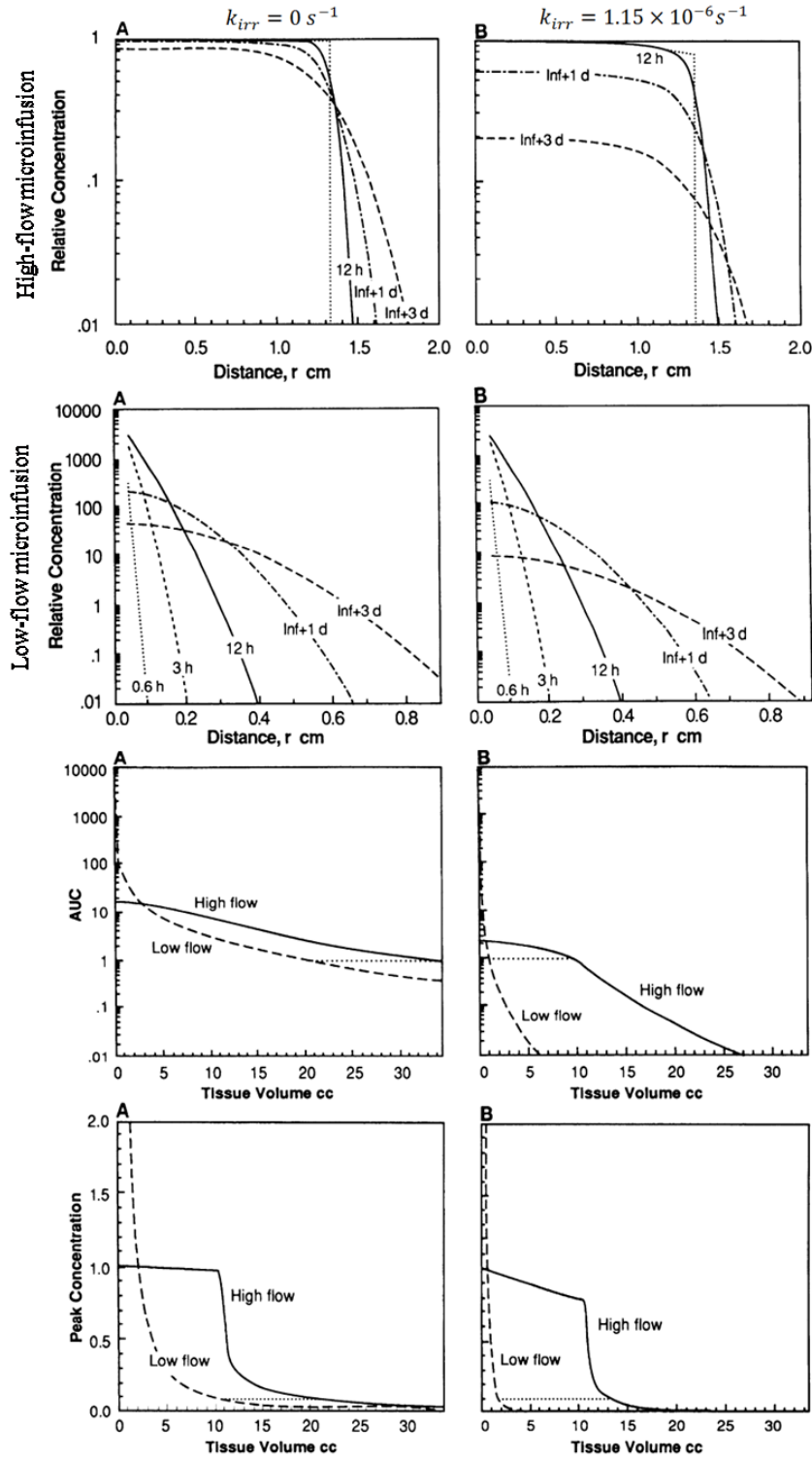


Figure 40 : Résultats de Morrison *et al.* 1994 [6]. Les colonnes A et B correspondent aux cas $k_{irr} = 0$ et $1.15 \times 10^{-6} s^{-1}$ ($\Leftrightarrow \tau_{1/2} = 33.5 h$), respectivement. Les profils de concentrations sont simulés pour les deux modes d'injection, « high-flow » (HF) et « low-flow » (LF), les calculs étant menés pour un débit de quantité injectée ($mol. s^{-1}$): $dn_i/dt = Q_0^{HF} C_0^{HF} = Q_0^{LF} C_0^{LF}$, i.e. $C_0^{LF} = Q_0^{HF}/Q_0^{LF} \times C_0^{HF} = 3600 C_0^{HF}$. L'injection consiste en 2.16 mL administré à $3 \mu L. min^{-1}$ (HF) ou à $0.05 \mu L. h^{-1}$ (LF) pendant 12 h. Les profils de concentration normalisés correspondent à la concentration interstitielle libre de macromolécules dans le tissu cérébral (pas de fixation : $R_d = \phi$). Les profils sont également donnés à un et trois jours post-injection. Dans le cas HF pour A et B, la courbe en pointillés fins indique le profil de concentration à $t = 12 h$ pour un calcul négligeant le terme de diffusion, cf. Eq. 48 et Eq. 49.

La comparaison propre de ces calculs numériques nécessite l'interprétation des courbes d' AUC et de seuillage. L' AUC^{LF} est plus élevée aux courtes distances radiales que l' AUC^{HF} en raison de la différence de concentration d'entrée $C_0^{LF} = 3600 C_0^{HF}$ mais elle décroît rapidement aux plus larges rayons, avec ($\tau_{1/2} = \phi \ln 2 / k_{irr} = 33.5 h$) ou sans ($\tau_{1/2} = +\infty$) prise en compte du métabolisme. Pour une augmentation du volume de traitement défini par l'écart de volume de tissu perfusé par l'injection entre le calcul « high-flow » versus « low-flow » pour $AUC = 1$, les auteurs rapportent une augmentation de volume de $13.2 cm^3$ (i.e. $+ 0.36 cm$) sans métabolisme et $8.4 cm^3$ (i.e. $+ 0.73 cm$) avec métabolisme. L'injection ($T_{inf} = 12 h$) à « fort débit » révèle clairement son intérêt en termes pharmacocinétiques (AUC) par rapport à l'injection à « bas débit » (transport par diffusion majoritaire). Les auteurs constatent le même type d'augmentation de traitement de volume avec la métrique de seuillage, définie à 10 % de la concentration d'injection. Ceci conclut ce résumé des travaux de Bassar 1992 [99] et Morrison *et al.* 1994 [6].

D'autres travaux analytiques sur le transport convectif sont présentés dans les références suivantes : (Taylor *et al.* 1990 [104, 105], Stukel *et al.* 2008 [106, 107], Klyushin *et al.* 2007 [108]). Par ailleurs, un certain nombre de travaux sur les modèles prédictifs de CED ont été menés par une analyse numérique par ailleurs. Ils ne sont pas explicités ici et on peut trouver les références suivantes (Netti *et al.* 2003 [109], Sarntinoranont *et al.* 2003 [10], 2006 [95], Chen *et al.* 2007 [110]).

1.5.1.3 Injection CED en présence de tumeur

Il n'existe à ce jour qu'une seule référence dans la littérature s'étant penchée sur la question d'un modèle analytique d'injection CED intra-tumorale. Il s'agit de Smith *et al.* 2007 [92] qui ont modélisé des injections à pression imposée dans ce contexte. Repartant des équations de poroélasticité établies par (Bassar 1992 [99], Netti *et al.* 1995 [74], 1997 [111]), ils considèrent un modèle d'injection CED sur la base d'une géométrie sphérique de tissu sain et / ou tumoral. Les échanges transvasculaires sont pris en compte par un terme « puits » dans l'équation de continuité via la loi de Starling, comme pour Morrison *et al.* 1994 [6]. Les équations principales sont les suivantes :

$$\begin{cases} G \vec{\Delta} \vec{u} + \frac{G}{1-2\nu} \overrightarrow{grad}(\text{div } \vec{u}) - \alpha \overrightarrow{grad} p_i = \vec{0} \\ \alpha \frac{\partial e}{\partial t} + \frac{1}{M} \frac{\partial p_i}{\partial t} - \kappa \Delta p_i = \Omega_p \end{cases}$$

Eq. 53

Avec pour un tissu donné G (Pa) le module de cisaillement ; ν le coefficient de Poisson ; α le coefficient de Biot-Willis ; M (Pa) le module de Biot. Les autres grandeurs sont notées de la même façon que pour la section précédente.

Ils considèrent que lors d'injections dans les tissus, ces derniers sont déplacés radialement et qu'une cavité sphérique d'infusion de rayon a est établie instantanément. Sur cette base, la distribution de déplacement induit par l'injection ainsi que la distribution de pression interstitielle

du fluide sont toutes deux à symétrie sphérique. Les auteurs s'intéressent alors à la résolution analytique de l'équation de pression :

$$\frac{1}{c} \frac{\partial p_i}{\partial t} - \frac{1}{r^2} \frac{\partial}{\partial r} \left(r^2 \frac{\partial p_i}{\partial r} \right) = \frac{\gamma^2}{a^2} (p_e - p_i) \quad \text{avec} \quad \begin{cases} \frac{1}{c} = \frac{a^2}{2\kappa G} \frac{1-\nu}{1-2\nu} + \frac{1}{\kappa M} \\ \gamma = a \sqrt{\frac{L_p S}{\kappa}} \end{cases}$$

Eq. 54

Avec γ apparaissant comme quasiment identique que pour notre coefficient β repris de l'étude de Morrison *et al*, au facteur de porosité près. Les auteurs supposent ensuite les deux phases du milieu poreux (solide déformable et fluide) individuellement incompressibles, réduisant deux coefficients à $1/M = 0$ et $\alpha = 1$. Le coefficient c s'exprime alors de la même façon que dans les équations de Basser [99] au facteur a^2 près, et avec $\nu = \lambda / (2(G + \lambda))$. Les auteurs calculent analytiquement les solutions en régime transitoire de l'équation Eq. 54 ci-dessus dans le cas d'une injection à pression imposée dans : 1) du tissu cérébral sain 2) du tissu tumoral isolé et 3) dans une tumeur nécrotique entourée de tissu sain (cas résolu en régime permanent). L'équation est posée et résolue pour chaque domaine considéré (1 pour (1), 2 pour (2), 3 pour (3)). Les principaux résultats associés aux calculs (2) et (3) sont présentés sur la Figure 42 et la Figure 43.

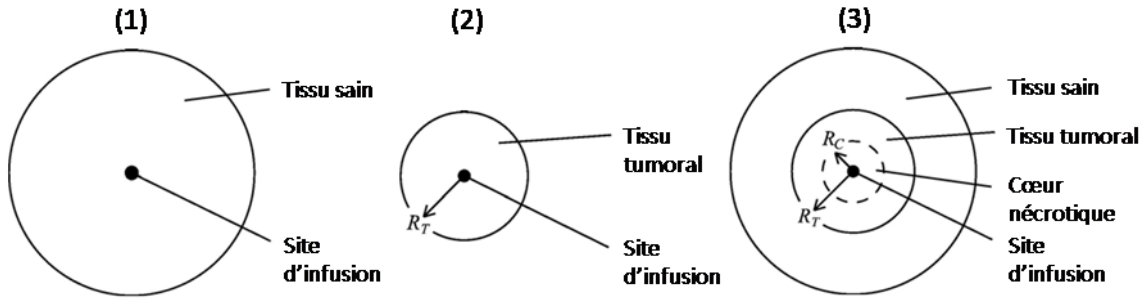


Figure 41 : Cas de figure abordés par [92]. Pour les cas (2) et (3), $R_T = 1 \text{ cm}$. Pour (3), R_C est variable (0, 0.25, 0.5, 0.75 cm).

- Solutions en transitoire pour l'injection dans le tissu cérébral sain (1)

Les conditions aux limites et initiales sont formulées de la façon suivante :

$$\begin{cases} p_i(a, t) = p_a \\ \lim_{r \rightarrow \infty} p_i(r, t) = p_e \end{cases} \quad \forall t \in [0; t_{inf}]$$

Eq. 55

La solution analytique transitoire en pression interstitielle s'exprime alors selon ³ :

$$p_i(r, t) = p_e + (p_a - p_e) \frac{a}{r} e^{-\frac{\gamma}{a}(r-a)} + \frac{1}{2} (p_a - p_e) \frac{a}{r} e^{\frac{\gamma}{a}(r-a)} \operatorname{erfc} \left(\frac{\gamma}{c} \sqrt{ct} + \frac{r-a}{\sqrt{ct}} \right) - \frac{1}{2} (p_a - p_e) \frac{a}{r} e^{-\frac{\gamma}{a}(r-a)} \operatorname{erfc} \left(\frac{\gamma}{c} \sqrt{ct} - \frac{r-a}{\sqrt{ct}} \right)$$

Eq. 56

Dont la première ligne seule correspond à la solution en régime quasi-stationnaire ($t \rightarrow \infty$). On notera que cette solution $p_i(r, \infty)$ a la même forme que celle exhibée par Morrison *et al.* 1994 [6], aux constantes près, étant donné qu'il s'agit ici d'un problème posé à pression d'entrée imposée et non à débit fixé. Par ailleurs, la solution lorsque les échanges transvasculaires sont négligés, *i.e.* $\gamma = 0$, amène au même résultat que Basser 1992 [99] dans le cas $p_e = 0$ pour une marche de pression en entrée, à savoir :

$$p_i(r, t)|_{\gamma=0} = p_e + (p_a - p_e) \frac{a}{r} \operatorname{erfc} \left(\frac{r-a}{\sqrt{ct}} \right)$$

Eq. 57

- *Solutions en transitoire pour l'injection dans une tumeur isolée (2)*

La tumeur décrite par son rayon R_T est homogène (sans région nécrotique). Les conditions aux limites et initiales sont traduites par :

$$\begin{cases} p_i(R_T, t) = p_{R_T} = 0 \text{ Pa}, \forall t \in [0; t_{inf}] & (a) \\ p_i(r, 0) = p_e \left(1 - \frac{R_T}{r} \frac{\sinh \frac{\gamma}{a} r}{\sinh \frac{\gamma}{a} R_T} \right) & (b) \end{cases}$$

Eq. 58

L'équation (b) provenant du modèle original de Baxter et Jain [2] tel que nous l'avons présenté précédemment. La résolution de l'équation Eq. 57 conduit à la formulation analytique suivante ⁴ :

$$p_i(r, t) = p_e \left(1 - \frac{R_T}{r} \frac{\sinh \frac{\gamma}{a} r}{\sinh \frac{\gamma}{a} R_T} \right) + (p_a - p_i(a, 0)) \frac{a}{r} \frac{\sinh \frac{\gamma}{a} (R_T - r)}{\sinh \frac{\gamma}{a} (R_T - a)} + \frac{a(p_a - p_i(a, 0))}{r (R_T - a)^2} \sum_{n=1}^{\infty} \frac{2n\pi(-1)^n}{\frac{\gamma^2}{a^2} + \frac{n^2\pi^2}{(R_T - a)^2}} \sin \frac{n\pi(R_T - r)}{R_T - a} \times \exp \left[- \left(\frac{\gamma^2}{a^2} + \frac{n^2\pi^2}{(R_T - a)^2} \right) ct \right]$$

Eq. 59

- *Solutions stationnaires pour l'injection dans une tumeur avec cœur nécrotique (3)*

³ « *erfc* » est la fonction complémentaire de la fonction d'erreur « *erf* ». Elle s'écrit $\operatorname{erfc}(x) = \frac{2}{\sqrt{\pi}} \int_x^{\infty} \exp(-t^2) dt$; avec $\operatorname{erfc}(0) = 1$ et $\lim_{x \rightarrow +\infty} \operatorname{erfc}(x) = 0$, $\lim_{x \rightarrow -\infty} \operatorname{erfc}(x) = 2$.

⁴ « *sinh* » est la fonction sinus hyperbolique définie par $\sinh(x) = (e^x - e^{-x})/2$.

Le cœur nécrotique est décrit par un troisième domaine dans la tumeur, délimité par le rayon R_C . Les auteurs considèrent ici que ce domaine nécrotique ne possède pas de vascularisation fonctionnelle ($\gamma_C = 0$).

$$\left\{ \begin{array}{ll} p_C(r) = A + \frac{B}{r} & a \leq r \leq R_C \\ p_T(r) = p_{e_T} + \frac{C}{r} e^{-\frac{\gamma_T}{a}(r-R_T)} + \frac{D}{r} e^{\frac{\gamma_T}{a}(r-R_T)} & R_C \leq r \leq R_T \\ p_B(r) = p_{e_B} + \frac{E}{r} e^{-\frac{\gamma_B}{a}(r-R_T)} & R_T \leq r \end{array} \right.$$

Eq. 60

Avec γ_B et γ_T définis respectivement pour le tissu sain et tumoral non nécrotique. De la même façon, p_{e_B} et p_{e_T} sont les pressions effectives de Starling pour ces deux tissus. A, B, C, D, E sont des constantes qui sont explicitées à l'Annexe Solutions Analytiques de Smith *et al.*, 2007.

Dans chacun des trois cas explicités précédemment, on notera que la vitesse interstitielle radiale du fluide est obtenue en dérivant la pression interstitielle selon la loi de Darcy : $v_i(r, t) = -\kappa \partial p_i / \partial r$. Pour ces trois cas, les solutions analytiques quasi-stationnaires dépendent uniquement, en termes de propriétés des tissus, de la conductivité hydraulique κ , de la conductivité hydraulique vasculaire L_p et du rapport surface vasculaire sur volume de tissu s . Les autres propriétés (coefficient de consolidation c) agissent uniquement sur le temps caractéristique de convergence de la solution transitoire vers la solution quasi-stationnaire. Dans le tissu cérébral sain (cas 1), les auteurs observent que la pression interstitielle décroît sur une distance plus courte par rapport au site d'infusion lorsque γ augmente, c'est-à-dire lorsqu'il y a moins de transport de fluide interstitiel ou bien plus d'échanges au travers de la vascularisation. Cela se traduit par une vitesse interstitielle radiale qui décroît également et qui est d'autant plus faible que γ est grand. Pour la tumeur isolée (cas 2), la vitesse interstitielle du fluide décroît radialement proche de la cavité d'infusion, puis passe par un minimum avant de croître à nouveau à la périphérie tumorale, *cf.* Figure 42. L'augmentation de la vitesse interstitielle du fluide quand $r \rightarrow R_T^-$ est lié au fait que la pression interstitielle décroît à cet endroit et devient inférieure à la pression effective de Starling impliquant un transfert de fluide de la vascularisation dans le tissu, à l'inverse de ce qu'il se passe proche de la cavité d'infusion.

Le calcul n'est pas mené ici mais les auteurs commentent qu'une espèce transportée par convection et diffusion depuis la cavité d'infusion dans le tissu tumoral serait amenée à se distribuer en périphérie tumorale en raison des entrées du fluide d'origine vasculaire dans l'interstitium tumoral.

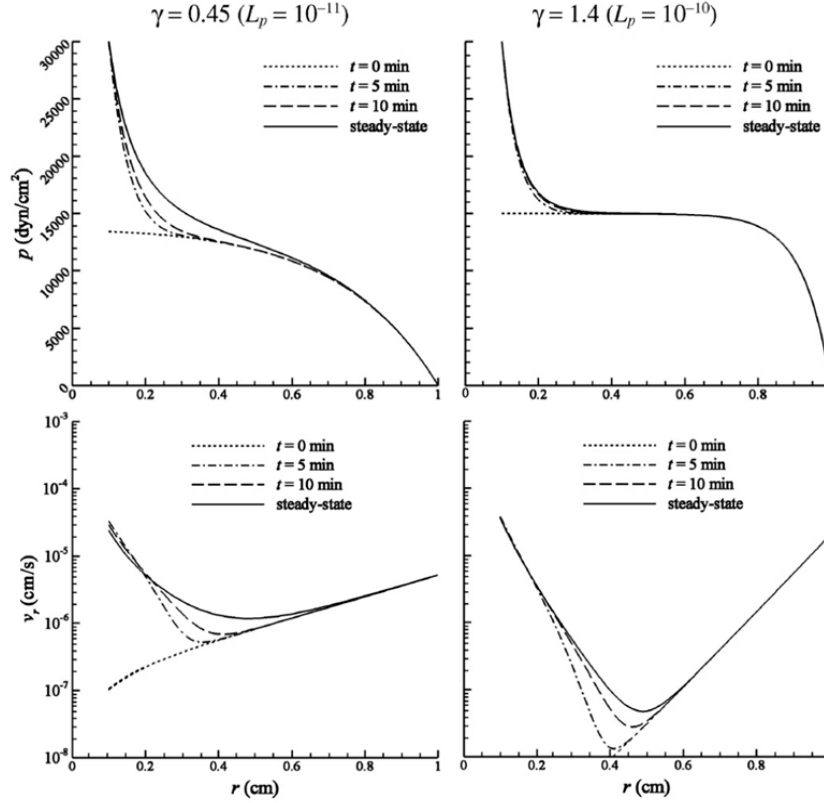


Figure 42 : Profils transitoires de pression et de vitesse interstitielle calculés pour une injection à pression imposée par une cavité de rayon $a = 1$ mm dans une tumeur isolée de rayon 1 cm pour deux valeurs de conductivité hydraulique vasculaire L_p . Le calcul est mené avec les propriétés suivantes du tissu tumoral : $\kappa = 10^{-13} \text{ m}^3 \cdot \text{s} \cdot \text{kg}^{-1}$, $L_p = 10^{-10} \text{ m}^2 \cdot \text{s} \cdot \text{kg}^{-1}$, $s = 2 \times 10^4 \text{ m}^{-1}$ impliquant $\gamma_T = 4.5$. A noter que l'ordonnée des vitesses est en échelle log. (d'après Smith *et al.* 2007 [92])

Enfin, la prise en compte d'un cœur nécrotique dans la tumeur alors entourée de tissu sain apporte plusieurs réponses, *cf.* Figure 43. Les auteurs montrent que la présence du cœur nécrotique tumoral affecte fortement les profils quasi-stationnaires de pression et de vitesse interstitielle dans cette région et également dans le tissu tumoral non-nécrotique avoisinant. En l'occurrence la pression décroît moins fortement dans le cœur que s'il s'agissait de tissu tumoral non nécrotique, et ce du fait que les échanges transvasculaires dans la région nécrotique sont absents ($\gamma_C = 0$, choix du modèle). De la sorte, plus le cœur nécrotique est grand, plus le gradient de pression interstitielle pénètre loin dans la tumeur (cœur nécrotique $r \leq R_C$ + tissu non nécrotique $R_C \leq r \leq R_T$). La présence d'un cœur nécrotique dans ce modèle d'injection à pression imposée apparaît donc comme un avantage pour la pénétration d'une substance infusée.

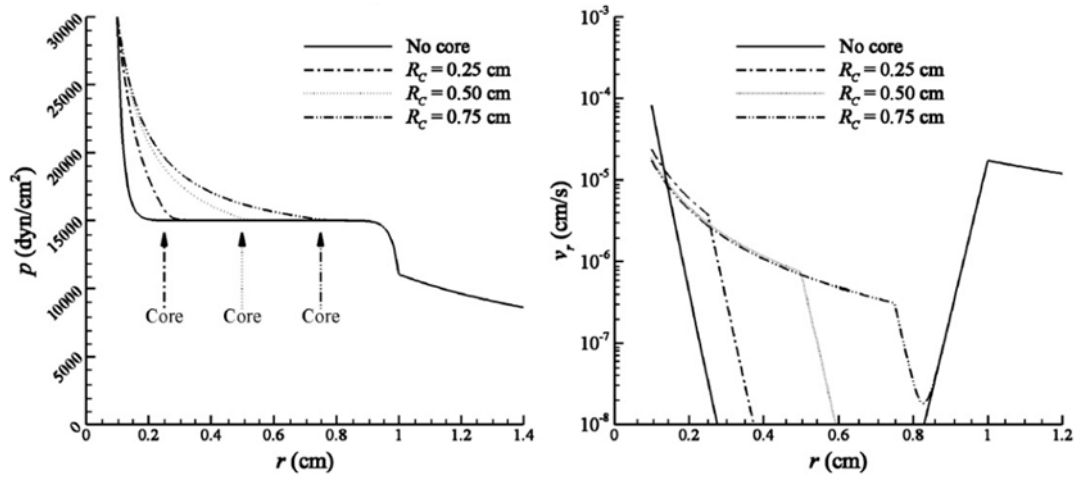


Figure 43 : Profil quasi-stationnaire de pression et vitesse interstitielle pour une injection par une cavité de rayon $a = 1 \text{ mm}$ dans une tumeur isolée de rayon 1 cm sans cœur nécrotique et avec un cœur nécrotique de $0.25, 0.5$ ou 0.75 cm . Les valeurs utilisées dans ce calcul sont : pour le tissu sain périphérique, $\kappa = 2 \times 10^{-12} \text{ m}^3 \cdot \text{s} \cdot \text{kg}^{-1}$, $L_p = 10^{-13} \text{ m}^2 \cdot \text{s} \cdot \text{kg}^{-1}$, $s = 10^4 \text{ m}^{-1}$ impliquant $\gamma_B = 0.022$; pour le tissu tumoral, $\kappa = 10^{-13} \text{ m}^3 \cdot \text{s} \cdot \text{kg}^{-1}$, $L_p = 10^{-10} \text{ m}^2 \cdot \text{s} \cdot \text{kg}^{-1}$, $s = 2 \times 10^4 \text{ m}^{-1}$ impliquant $\gamma_T = 4.5$. [92]

On notera toujours pour ce cas (3) que le choix de γ_B n'affecte pas ou peu les profils de pression et de vitesse interstitielle dans la tumeur, excepté légèrement à l'interface tumeur - tissu sain.

Ces résultats suggèrent enfin que l'injection CED d'une substance *via* une aiguille positionnée en périphérie tumorale, par exemple à l'interface tumeur – tissu sain, est limitée par le flux radial de fluide tumoral résultant des échanges {vascularisation $\rightarrow$ tissu} intratumoraux. Les valeurs des auteurs ($\gamma_B = 0.022$, $p_a = 3 \text{ kPa}$, $R_T = 1 \text{ cm}$) indiquent une vitesse interstitielle de $10.3 \mu\text{m} \cdot \text{min}^{-1}$ à l'interface tumeur – tissu sain. Pour leur modèle d'injection dans le tissu sain seul, une telle vitesse interstitielle (quasi-stationnaire) induite par l'injection existe à $4.5 a = 4.5 \text{ mm}$ de la cavité d'infusion. Cela signifie dans ce cas qu'une aiguille pour une injection CED péri-tumorale devrait être placée au plus à cette distance de l'interface tumeur – tissu sain pour contrebalancer la vitesse interstitielle physiologique tumorale. Ceci conclut le résumé de cette étude.

1.5.2 La CED : cahier des charges

Dans l'état actuel des connaissances, la CED en tant que moyen de délivrance intracérébrale des drogues possède l'avantage de pouvoir distribuer des agents thérapeutiques de divers poids moléculaires sous formes diluées ou sous forme de particules en suspension dans l'interstitium cérébral sain ou tumoral. Parmi les avantages de cette technique par rapport aux autres moyens de délivrance vers le parenchyme cérébral, on notera qu'elle réduit les risques de toxicité systémique, en particulier en comparaison avec une chimiothérapie par voie systémique où les autres organes du corps imposent une limite supérieure dans la concentration d'injection. Si cette technique est prometteuse, certains paramètres restent à optimiser. L'apparition de chemins de moindre résistance hydraulique peut causer l'écoulement et le transport de l'agent dans des structures adjacentes non ciblées (cavités ventriculaires, espace sous-arachnoïdien, cavité de résection tumorale) induisant éventuellement des toxicités locales et réduisant le transport effectif du soluté dans le tissu cible. Les efforts rapportés à ce sujet préconisent d'utiliser des aiguilles de petit

diamètre (32G typiquement) ainsi que de pratiquer des injections à bas débits (de l'ordre de $0.5 \mu L \cdot min^{-1}$). Dans le cas d'injections chez l'homme, un soin particulier doit être pris pour se placer suffisamment loin des sillons cérébraux, ces derniers pouvant facilement induire du reflux dans l'espace sous-arachnoïdien et étant rapporté comme une des difficultés dans certains essais cliniques récents. Au-delà de la maîtrise de ces techniques expérimentales, l'objectif le plus important d'une injection CED à visée thérapeutique tumorale est de pouvoir délivrer l'agent thérapeutique sur l'ensemble du tissu tumoral (incluant des marges de diffusion de cellules cancéreuses dans le tissu sain périphérique) à des concentrations pertinentes thérapeutiquement et permettant un temps d'exposition suffisamment long de ces cellules malignes à l'agent délivré. Ce dernier objectif est actuellement une des raisons évoquées de l'échec des traitements chimiothérapeutiques actuels.

Classification WHO des tumeurs du système nerveux central [15]

	I	II	III	IV
Astrocytic tumours				
Subependymal giant cell astrocytoma	•			
Pilocytic astrocytoma	•			
Pilomyxoid astrocytoma		•		
Diffuse astrocytoma		•		
Pleomorphic xanthoastrocytoma		•		
Anaplastic astrocytoma			•	
Glioblastoma				•
Giant cell glioblastoma				•
Gliosarcoma				•
Oligodendroglial tumours				
Oligodendroglioma		•		
Anaplastic oligodendroglioma			•	
Oligoastrocytic tumours				
Oligoastrocytoma		•		
Anaplastic oligoastrocytoma			•	
Ependymal tumours				
Subependymoma	•			
Myxopapillary ependymoma	•			
Ependymoma		•		
Anaplastic ependymoma			•	
Choroid plexus tumours				
Choroid plexus papilloma	•			
Atypical choroid plexus papilloma		•		
Choroid plexus carcinoma			•	
Other neuroepithelial tumours				
Angiocentric glioma	•			
Chordoid glioma of the third ventricle		•		
Neuronal and mixed neuronal-glial tumours				
Gangliocytoma	•			
Ganglioglioma	•			
Anaplastic ganglioglioma			•	
Desmoplastic infantile astrocytoma and ganglioglioma	•			
Dysembryoplastic neuroepithelial tumour	•			

	I	II	III	IV
Central neurocytoma		•		
Extraventricular neurocytoma		•		
Cerebellar liponeurocytoma		•		
Paraganglioma of the spinal cord	•			
Papillary glioneuronal tumour	•			
Rosette-forming glioneuronal tumour of the fourth ventricle	•			
Pineal tumours				
Pineocytoma	•			
Pineal parenchymal tumour of intermediate differentiation		•	•	
Pineoblastoma				•
Papillary tumour of the pineal region		•	•	
Embryonal tumours				
Medulloblastoma				•
CNS primitive neuroectodermal tumour (PNET)				•
Atypical teratoid / rhabdoid tumour				•
Tumours of the cranial and paraspinal nerves				
Schwannoma	•			
Neurofibroma	•			
Perineurioma	•	•	•	
Malignant peripheral nerve sheath tumour (MPNST)		•	•	•
Meningeal tumours				
Meningioma	•			
Atypical meningioma		•		
Anaplastic / malignant meningioma			•	
Haemangiopericytoma		•		
Anaplastic haemangiopericytoma			•	
Haemangioblastoma	•			
Tumours of the sellar region				
Craniopharyngioma	•			
Granular cell tumour of the neurohypophysis	•			
Pituicytoma	•			
Spindle cell oncocytoma of the adenohypophysis	•			

Annexe 1.2 Solutions Analytiques de Smith *et al.* 2007 [92]

Cas Tumoral avec Cœur Nécrotique en Quasi-Stationnaire

- *Solutions stationnaires pour l'injection dans une tumeur avec cœur nécrotique (3)*

Le cœur nécrotique est décrit par un troisième domaine dans la tumeur, délimité par le rayon R_C . Les auteurs considèrent ici que ce domaine nécrotique ne possède pas de vascularisation fonctionnelle ($\gamma_C = 0$).

$$\left\{ \begin{array}{ll} p_C(r) = A + \frac{B}{r} & a \leq r \leq R_C \\ p_T(r) = p_{e_T} + \frac{C}{r} e^{-\frac{\gamma_T}{a}(r-R_T)} + \frac{D}{r} e^{\frac{\gamma_T}{a}(r-R_T)} & R_C \leq r \leq R_T \\ p_B(r) = p_{e_B} + \frac{E}{r} e^{-\frac{\gamma_B}{a}(r-R_T)} & R_T \leq r \end{array} \right.$$

Eq. 61

Avec γ_B et γ_T définis respectivement pour le tissu sain et tumoral non nécrotique. De la même façon, p_{e_B} et p_{e_T} sont les pressions effectives de Starling pour les deux tissus.

Les constantes A, B, C, D, E sont données par la résolution des équations de conditions aux limites et de conditions de continuité aux interfaces :

- Cavité d'infusion :

$$A + \frac{B}{a} = p_a$$

Eq. 62

- Continuité à l'interface cœur nécrotique (C) / tissu tumoral (T) de :

- La pression interstitielle

$$A + \frac{B}{R_C} = p_{e_T} + \frac{C}{R_C} e^{-\frac{\gamma_T}{a}(R_C-R_T)} + \frac{D}{R_C} e^{\frac{\gamma_T}{a}(R_C-R_T)}$$

Eq. 63

- La vitesse interstitielle

$$-\kappa_C \frac{B}{R_C^2} = -\kappa_T \frac{C}{R_C^2} e^{-\frac{\gamma_T}{a}(R_C-R_T)} - \kappa_T \frac{\gamma_T C}{a R_C} e^{-\frac{\gamma_T}{a}(R_C-R_T)} - \kappa_T \frac{D}{R_C^2} e^{\frac{\gamma_T}{a}(R_C-R_T)} + \kappa_T \frac{\gamma_T D}{a R_C} e^{\frac{\gamma_T}{a}(R_C-R_T)}$$

Eq. 64

- Continuité à l'interface tissu tumoral (T) / tissu sain (B) de :

- La pression interstitielle

$$p_{e_T} + \frac{C}{R_T} + \frac{D}{R_T} = p_{e_B} + \frac{E}{R_T}$$

Eq. 65

- La vitesse interstitielle

$$-\kappa_T \frac{C}{R_T^2} - \kappa_T \frac{\gamma_T C}{a R_T} - \kappa_T \frac{D}{R_T^2} + \kappa_T \frac{\gamma_T D}{a R_T} = -\kappa_B \frac{E}{R_T^2} - \kappa_B \frac{\gamma_B E}{a R_T}$$

Eq. 66

Le calcul analytique conduit aux formules suivantes :

$$A = \frac{1}{R_C - a} \left(C e^{-\frac{\gamma_T}{a}(R_C - R_T)} + D e^{\frac{\gamma_T}{a}(R_C - R_T)} \right)$$

Eq. 67

$$B = a(p_a - A)$$

Eq. 68

$$C = E + (p_{e_B} - p_{e_T}) R_T - D$$

Eq. 69

$$D = \frac{(E + (p_{e_B} - p_{e_T}) R_T) \left(1 + \frac{R_C \gamma_T}{a} + \frac{\kappa_C / \kappa_T a}{R_C - a} \right) - \frac{\kappa_C}{\kappa_T} a p_a e^{\frac{\gamma_T}{a}(R_C - R_T)}}{1 + 2 \frac{R_C \gamma_T}{a} + \frac{\kappa_C / \kappa_T a}{R_C - a} - \left(1 + \frac{\kappa_C / \kappa_T a}{R_C - a} \right) e^{2 \frac{\gamma_T}{a}(R_C - R_T)}}$$

Eq. 70

$$E = \frac{\left(1 + \frac{R_T \gamma_T}{a} \right) (p_{e_B} - p_{e_T}) R_T}{\frac{\kappa_B}{\kappa_T} \left(1 + \frac{R_T \gamma_B}{a} \right) - \left(1 + \frac{R_T \gamma_T}{a} \right)}$$

Eq. 71

2. Quantifications par IRM d'injections CED dans un fantôme de tissu cérébral

Résumé

Nous avons étudié ici la distribution *in vitro* d'un agent de contraste IRM (Gd-DOTA, diamètre approximatif 1 nm) administré par CED dans un fantôme de tissu cérébral (gel d'agarose faiblement concentré). Le choix de ce type de fantôme inerte, homogène et isotrope résulte du fait que les relations entre paramètres d'injection et distributions expérimentales observées sont nécessairement simplifiées, et dans l'état actuel des connaissances de la CED, ce type d'approche est nécessaire en complément de données *in vivo* résultant de mécanismes plus complexes. Afin d'évaluer de façon non invasive la distribution de l'agent de contraste dans le gel pendant l'injection (et possiblement en post-injection), nous avons développé en collaboration un protocole d'imagerie par RMN permettant un suivi temporel du transport de l'agent de contraste dans le gel, avec une séquence d'imagerie spin-écho pondérée T_1 . Les paramètres d'acquisition ont été optimisés au premier ordre afin d'adapter la sensibilité de mesure à la plage de concentration d'injection pour des paramètres du gel donnés et ainsi que pour mesurer quantitativement les concentrations d'agents de contraste dans le milieu. Nous avons validé cette méthodologie de mesure sur des injections de 20 μL de Gd-DOTA à trois débits d'injection 0.3, 0.5 et 2.5 $\mu\text{L} \cdot \text{min}^{-1}$ avec un suivi volumique toutes les cinq minutes sur toute la durée de l'injection (sauf à 2.5 $\mu\text{L} \cdot \text{min}^{-1}$ durant seulement 8 minutes). Un modèle numérique a été développé afin de corrélérer les résultats expérimentaux avec des calculs d'hydrodynamique et de transport dans le gel décrit comme un milieu poreux rigide, homogène et isotrope. Le transport transitoire en convection-diffusion résolu pour un écoulement laminaire permanent permet ainsi une comparaison avec les données expérimentales en termes de volume de distribution à 5 % et de profils de concentration. Avec la procédure d'estimation des paramètres réalisée ici, nous obtenons une sur-estimation du volume de distribution avec le modèle prédictif. Plusieurs hypothèses sont formulées pour expliquer ces écarts. Les développements menés ici, autant expérimentaux que numériques, fournissent des premiers éléments de suivi *in situ* associés à des outils prédictifs qui restent à raffiner.

Un extended abstract a été soumis à l'ASME 2010, cf. fin de document.

2.1 Matériels et méthodes expérimentales

2.1.1 Choix et préparation du gel

Nous avons choisi ici de réaliser des injections CED dans des gels agarose faiblement concentrés (0.6 % (m/v)) d'après les travaux de Chen *et al.* 2004 [48]. Les gels utilisés dans toute l'étude sont préparés de la façon suivante : 0.6 g d'agarose en poudre est utilisé pour 100 mL de solution finale préparée. 0.6 g de poudre d'agarose (Agarose D5 – DNA Grade - *Euromedex*) est pesé avec une balance de précision puis mélangé à 100 mL de solution saline (chlorure de sodium à 0.9%, *Vétoflex*) dans un bécher. La solution est chauffée autour de 100°C quelques minutes où la dissolution complète de la poudre est observée. L'évaporation pendant le chauffage est évitée en couvrant le bécher de papier aluminium. La solution se refroidit ensuite à température ambiante jusqu'à environ 50°C où elle est versée dans les récipients finaux puis se gélifie à 36°C lors du retour à température ambiante. La solution pendant et après le chauffage est homogénéisée avec un agitateur magnétique. Les gels sont finalement stockés au réfrigérateur à 5°C jusqu'à utilisation, typiquement 24h plus tard. Le protocole expérimental est détaillé dans l'annexe « Protocole préparation du gel agarose ». Les échantillons sont des contenants cylindriques en verre avec un culot sphérique au fond, *cf.* Figure 45 (B). Les dimensions du cylindre sont : diamètre 11 mm et hauteur totale de 75 mm dont 5 mm de culot. Le volume typique de gel agarose coulé était 5 à 6 mL.

2.1.2 Protocole CED

Dans cette étude, nous avons étudié un paramètre simple d'injection : le débit d'injection de la pompe. Basé sur les débits usuels de la littérature de la CED (Morrison *et al.* 1994 [6]), nous avons utilisé trois débits : 0.3, 0.5 et 2.5 $\mu\text{L} \cdot \text{min}^{-1}$; 0.5 $\mu\text{L} \cdot \text{min}^{-1}$ étant le débit nominal choisi sur la base d'une probabilité d'apparition de reflux minimale (Morrison *et al.* 1999 [7]). Le volume d'injection choisi est de 20 μL . Trois à quatre gels par groupe (débit) ont été considérés dans cette étude. Rousseau *et al.* 2007 [112] trouvaient *in vivo* des volumes de distribution typiques de l'ordre de 70 – 80 μL pour ce volume d'injection, soit un diamètre équivalent sphérique de l'ordre de 5.1 – 5.4 mm pour fixer les idées. Pour les gels d'agarose, on s'attend à des volumes du même ordre de grandeur, aux différences près de porosité effective entre le gel et les tissus cérébraux (striatum sain ou tumoral dans l'étude citée).

2.1.2.1 Préparation des solutions d'injection

La solution d'injection usuelle (notée « Gd-DOTA » ci-dessus ou « Gd » dans la suite du document) est préparée à partir de Gd-DOTA (Dotarem) concentré à 0.5 M. Une dilution à 1 mM est faite dans un volume final de 1 L. Le choix de cette concentration d'injection est expliqué dans la section 2.1.3.2, p. 82 en rapport avec les paramètres d'acquisitions IRM. Toutes les dilutions sont faites avec du sérum physiologique (eau – NaCl 0.9%). Les solutions sont préparées la veille de la période de mesures IRM, puis sont stockées au réfrigérateur à 5°C jusque-là.

2.1.2.2 Dispositif expérimental

Les mesures IRM (aimant Brucker 4.7 T) ont été faites au Grenoble Institut des Neurosciences (GIN) en collaboration avec Hana Lahrech et Franck Mauconduit.

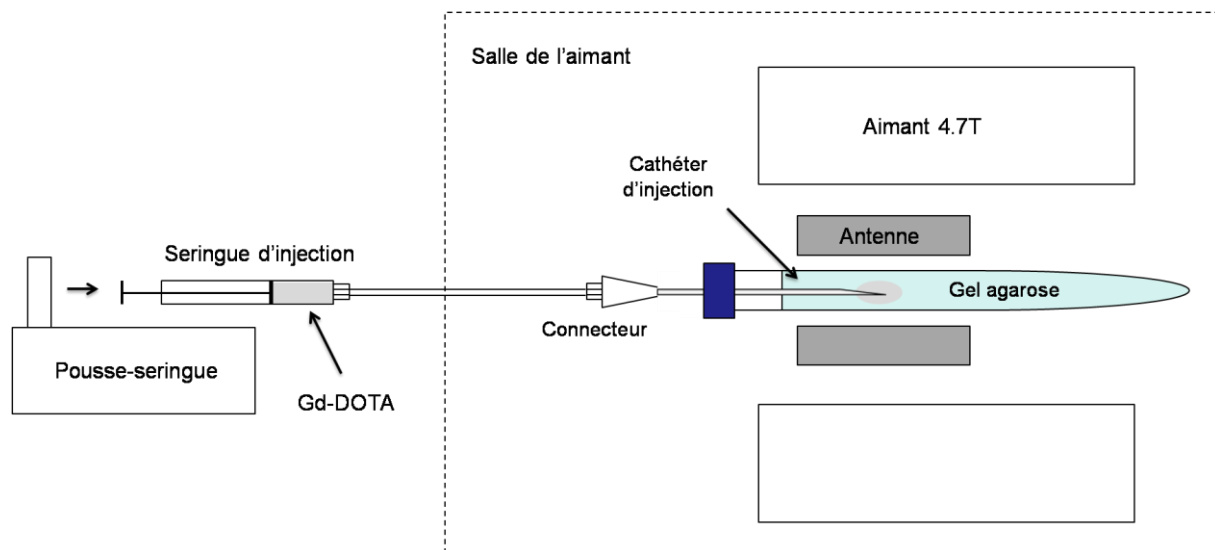


Figure 44: Schéma du dispositif expérimental de mesure IRM. Après insertion du cathéter dans le gel, ce dernier est placé dans l'aimant sous l'antenne de surface. Le cathéter est relié à un prolongateur qui est connecté en dehors de l'aimant à une seringue Hamilton TLLX 250 μ L remplie de la solution à injecter. Le système hydraulique complet est flushé avant toute injection. Des précautions sont prises pour contrôler l'insertion du cathéter dans le gel afin de minimiser les risques de reflux. Les connections hydrauliques sont de type de Luer. La température de la pièce extérieure est 25°C et la salle de l'aimant est maintenue à 22°C.

Le pousse-seringue utilisé ici est une pompe KDS 310 qui assure l'injection du liquide au débit demandé. La seringue d'injection, Hamilton 1725N TLLX de capacité 250 μ L est ajustée sur cette pompe. Elle est connectée à un prolongateur PE 50 (Portex Fine-Bore Polyéthylène, OD = 0.96 mm et ID = 0.58 mm, *Smiths*) qui permet d'assurer la jonction hydraulique entre la pièce de contrôle et le gel dans l'aimant. Le prolongateur est connecté au cathéter d'injection. Le cathéter utilisé ici (Intraflon 22G Catheter I.V. court) a un diamètre externe de 0,8 mm et un diamètre interne de 0,5 mm. Il est en plastique transparent (PTFE). Une étude préliminaire avec un colorant optique (bleu patente V 0,025 %) a montré qu'il était nécessaire de biseauter le cathéter pour avoir une insertion puis une injection correcte dans le gel. Notamment, nous avons pu observer visuellement le retardement de la sortie du colorant dans le gel dû à l'occlusion de gel dans le lumen du cathéter. Ce problème technique a été résolu en biseautant avec précaution le cathéter avec un scalpel sur une longueur de 2 mm (angle d'environ 20°). Ce même cathéter a servi pour l'ensemble de l'étude CED, cf. Figure 45 (A) ci-dessous.

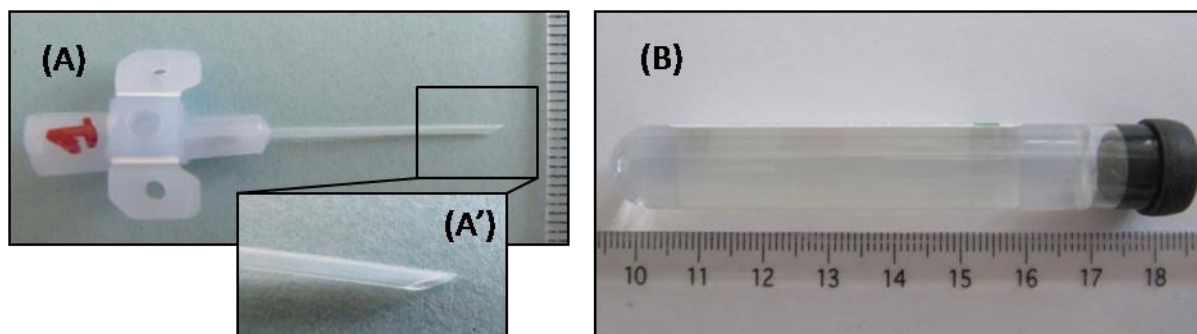


Figure 45: Photo du cathéter (A) avec un zoom sur l'extrémité (A'). L'échelle est en mm. (B) Photo du tube contenant le gel.

La mise en place de ce dispositif a nécessité également d'optimiser l'insertion du cathéter dans le gel. En effet, une insertion non contrôlée conduit à l'apparition de reflux (étude préliminaire avec colorant optique, non illustré) et limite fortement l'analyse de l'influence des paramètres d'injection CED sur la distribution et le reflux de l'agent. Par ailleurs, il n'était pas possible ici d'utiliser un cadre stéréotaxique comme habituellement lors des études *in vivo* pour déplacer le cathéter avec des vis micrométriques dans les directions X, Y, Z autour du point d'insertion. La solution trouvée ici a consisté à marquer le tube en verre à la hauteur d'insertion souhaitée par rapport à la surface du gel, 10 mm ici. Pour contrôler l'insertion, nous avons pré-percé le bouchon caoutchouc du gel. Ces bouchons sont suffisamment souples pour permettre de faire glisser manuellement le cathéter lors de l'insertion, mais présentent également suffisamment de frottement pour maintenir le cathéter en place une fois celui positionné à la hauteur souhaitée dans le gel. La procédure complète telle qu'appliquée dans notre étude est explicitée ci-dessous. Tout d'abord, le système hydraulique complet est chargé avec la solution injectée. Un soin particulier est appliqué pendant toute la procédure pour éviter la formation de bulles d'air dans la seringue, le prolongateur ou le cathéter. Le cathéter est passé initialement dans le bouchon caoutchouc. Un léger flush est effectué avec la pompe en mode manuel pour assurer une bonne circulation à la sortie du cathéter ; notamment entre deux gels successifs en cas d'occlusion. La goutte générée à la sortie du cathéter est absorbée avec une serviette. La pompe est activée en débit usuel pour faire arriver le liquide jusqu'à remplir toute la longueur du biseau du cathéter. Ce dernier est à peine séché en surface avec une serviette. Le {cathéter + bouchon caoutchouc} est pluggé sur le tube contenant le gel. On vérifie l'orientation du biseau (pointe vers le centre du gel – côté droit de l'IRM). Le bouchon est dégagé légèrement côté opposé à la pointe du biseau afin de compenser la torsion du cathéter lors de l'insertion ; cela assure le centrage du cathéter dans le tube. Le cathéter est poussé manuellement au niveau de sa connexion Luer jusqu'à atteindre 10 mm sous la surface du gel. L'insertion est faite en dehors de l'aimant, manuellement et avec précaution, sur une durée de l'ordre de 1 à 2 secondes. Pendant la phase d'insertion et jusqu'à la phase de placement dans l'antenne de l'aimant, le gel est gardé en position horizontale et on prend soin de rester à la même hauteur que la seringue d'injection afin de ne pas créer une pression hydrostatique qui ferait sortir du liquide ou rentrer de l'air dans le cathéter. Le tube est ensuite placé dans le champ de vue de l'antenne de surface de sorte à ce que l'extrémité du cathéter dans le gel soit située au centre de l'antenne. L'injection est démarrée environ 15 min après insertion ; temps moyen pour shimmer l'échantillon, faire l'acquisition de repérage puis lancer le premier scan d'imagerie. D'une journée à

l'autre ou lorsque que l'on change de solution d'injection, tout le système hydraulique est rincé au moins trois fois.

2.1.3 Quantifications par imagerie RMN du Gd-DOTA

2.1.3.1 Principe des quantifications

La méthode d'imagerie par RMN que nous avons choisie ici pour quantifier la distribution CED du Gd-DOTA est une séquence de type spin-écho, sur la base des travaux de Chen *et al.* 2008 [113]. Le principe est le suivant : le milieu dans lequel est injecté l'agent de contraste possède des propriétés magnétiques propres que l'on caractérise en RMN par un temps de relaxation longitudinal T_1 et un temps de relaxation transverse T_2 , qui traduisent les mécanismes de relaxation de l'aimantation des spins des molécules d'eau présentes dans le milieu. Ces temps de relaxation dépendent de la composition du milieu (tissu) et du champ magnétique de l'aimant utilisé. Lorsque l'agent de contraste, ici le gadolinium, est introduit dans le milieu, celui-ci modifie ces valeurs selon :

$$\Delta R_1 \triangleq \frac{1}{T_1} - \frac{1}{T_{10}} = r_1[Gd]$$

Eq. 72

$$\Delta R_2 \triangleq \frac{1}{T_2} - \frac{1}{T_{20}} = r_2[Gd]$$

Eq. 73

Avec T_{10} et T_{20} les valeurs de temps relaxation sans agent de contraste ; et r_1 et r_2 les relaxivités longitudinale et transverse de l'agent de contraste dans le milieu, au champ magnétique considéré. L'intensité du signal pour une séquence d'imagerie IRM Spin-Echo (SE) conventionnelle s'écrit sous la forme :

$$S = S_0 \left(1 - e^{-\frac{TR}{T_1}} \right) e^{-\frac{TE}{T_2}}$$

Eq. 74

Avec TR (ms) le temps de répétition et TE (ms) le temps d'écho de la séquence.

Dans le cas où le milieu imagé contient de l'agent de contraste, en combinant les équations Eq. 72, Eq. 73 et Eq. 74, le signal mesuré s'écrit alors :

$$S(Gd) = S_0 \left(1 - e^{-TR \left(\frac{1}{T_{10}} + r_1[Gd] \right)} \right) e^{-TE \left(\frac{1}{T_{20}} + r_2[Gd] \right)}$$

Eq. 75

Et l'augmentation de signal entre une imagerie du milieu sans agent de contraste ($S(0)$) puis avec agent contraste ($S(Gd)$) s'écrit :

$$\frac{S(Gd)}{S(0)} = \frac{S_0 \left(1 - e^{-TR \left(\frac{1}{T_{10}} + r_1[Gd] \right)} \right) e^{-TE \left(\frac{1}{T_{20}} + r_2[Gd] \right)}}{S_0 \left(1 - e^{-\frac{TR}{T_{10}}} \right) e^{-\frac{TE}{T_{20}}}}$$

$$= \frac{\left(1 - e^{-TR\left(\frac{1}{T_{10}} + r_1[Gd]\right)}\right) e^{-TE r_2[Gd]}}{\left(1 - e^{-\frac{TR}{T_{10}}}\right)}$$

Eq. 76

En faisant apparaître plus clairement la concentration en Gd, il vient :

$$[Gd] = \frac{1}{r_1} \left[\frac{1}{TR} \ln \left(\frac{1}{1 - \frac{S(Gd)}{S(0)} \left(1 - e^{-\frac{TR}{T_{10}}}\right) e^{TE r_2 [Gd]}} \right) - \frac{1}{T_{10}} \right]$$

Eq. 77

Et sous l'hypothèse faite par Chen *et al.* 2008 [113] que le terme $e^{TE r_2 [Gd]} \approx 1$, on peut inverser l'équation Eq. 76 et obtenir une formulation explicite de la concentration en agent de contraste :

$$[Gd] \cong \frac{1}{r_1} \left[\frac{1}{TR} \ln \left(\frac{1}{1 - \frac{S(Gd)}{S(0)} \left(1 - e^{-\frac{TR}{T_{10}}}\right)} \right) - \frac{1}{T_{10}} \right]$$

Eq. 78

Cette formulation nécessite donc de connaître dans le gel imagé le temps de relaxation longitudinal sans agent de contraste T_{10} et la relaxivité de l'agent dans le milieu r_1 . Il est également nécessaire de faire une acquisition de référence du gel avant injection $S(0)$. Nous avons ici implémenté cette formulation pour reconstruire les cartes de concentrations de Gd-DOTA injecté dans le gel à différents instants pendant l'injection pour un débit donné.

2.1.3.2 Paramètres d'acquisition de l'imagerie spin-écho

2.1.3.2.1 Augmentation de contraste en fonction de la concentration d'injection, de TR et TE

Le signal RMN mesuré avec la séquence spin-écho dépend principalement de deux paramètres d'acquisitions : le temps de répétition TR et le temps d'écho TE (cf. Eq. 74). En présence de Gd, ce signal varie de façon non linéaire avec la concentration de gadolinium, (cf. Eq. 75). Ici, on cherche à évaluer quels sont les meilleurs paramètres d'acquisition (TR, TE) et quelle concentration d'injection choisir étant donné l'allure du signal RMN. On s'intéresse pour cela au rapport $S(Gd)/S(0)$ en fonction de ces paramètres (cf. Eq. 76), et non pas au signal spin-écho $S(Gd)/S_0$ en lui-même puisque le calcul de la concentration $[Gd]$ via Eq. 78 dépend directement de ce rapport. La Figure 46 ci-dessous représente l'évolution de $S(Gd)/S(0)$ en fonction de la concentration en gadolinium selon Eq. 76 à partir de valeurs estimées de $(T_{10}, T_{20}, r_1, r_2)$ pour les gels utilisés ici.

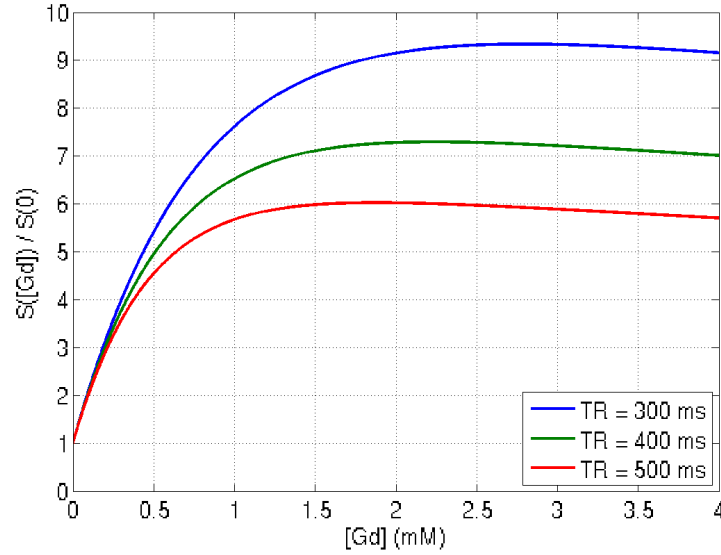


Figure 46: Evolution du rapport « signal avec Gd / signal sans Gd » en fonction de la concentration [Gd-DOTA] pour différents temps de répétition TR (cf. Eq. 76). Tracés pour les valeurs : $TE = 8 \text{ ms}$, $T_{10} = 2.996 \text{ s}$, $r_1 = 4.29 \text{ mM}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$ et $r_2 = 4.10 \text{ mM}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$. Ces valeurs sont soit déterminées expérimentalement (cf. partie 2.1.3.3, p. 89) soit estimées à partir de données bibliographiques (Guerbet®).

D'après la Figure 46, $S(Gd)/S(0)$ varie non linéairement en fonction de la concentration $[Gd]$ et présente un maxima à la concentration que l'on qualifie de concentration critique $[Gd]_{crit}$ (cf. Eq. 79). Cette concentration critique aurait été la même si on avait représenté ci-dessus la courbe $S(Gd) = f([Gd])$. Au-delà de cette concentration, le signal $S(Gd)$ n'est plus bijectif – pour un signal spin-écho mesuré correspond deux valeurs de concentration $[Gd]$. La concentration d'injection en Gd-DOTA doit donc être choisie tout d'abord pour se placer dans une plage de signal où les relations $S(Gd)$ et $S(Gd)/S(0) = f([Gd])$ sont bijectives. La concentration critique $[Gd]_{crit}$ par le calcul vaut :

$$\begin{aligned} \frac{d}{d[Gd]} \left(\frac{S(Gd)}{S_0} \right) = 0 &\Leftrightarrow \frac{d}{d[Gd]} \left(\frac{S(Gd)}{S(0)} \right) = 0 \\ \Leftrightarrow [Gd]_{crit} &= \frac{1}{r_1} \left[\frac{1}{TR} \ln \left(1 + \frac{r_1 TR}{r_2 TE} \right) - \frac{1}{T_{10}} \right] \end{aligned}$$

Eq. 79

Et la valeur du rapport $S(Gd)/S(0)|_{crit}$ associé à cette concentration est obtenue à partir de cette concentration critique injectée dans l'équation Eq. 76. On note qu'un TR plus faible (300 ms) réhausse la courbe par rapport à un TR moyen (400 ms) et inversement. La concentration critique et la valeur de $S(Gd)/S(0)|_{crit}$ sont plus élevées pour les faibles TR . On peut également définir la sensibilité de la mesure par la pente à l'origine de ces courbes :

$$\text{Sensibilité} = \left. \frac{d}{d[Gd]} \left(\frac{S(Gd)}{S(0)} \right) \right|_{[Gd]=0} = \frac{r_1 TR}{(e^{TR/T_{10}} - 1)} - r_2 TE$$

Eq. 80

Nous représentons sur la Figure 47 ci-dessous l'évolution de ces critères d'optimisation d'acquisition en fonction du temps de répétition et du temps écho à partir des valeurs estimées T_{10} , T_{20} , r_1 , r_2 .

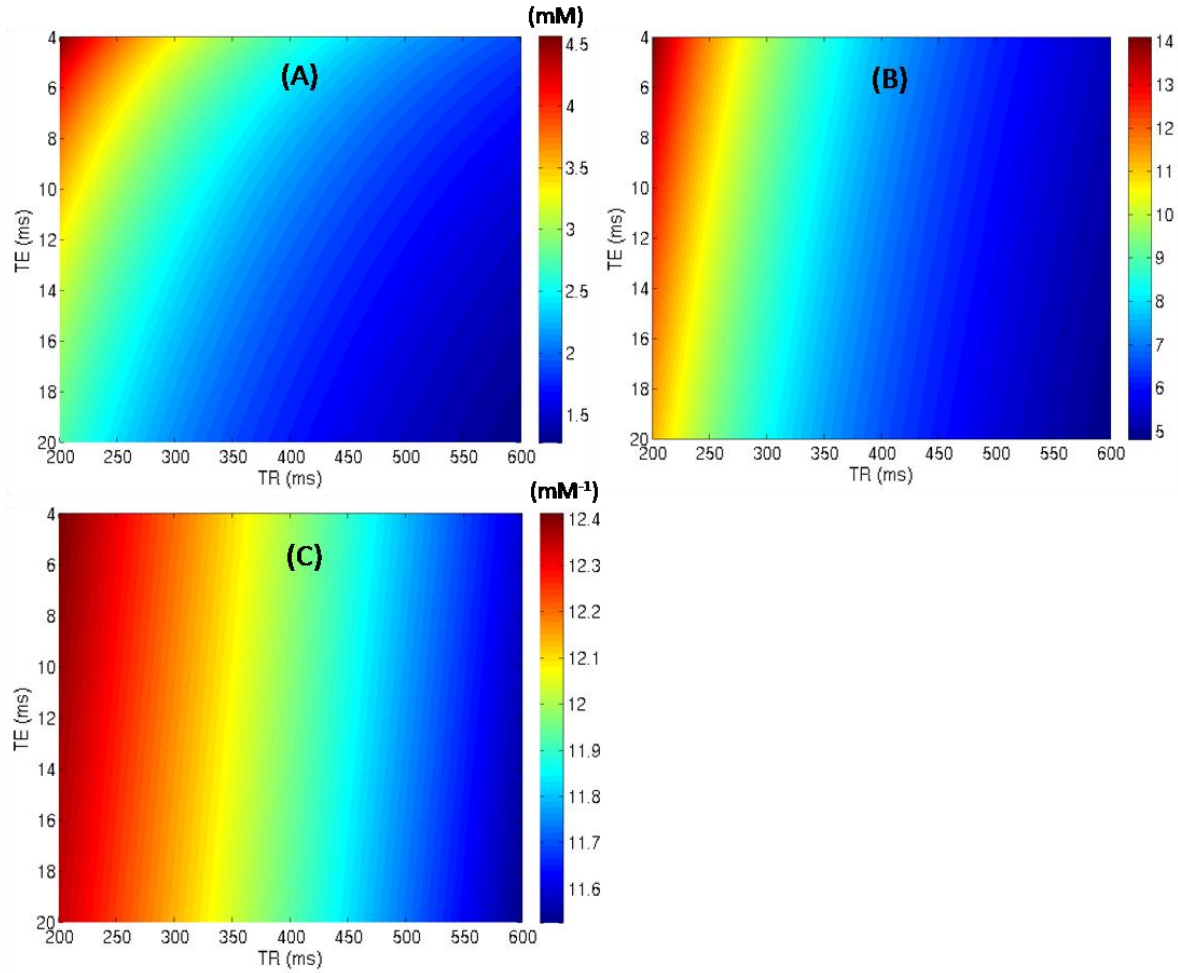


Figure 47: Cartes représentant selon différentes valeurs de TR (ms) et TE (ms) les variations de : (A) la concentration critique où le rapport $S(Gd)/S(0)$ est maximal. (B) la valeur de ce rapport à cette concentration critique (C) la sensibilité de la mesure évaluée comme la pente à l'origine de la courbe Figure 46. Tracés pour les valeurs : $TE = 8$ ms, $T_{10} = 2.996$ s, $T_{20} = 100$ ms, $r_1 = 4.29 \text{ mM}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$ et $r_2 = 4.10 \text{ mM}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$.

D'après Figure 47 (A), on note que la concentration critique est d'autant plus grande que TR et TE sont petits. Selon les panneaux (B) et (C), il est à la fois intéressant pour $S(Gd)/S(0)|_{crit}$ et pour la sensibilité de mesure de travailler à des TR et TE plus faibles. D'après (C), on note que la sensibilité varie cela dit relativement peu – entre 11.6 et 12.4 globalement. Les différences d'après (B) sont plus marquées sur les valeurs de $S(Gd)/S(0)|_{crit}$. De cette analyse, il est donc plus intéressant de faire les acquisitions avec des faibles TR et TE . De plus qu'un TR petit conduit à une durée de séquence plus courte, ce qui est avantageux puisque l'on suit ici l'injection de Gd-DOTA en régime transitoire et donc que la durée de la séquence doit rester faible devant le temps caractéristique du transport de l'agent (discuté à la section 2.1.3.2.2, p. 85). Cela dit, un compromis est à définir en terme de rapport signal sur bruit, car si le rapport $S(Gd)/S(0)$ est maximisé selon ces critères (TR, TE), la valeur de $S(0)$ dépend aussi du choix de ces valeurs, cf. Eq. 74. Plus particulièrement, en diminuant TR , on diminue $S(0)$ et donc le rapport signal sur bruit. Par ailleurs, il est important de noter que le maxima des courbes (Figure 46) puis décroissance est lié à la prise en compte du T_{20}

et r_2 dans l'équation Eq. 74, cf. Figure 48. En effet, si on néglige cette contribution, $S(Gd) / S_0$ converge vers $1 / (1 - \exp(-TR/T_{10}))$ aux fortes concentrations.

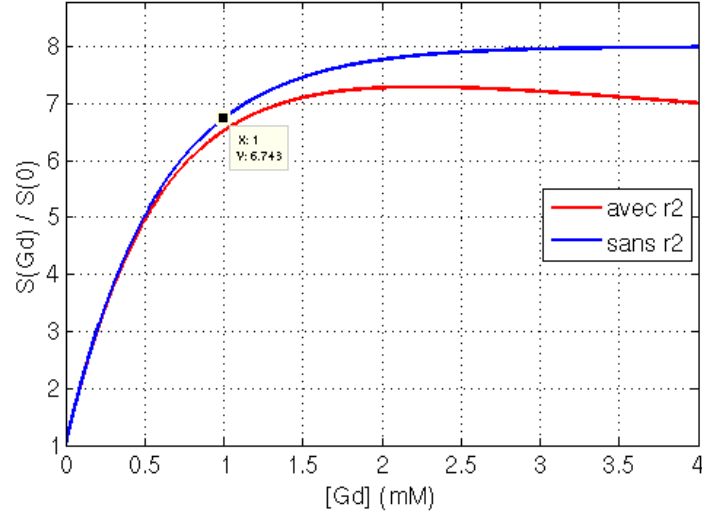


Figure 48: Evolution du rapport $S(Gd)/S(0)$ en fonction de la concentration en Gd-DOTA, selon que l'on tienne compte ou non de l'effet r_2 (cf. Eq. 76). Tracé pour les valeurs : $T_{10} = 2.996 \text{ s}$, $r_1 = 4.29 \text{ mM}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$, $T_{20} = 100 \text{ ms}$, $r_2 = 4.10 \text{ mM}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$, $TE = 8 \text{ ms}$, $TR = 400 \text{ ms}$. Les deux courbes ont un comportement très similaire sur la plage de concentration 0 – 1 mM.

Avec les valeurs numériques utilisées ci-dessus, la concentration critique est environ 2.25 mM . On observe une nette différence de rapport $S(Gd)/S(0)$ à cette concentration avec ou sans la prise en compte de l'effet r_2 . Or en l'occurrence, le calcul de la concentration $[Gd]$ par l'équation Eq. 78 suppose de négliger cet effet. Il est donc nécessaire de se placer à une concentration d'injection qui soit assez inférieure devant la concentration critique pour espérer calculer avec une bonne approximation des concentrations qui correspondent avec l'évolution réelle du signal dans le gel.

Dans toute l'étude d'imagerie, nous avons choisi les paramètres suivants : concentration d'injection : $C_0 = 1 \text{ mM}$, $TR = 400 \text{ ms}$, $TE = 8 \text{ ms}$. Comme nous l'avons évoqué ci-dessus, le choix du temps de répétition TR doit correspondre aussi aux choix de résolution spatiale et de résolution temporelle de l'acquisition, notamment pour observer sur une durée suffisamment courte la distribution transitoire du Gd-DOTA dans le gel.

2.1.3.2.2 Résolution spatiale et résolution temporelle

Afin de décrire au mieux la distribution du traceur dans le gel pendant l'injection CED, l'idéal serait d'avoir une résolution spatiale aussi faible que possible, et une durée d'acquisition aussi petite que possible devant le temps caractéristique de transport du traceur dans un voxel d'imagerie ; ceci avec un rapport signal sur bruit le meilleur possible. Nous allons voir que la résolution temporelle minimale d'imagerie dépend du débit d'injection ainsi que la porosité effective du gel. Le chronogramme ci-dessous illustre le déroulement de l'imagerie par rapport à la durée de l'injection dans notre cas (infusion à débit fixé).

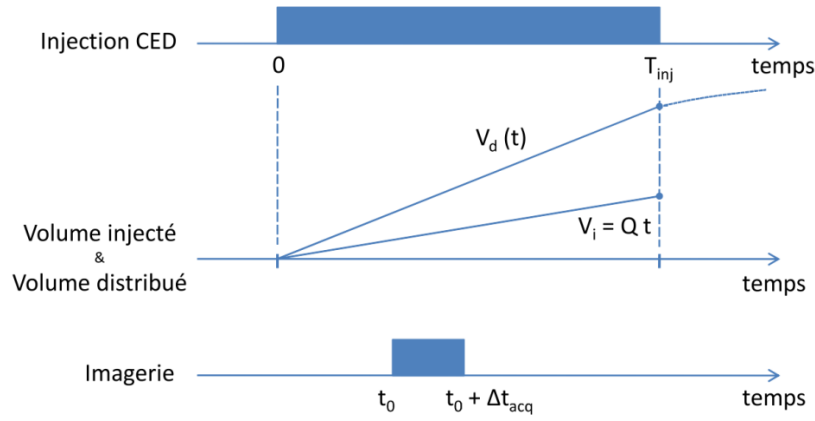


Figure 49: Chronogramme d'une injection CED se déroulant pendant un temps T_{inj} . Le volume injecté V_i croît linéairement en fonction du temps pour une injection à débit imposé. Lors d'une séquence d'imagerie, un certain temps d'acquisition Δt_{acq} est nécessaire pour imager le gel dans la région où le traceur se distribue. Ce temps doit être suffisamment petit devant le temps caractéristique du transport du traceur pour éviter les artéfacts de mouvement.

Nous avons estimé ici à partir d'un modèle analytique simple une estimation de la durée d'acquisition maximale de la séquence étant donné la résolution spatiale choisie et le débit d'injection imposé dans le cathéter. La Figure 50 ci-dessous illustre comment le choix de la résolution spatiale pour un débit d'injection donné détermine cette durée d'acquisition maximale :

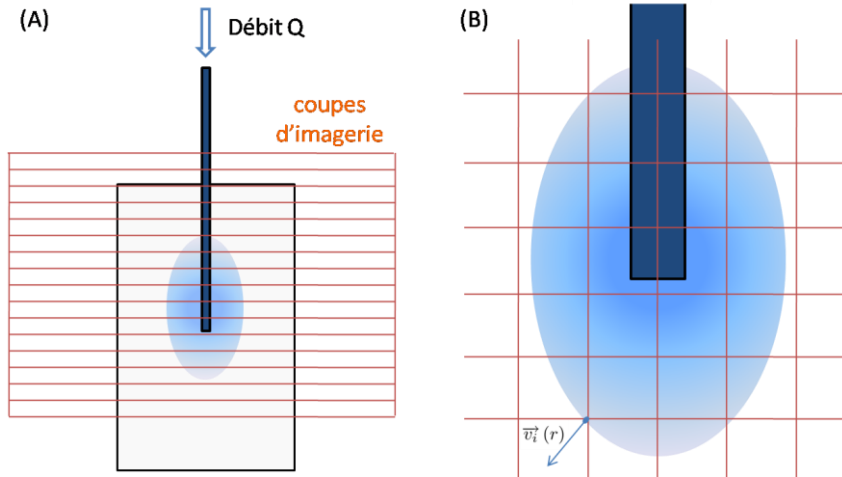


Figure 50: Schéma d'une injection de colorant par CED dans un gel pendant une séquence d'imagerie. (A) La grille d'imagerie est représentée en orange. (B) Zoom du schéma (A) près du cathéter pour montrer l'effet de volume partiel lors de l'acquisition. Le vecteur $\vec{v}_i(r)$ indique au point r la vitesse interstitielle du fluide injecté. Cette vitesse, directement proportionnelle au débit d'injection, mis en relation avec la taille des voxels permet d'estimer la résolution temporelle d'imagerie maximale que l'on peut se permettre d'avoir sans biaiser la mesure.

Sur la base du modèle analytique développé par Bassar 1992 [99], les grandeurs hydrodynamiques sont connues analytiquement dans une géométrie sphérique où l'aiguille est représentée par une cavité sphérique de rayon « a » et le débit est appliqué au travers de la surface poreuse de cette cavité (cf. section 1.5.1.1, p. 53). Le milieu d'injection est caractérisé entre autres par sa porosité effective ϕ . La vitesse interstitielle du fluide s'écrit alors en coordonnées radiales :

$$\vec{v}_i(r) = \frac{Q_0}{4\pi\phi r^2} \vec{e}_r \text{ pour } r \geq a$$

Eq. 81

Avec $Q_0(m^3.s^{-1})$ le débit volumique d'injection. Si on considère un traceur dont le transport s'effectue uniquement par convection (étalement par diffusion moléculaire négligée), alors celui-ci se déplace à la même vitesse que le fluide, *i.e.* $v_i(r)$, le front de propagation de l'espèce étant une fonction d'Heaviside. Dans ces conditions, on peut estimer simplement le rayon de distribution du traceur R_d à un instant t de l'injection en intégrant l'équation du mouvement :

$$R_d(t) = \left(a^3 + \frac{3Q_0 t}{4 \pi \phi} \right)^{\frac{1}{3}}$$

Eq. 82

Soit en considérant une variation dR de ce rayon pendant un intervalle de temps dt , c'est-à-dire la vitesse à laquelle avance le front de la distribution (on suppose ci-dessous que $a \ll R_d$) :

$$\frac{dR_d(t)}{dt} = \left(\frac{3Q_0}{4 \pi \phi} \right)^{\frac{1}{3}} \frac{1}{3 t^{2/3}}$$

Eq. 83

On estime alors le temps d'acquisition maximum selon le critère arbitraire suivant : la mesure est biaisée si pendant la durée de l'acquisition Δt_{acq} des coupes d'imagerie, les molécules de Gd-DOTA présentes à une intersection de voxels se voient déplacées de la taille d'un voxel (*cf.* Figure 50). On considère le cas le plus défavorable avec la taille dx d'un voxel (sous l'hypothèse d'un voxel cubique, ($dx = dy = dz$) et non pas sa diagonale $dx / \sqrt{3}$). Si pendant Δt_{acq} après t_0 , le fluide parcourt une distance radiale ΔR_d , on souhaite alors satisfaire la condition :

$$\Delta R_d \leq dx$$

Eq. 84

Et en prenant le cas d'égalité de cette condition, puis en inversant la relation, on trouve :

$$\Delta t_{acq}^{max} = 3 dx t_0^{2/3} \left(\frac{4 \pi \phi}{3 Q_0} \right)^{\frac{1}{3}}$$

Eq. 85

La fenêtre d'acquisition maximale Δt_{acq}^{max} selon ces critères est donc d'autant plus étroite que l'imagerie commence tôt après l'injection, que la taille des voxels est petite et que le débit d'injection est grand. La vitesse interstitielle dépendant de la porosité, plus le gel aura une porosité effective grande, plus la fenêtre d'acquisition maximale sera large. Des courbes paramétriques Δt_{acq}^{max} en fonction de l'instant d'acquisition après début d'injection t_0 sont représentées sur la Figure 51 ci-dessous avec pour paramètres le débit et la résolution spatiale d'imagerie.

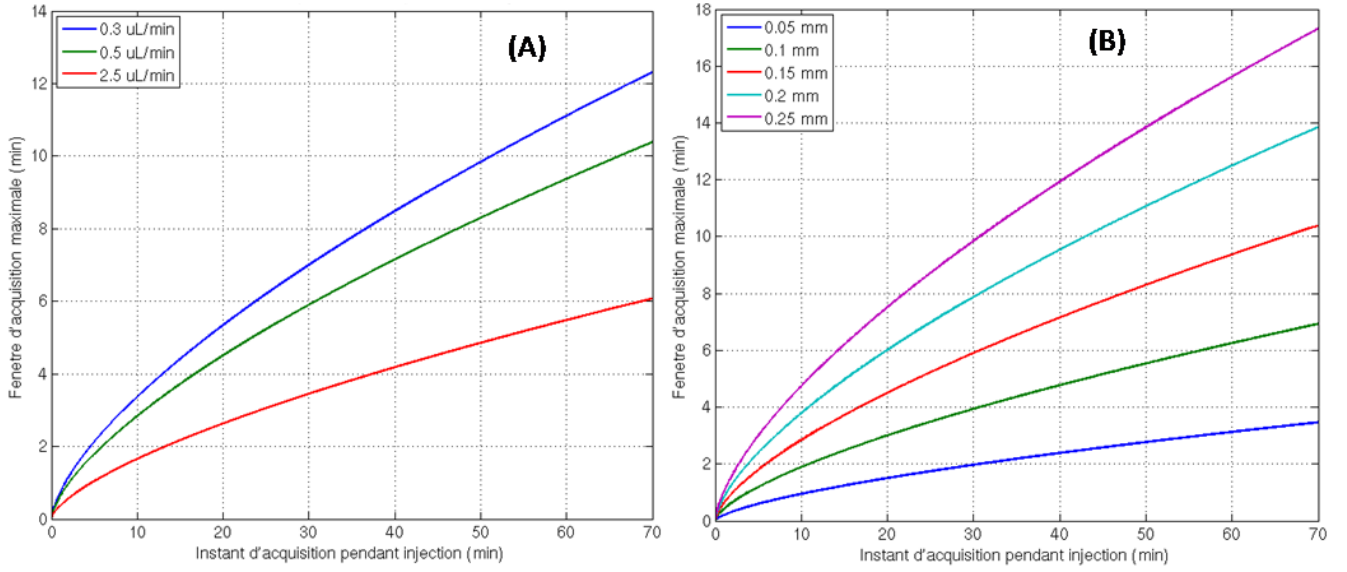


Figure 51: Courbes paramétriques de la fenêtre d'acquisition maximale Δt_{acq}^{max} en fonction de l'instant d'injection CED t_0 . (A) Selon le débit d'injection – 0.3, 0.5 et 2.5 $\mu L \cdot min^{-1}$ - avec une taille de voxel de 150 μm et une porosité effective du gel de 0.30 (B) Selon la résolution spatiale d'imagerie – 50, 100, 150, 200 et 250 μm – avec un débit d'injection de 0.5 $\mu L \cdot min^{-1}$ et une porosité effective du gel de 0.30.

Quelques valeurs numériques sont présentées dans le Tableau 4 ci-dessous :

$t_0(min)$	2	5	10	15	20	30	40
Δt_{acq}^{max}	58''	1' 47''	2' 50''	3' 43''	4' 30''	5' 54''	7' 09''

Tableau 4: Fenêtre maximale d'acquisition d'imagerie Δt_{acq}^{max} satisfaisant le critère $\Delta R_d \leq dx$ à différents instants t_0 d'injection CED. Calculs faits avec les paramètres suivants: $\phi = 0.30$, $Q_0 = 0.5 \mu L \cdot min^{-1}$ et $dx = 150 \mu m$.

Selon cette analyse, pour une fenêtre d'acquisition de 4 min et pour les débits d'injection de 0.3 et 0.5 $\mu L \cdot min^{-1}$, il serait raisonnable de ne démarrer le premier scan d'imagerie qu'à partir d'environ 15 min. Ici, nous avons souhaité faire un suivi d'imagerie toutes les 5 minutes pendant injection pour les gels injectés respectivement à 0.3 et 0.5 $\mu L \cdot min^{-1}$. Les paramètres d'imagerie retenus pour l'étude sont résumés dans le Tableau 5 ci-dessous.

Paramètre	Notation	Valeur
Concentration d'injection	C_0	1 mM
Taille de voxel transverse	$dx = dy$	11.1 mm / 74 pixels = 150 μm
Epaisseur de coupe	dz	20.8 mm / 16 coupes = 1.3 mm
Temps de répétition	TR	400 ms
Temps d'écho	TE	8 ms
Nombre de moyennages	N_{ave}	10
Temps d'acquisition par scan	T_{acq}	3' 44"

Tableau 5 : Résumé des paramètres d'imagerie de l'étude.

Une première acquisition $S(0)$ est faite avant injection puis une imagerie toutes les 5 minutes à partir de l'instant de début d'injection. Nous n'avons pas observé pour les débits d'injection 0.3 et 0.5 $\mu L \cdot min^{-1}$ d'artéfacts de mouvements à la sortie de l'aiguille pour des scans faits dès 5 min après début d'injection. Cela dit, pour chaque gel imagé pendant CED, à l'acquisition à $t = 0$ de l'injection, *i.e.* celle qui est lancée en même temps que le début de l'injection, on note un artéfact (signal hypointense) près de la sortie du cathéter. Ces scans sont exclus de l'analyse.

2.1.3.3 Mesures de calibrations

Comme nous l'avons vu à la section 2.1.3.1, p. 81, la quantification de la concentration de Gd-DOTA dans les gels pendant l'injection nécessite de connaître la relaxivité longitudinale de l'agent dans le milieu à 4.7 T et à la température considérée. Pour ce faire, nous avons réalisé des gels de calibrations à différentes concentrations en Gd-DOTA : 0, 0.1, 0.25, 0.5 et 1 mM. Ces gels également concentrés en agarose à 0.6 % (m/v), sont préparés de la même façon que les gels agarose CED (*cf.* section 2.1.1, p. 78). La seule différence réside dans l'ajout de Gd-DOTA dans les quantités souhaitées dans la solution saline avant l'ajout et le chauffage de l'agarose. Le temps de relaxation T_1 de chaque étalon est mesuré par IRM avec une séquence RMN spectroscopique de type « inversion – récupération ». Tout le signal provenant de l'échantillon est capté par l'antenne de surface. Une impulsion radiofréquence (RF) bascule l'aimantation des protons de l'échantillon de M_0 à $-M_0$. L'aimantation longitudinale se reconstruit ensuite selon le temps caractéristique T_1 . Si on ne fait aucune mesure après l'excitation RF, l'aimantation est libre de relaxer jusqu'au temps $t = TR$, où l'impulsion radiofréquence est répétée. Ici, le signal est échantillonné à différents temps en rebasculant l'aimantation M_z dans le plan transverse. A chaque fois que l'aimantation est basculée et le signal mesuré, il faut attendre la relaxation complète de l'aimantation c'est-à-dire la prochaine répétition pour poursuivre la mesure au prochain temps de récupération. Le temps de répétition TR est ajusté spécifiquement selon le T_1 que l'on s'attend à mesurer afin d'avoir un temps d'observation suffisamment grand pour que l'aimantation ait le temps de relaxer complètement entre deux répétitions. Pour chaque échantillon, on acquiert une série de mesures correspondant aux différents temps de récupération, ici 10 points. Ces points représentés en

module correspondent à une mono-exponentielle en fonction du temps. T_1 est ensuite obtenu en fittant ces points par :

$$M_z = M_0 \left(1 - \lambda e^{-t/T_1}\right)$$

Eq. 86

Avec M_0 et λ ajustés comme paramètres (fit idéal pour $\lambda = 2$). La (A) illustre l'allure des points de mesure et du fit associé pour le calcul du T_{10} . Pour chaque étalon, la mesure est faite trois fois successivement une fois l'échantillon placé dans l'aimant, permettant de calculer un T_1 moyen. Le Tableau 6 synthétise ces mesures. La relaxivité longitudinale r_1 est calculée en fittant linéairement la relation $\Delta R_1 = f([Gd])$ (cf. Eq. 72 et Figure 52).

[Gd] (mM)		0	0.1	0.25	0.5	1
T_1 (s)	m	2.983	1.271	0.700	0.395	0.218
	σ	0.010	0.005	0.002	0.002	0.002
$1/T_1$ (s ⁻¹)		0.335	0.787	1.429	2.532	4.587
$\Delta R_1 = 1/T_1 - 1/T_{10}$ (s ⁻¹)		0	0.452	1.093	2.196	4.252

Tableau 6: Valeurs des T_1 mesurés pour chaque concentration en Gd-DOTA dans les gels de calibration. $\Delta R_1 = f([Gd])$ et permet d'en déduire la valeur de la relaxivité longitudinale r_1 . m et σ sont respectivement la valeur moyenne et l'écart-type.

Le T_{10} est évalué ici à 2.983 s. Sur la moyenne des 3 acquisitions successives, cette mesure varie de 0.3 %. Pour 3 gels de référence différents ayant suivi les mêmes étapes et chronologie de préparation, la variabilité de T_{10} est d'environ 3 %. Le fit de calcul de la relaxivité r_1 est représenté Figure 52 (B).

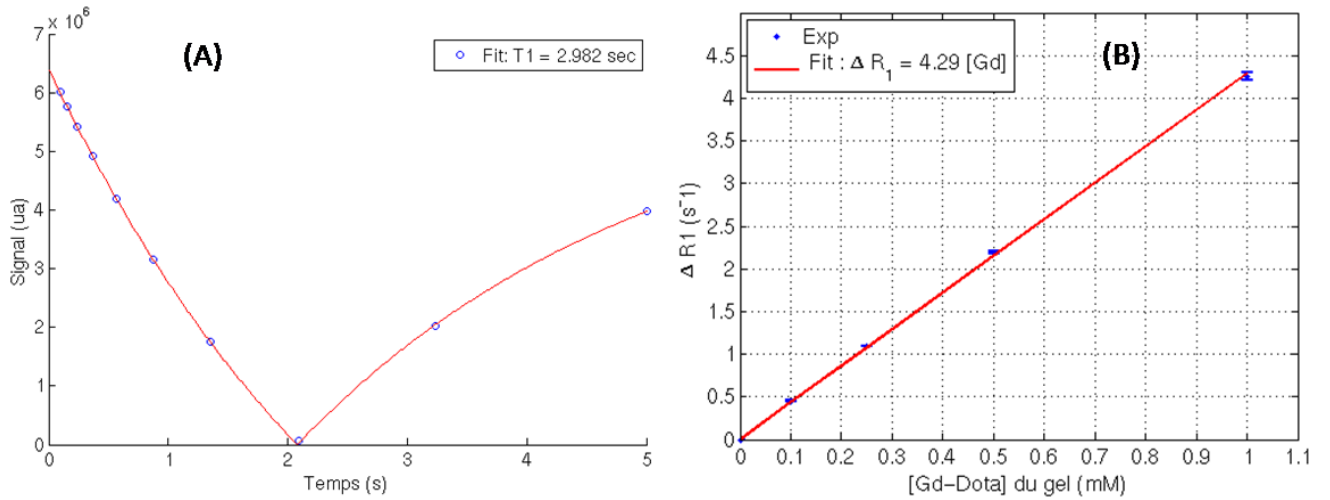


Figure 52: (A) Mesure du signal avec la séquence spectroscopique aux différents temps de récupération (o). La courbe rouge correspond au fit mono-exponentiel et permet d'en déduire la valeur de T_1 à partir du temps où l'aimantation s'annule. Pour ce fit, l'algorithme trouve un $\lambda = 2.01$, $M_0 = 6.4 \times 10^6$. (B) $\Delta R_1 = 1/T_1 - 1/T_{10}$ mesuré (bleu). La pente obtenue via le fit linéaire $\Delta R_1 = f([Gd])$ fournit la relaxivité longitudinale r_1 . On trouve ici $4.29 \text{ mM}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$. Les détails du fit sont présentés Tableau 7.

Etalon	Equation du fit	r_1 min	r_2 max	R_{corr}^2
Gels agarose 0.6 %	$\Delta R_1 = 4.29 [Gd]$	4.19	4.39	0.9994

Tableau 7: Valeurs du fit linéaire de $\Delta R_1 = f([Gd])$ (calcul Matlab, minimisation en moindres carrés, critère imposé $\Delta R_1 = 0$ pour $[Gd] = 0$). Les valeurs min et max de la pente de la courbe sont données pour un intervalle de confiance à 95%. Les écart-types de V_d en chaque point V_i ne sont pas pris en compte.

En résumé, nous avons mesuré avec les gels de calibrations une relaxivité longitudinale $r_1 = 4.29 \text{ mM}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$. Lors de la série expérimentale où les imageries des gels injectés CED ont été réalisées, nous avons mesuré sur les étalons $T_{10} = 2.996 \text{ s}$; valeur que nous conservons pour la suite au détriment de 2.983 s mesuré sur les gels de calibrations ci-dessus.

2.1.3.4 Reconstruction des cartes de concentration

Nous basons cette étude d'imagerie sur la validité de l'équation Eq. 78 pour reconstruire les cartes de concentration $[Gd]$. Cette équation fait apparaître le rapport $S(Gd)/S(0)$ et la Figure 53 ci-dessous représente la variation $[Gd]$ en fonction de ce rapport.

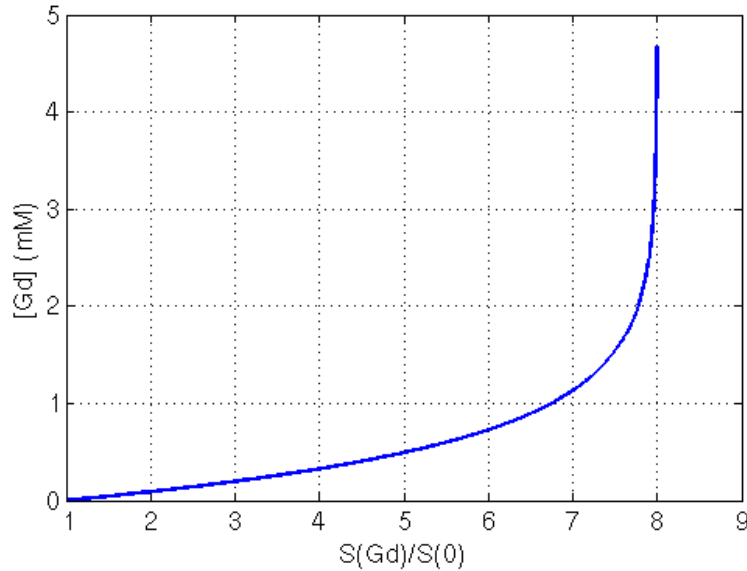


Figure 53: Courbe de concentration de Gd-DOTA en fonction du rapport $S(Gd)/S(0)$. Tracé pour les valeurs : $TR = 400 \text{ ms}$, $T_{10} = 2.996 \text{ s}$, $r_1 = 4.29 \text{ mM}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$. Cette courbe traduit l'inversion de l'équation Eq. 78 représentée à la Figure 46. Cette inversion n'est valable que lorsque le terme contenu dans le logarithme de l'équation Eq. 78 est positif, cf. Eq. 87 ci-dessous. Elle suppose également qu'on néglige le terme r_2 .

Il y a une asymptote verticale aux fortes valeurs de $S(Gd)/S(0)$ ce qui correspond au fait que l'équation Eq. 78 n'existe que si le terme contenu dans le logarithme est strictement positif, ce qui se traduit par la condition :

$$\frac{S(Gd)}{S(0)} \leq \frac{S(Gd)_{crit}}{S(0)} = \frac{1}{(1 - e^{-TR/T_{10}})}$$

Eq. 87

Ici, cette valeur critique est 8.00 pour $TR = 400 \text{ ms}$, $T_{10} = 2.996 \text{ s}$. Proche de cette valeur, une faible variation du rapport $S(Gd)/S(0)$ implique une grande variation de concentration calculée. Du point de vue de la reconstruction des cartes de concentrations, il faut tenir compte de la

présence de bruit dans les images spin-écho brutes. Si l'on calcule les cartes $S(Gd)/S(0)$, il existe une population de pixels dont la valeur est supérieure à cette valeur critique en raison du bruit ou bien de volume de partiel de certains pixels de l'image. Nous avons choisi d'attribuer une valeur nulle de concentration à ces pixels pour lesquels l'équation Eq. 78 n'est pas applicable. Ces pixels sont alors exclus de l'analyse des profils de concentration, de concentration moyenne dans un ROI ou du calcul du volume de distribution. De plus, il est légitime de se demander à quel point l'approximation que l'effet r_2 est négligeable ou pas sur la plage de concentration que nous avons choisie (cf. Figure 48). En l'occurrence ici, nous avons choisi d'injecter à 1 mM . A cette concentration, l'écart du rapport $S(Gd)/S(0)$ si l'on tient compte ou non de l'effet r_2 est de l'ordre de 3 %. Si dans le calcul des cartes de concentrations, on fixe comme seuil la valeur proposée au paragraphe ci-dessus - $S(Gd)/S(0) \text{ seuil} = 8$ - alors d'après la Figure 48, on autorise des valeurs de concentrations supérieures à 1 mM ce qui n'a pas de sens physique ici étant donné notre concentration d'injection. Nous choisissons donc finalement de limiter ce seuil à la valeur correspondante à 1 mM , soit $S(Gd)/S(0) \text{ seuil} = 6.743$.

2.1.3.4.1 Validité théorique

Nous évaluons ici de manière théorique, c'est-à-dire à partir de la formule analytique de calcul de $[Gd]$ (cf. Eq. 78), la sensibilité du calcul de $[Gd]$ aux incertitudes expérimentales sur r_1 et T_{10} ainsi qu'à la présence de bruit dans le signal mesuré. Cette analyse a motivé notre choix de faire un filtrage des cartes $S(0)$ avant reconstruction afin de réduire le bruit des cartes $[Gd]$ reconstruites tel que nous le développerons plus loin.

3.1.1.1.1 Sensibilité à r_1 et T_{10}

Nous avons évalué la sensibilité de la formule Eq. 78 aux paramètres T_{10} et r_1 afin d'estimer la précision théorique du calcul de $[Gd]$ à partir de la précision expérimentale de ces grandeurs. Les formulations analytiques aboutissent à deux expressions respectives pour l'incertitude liée à r_1 et celle liée à T_{10} . Elles ne sont pas explicitées ici, et pour des concentrations inférieures à 0.5 mM , si ces incertitudes se cumulent, l'incertitude totale sur $[Gd]$ liée à r_1 et T_{10} est de l'ordre de 10 % :

$$\frac{\Delta[Gd]}{[Gd]} = \left| \frac{\Delta[Gd]}{[Gd]} \right|_{r_1} + \left| \frac{\Delta[Gd]}{[Gd]} \right|_{T_{10}} \approx 10 \%$$

3.1.1.1.2 Précision de mesure sur $[Gd]$: analyse de propagation du bruit

Expérimentalement, les signaux $S(0)$ et $S(Gd)$ mesurés sur les cartes acquises sont bruités. Nous présentons ici une brève étude de la précision des cartes de concentrations reconstruites selon le niveau de bruit présent dans $S(0)$ et $S(Gd)$ sur la base d'une analyse de propagation d'erreur. Nous supposons pour cela que $S(0)$ et $S(Gd)$ sont deux variables aléatoires indépendantes caractérisées par leurs valeurs moyennes et leurs écart-types. $S(Gd)/S(0)$ et $[Gd]$ ont alors aussi une moyenne et un écart-type :

$$\begin{cases} S(0) \equiv \langle S(0) \rangle, \sigma_0 \\ S(Gd) \equiv \langle S(Gd) \rangle, \sigma_{Gd} \\ \tilde{S} \equiv \langle \tilde{S} \rangle, \sigma_{\tilde{S}} \\ [Gd] \equiv \langle [Gd] \rangle, \sigma_{[Gd]} \end{cases}$$

L'incertitude relative sur $S(Gd)/S(0)$ s'écrit :

$$\frac{\sigma_{\tilde{S}}}{\langle \tilde{S} \rangle} = \sqrt{\left(\frac{\sigma_0}{\langle S(0) \rangle}\right)^2 + \left(\frac{\sigma_{Gd}}{\langle S(Gd) \rangle}\right)^2}$$

Eq. 88

Puis en appliquant cette incertitude sur l'équation de calcul de $[Gd]$ (cf. Eq. 78), on obtient :

$$\sigma_{[Gd]} = \frac{\left(1 - e^{-TR/T_{10}}\right) \sigma_{\tilde{S}}}{r_1 TR \left[1 - \langle \tilde{S} \rangle \left(1 - e^{-TR/T_{10}}\right)\right]}$$

Eq. 89

Nous avons représenté l'évolution de ces précisions relatives en considérant que l'incertitude sur $S(0)$ est la même que pour $S(Gd)$: $\sigma_0 = \sigma_{Gd} = \sigma_{bruit}$. Nous avons estimé l'ordre de grandeur de σ_{bruit} et de $\langle S(0) \rangle$ sur un scan de référence d'un gel injecté en CED, pour des conditions d'acquisitions identiques à tous les gels CED (gain d'acquisition $RG = 101$). Plusieurs petits ROI de 85 pixels ont été faits dans différentes régions d'une coupe, et pour trois coupes différentes autour de la région centrale de l'antenne. Sur cette base, nous prenons les valeurs $\langle S(0) \rangle = 1.10^5$ et $\sigma_{bruit} = 1.10^4$, correspondant à un rapport signal sur bruit de l'ordre de 10 d'après ces mesures. La Figure 54 représente l'allure des incertitudes Eq. 88 et Eq. 89 pour trois valeurs distinctes de rapport signal sur bruit.

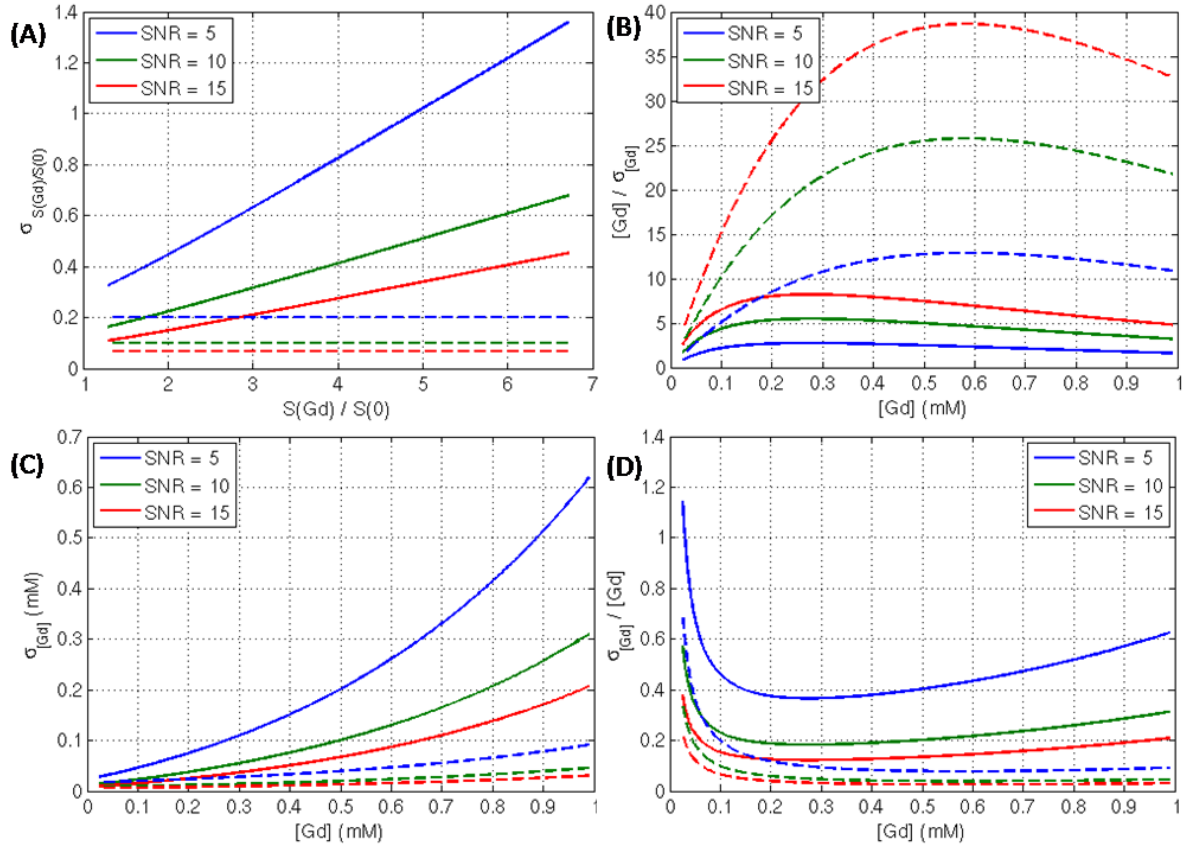


Figure 54: Courbes d'incertitude associées aux équations Eq. 88 et Eq. 89. En trait plein, on considère que $\sigma_0 = \sigma_{Gd} = \sigma_{\text{bruit}}$ et $\langle S(0) \rangle = 1.10^5$; $S(0)$ et $S(Gd)$ sont tous deux bruités. L'écart-type du bruit σ_{bruit} est varié de sorte à avoir un rapport signal sur bruit $\langle S(0) \rangle / \sigma_{\text{bruit}}$ valant respectivement 5, 10 et 15 pour les courbes en bleu vert et rouge ; 10 étant l'ordre de grandeur expérimental. En pointillé, on considère que $\sigma_0 = 0$ et que $\sigma_{Gd} = \sigma_{\text{bruit}}$, ce qui correspondrait au cas où le signal $S(0)$ serait filtré et où le signal $S(Gd)$ aurait le même écart-type de bruit que le signal $S(0)$ avant filtrage. (A) correspond à l'équation Eq. 88 : l'écart-type $\sigma_{\bar{S}}$ est tracé en fonction de $\bar{S}$. (B) rapport signal sur bruit en concentration $\langle [Gd] \rangle / \sigma_{[Gd]}$ en fonction de $\langle [Gd] \rangle$. (C) $\sigma_{[Gd]}$ en fonction de $\langle [Gd] \rangle$. (D) rapport $\sigma_{[Gd]} / \langle [Gd] \rangle$ en fonction de $\langle [Gd] \rangle$. La courbe verte correspond à l'écart-type typique que nous mesurons expérimentalement.

Pour le cas où $S(0)$ et $S(Gd)$ sont tous deux bruités, d'après la Figure 54 (A) (traits pleins), l'incertitude sur le rapport $S(Gd)/S(0)$ augmente en fonction de celui-ci. Selon le tracé (C), il en résulte en combinaison avec le calcul de $[Gd]$ que l'écart-type de concentration augmente en fonction de la concentration. Cela peut paraître surprenant sur la base que le signal spin-écho est plus fort lorsque la concentration tend vers 1 mM, mais la sensibilité du signal est la meilleure aux faibles concentrations comme l'indique le tracé (B) ci-dessus qui montre un « rapport signal sur bruit en concentration » maximal autour de 0.3 mM. Aux très faibles concentrations, le rapport $S(Gd)/S(0)$ est proche de 1 et l'écart-type de $S(Gd)/S(0)$ est alors faible ; le rapport signal sur bruit en concentration reste faible malgré tout à ces très faibles concentrations en raison de la faible sensibilité de mesure à ces valeurs. Globalement, pour l'écart-type expérimental du signal spin-écho brut – environ 10 – nous trouvons cf. Figure 54 (B) un rapport signal sur bruit en concentration de l'ordre de 5 – 6 pour des concentrations variant entre 0.1 et 0.6 mM. Toujours d'après la Figure 54, selon les courbes en pointillés correspondant au cas où seul $S(Gd)$ est bruité, une nette amélioration du rapport signal sur bruit en concentration est notée. Celui-ci vaut pour un SNR spin-écho de 10 une valeur maximale d'environ 25 aux concentrations de l'ordre de 0.6 mM

soit une augmentation du rapport signal sur bruit en concentration d'un facteur ~ 5 . Cela vient du fait que le terme $S(Gd)/S(0)$ est moins bruité dès lors et donc le bruit se propage moins via l'équation Eq. 78 que dans le cas où $S(0)$ est également bruité.

Cette analyse de propagation d'erreur nous montre donc que dans les conditions expérimentales où le SNR des cartes spin-écho brutes est de l'ordre de 10 et en tenant compte de la présence de bruit sur $S(0)$ et $S(Gd)$, la mesure de $[Gd]$ est la plus précise sur la plage de concentrations $0.1 - 0.6 \text{ mM}$. Nous mettons également en évidence que la réduction du bruit du scan de référence permet d'augmenter significativement la précision de la concentration $[Gd]$ reconstruite. Nous choisirons un peu plus loin de réaliser un filtrage de type passe-bas sur les scans $S(0)$ selon cette démarche.

3.1.1.1.3 Concentrations mesurables en présence de bruit

En raison du bruit, une analyse théorique permet de connaître quelles sont les concentrations minimale et maximale que l'on peut espérer mesurer ici étant donné la formule Eq. 78. Cette équation est valable sous les deux conditions suivantes :

$$\begin{cases} (1) & \frac{1}{1 - \frac{S(Gd)}{S(0)}(1 - e^{-TR/T_{10}})} > 0 \\ (2) & [Gd] > 0 \end{cases}$$

Eq. 90

La condition (1) est explicitée à l'équation Eq. 87 et on trouve que la condition (2) est satisfaite lorsque $S(Gd) > S(0)$. En présence de bruit que l'on suppose ici uniquement porté sur $S(Gd)$, si on considère le cas limite $S(Gd)_{eff} = \langle S(Gd) \rangle \pm 3\sigma$, alors les deux conditions ci-dessus se ré-écrivent :

$$\begin{cases} (1) & \langle S(Gd) \rangle < \frac{S(0)}{(1 - e^{-TR/T_{10}})} - 3\sigma \\ (2) & \langle S(Gd) \rangle > S(0) + 3\sigma \end{cases}$$

Eq. 91

D'où on déduit la valeur minimale et maximale possible du rapport $\langle S(Gd) \rangle / S(0)$:

$$\begin{cases} (1) & \left. \frac{\langle S(Gd) \rangle}{S(0)} \right|_{max} = \frac{1}{(1 - e^{-TR/T_{10}})} - 3 \frac{\sigma}{S(0)} \\ (2) & \left. \frac{\langle S(Gd) \rangle}{S(0)} \right|_{min} > 1 + 3 \frac{\sigma}{S(0)} \end{cases}$$

Eq. 92

Et en injectant ces valeurs limites de $\langle S(Gd) \rangle / S(0)$ dans l'équation Eq. 78, on en déduit les concentrations minimale et maximale mesurables. L'évolution de cette plage de concentration mesurable est représentée Figure 55 en fonction du rapport $\sigma / S(0)$.

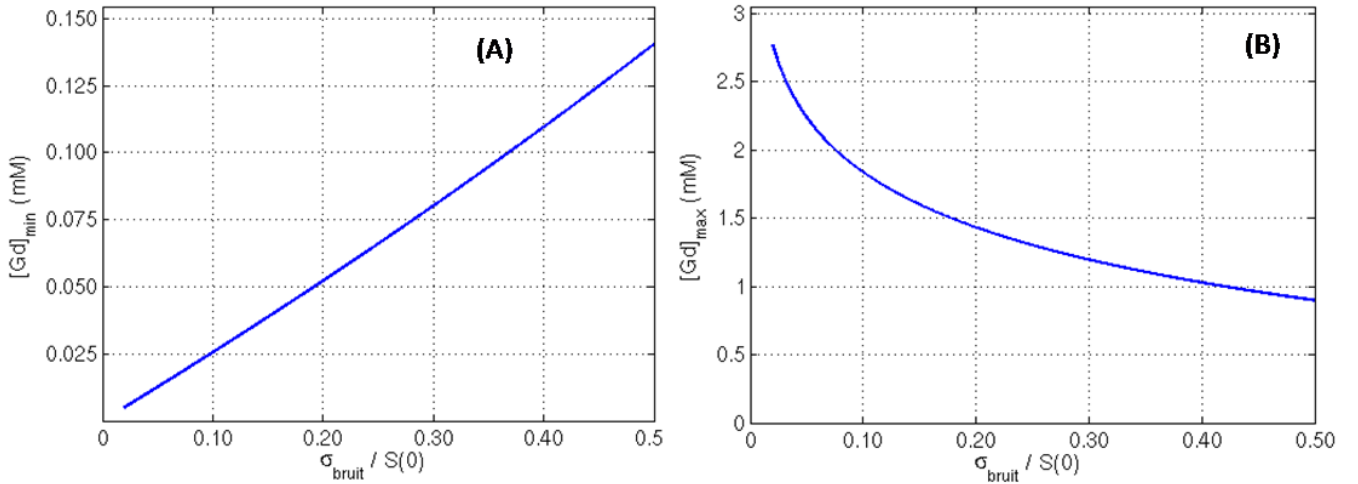


Figure 55: Tracé de la concentration minimale (A) et maximale (B) en fonction du rapport $\sigma_{bruit}/S(0)$, σ_{bruit} étant l'écart-type de bruit sur $S(Gd)$, considérant que $S(0)$ n'est pas bruité. Calculs fait avec $T_{10} = 2.996 s$, $r_1 = 4.29 mM^{-1}.s^{-1}$ et $TR = 400 ms$.

Dans nos conditions expérimentales, le rapport signal sur bruit des cartes brutes $S(0)$ des gels injectés en CED est de l'ordre de 10. Selon l'hypothèse que le bruit des cartes $S(Gd)$ est du même ordre de grandeur que pour $S(0)$ et dans le cas où $S(0)$ est filtré pour limiter la propagation du bruit dans les cartes reconstruites, cela indique une concentration minimale mesurable de l'ordre de $0.025 mM$ et une concentration maximale de l'ordre de $1.75 mM$.

Nous avons défini plus tôt un seuil $S(Gd)/S(0)$ de reconstruction des cartes $[Gd]$ n'autorisant pas de valeurs de concentration supérieures à $1 mM$, respectant ainsi cette borne supérieure mesurable. Pour la borne inférieure mesurable – $0.025 mM$ – nous verrons un peu plus loin que nous nous restreindrons la plupart du temps à un seuil de $0.05 mM$ dans l'analyse des images comme seuil de coupure de la distribution de gadolinium dans le gel.

3.1.1.1.4 Filtrage avant reconstruction

Comme nous l'avons mis en évidence plus tôt à partir de l'analyse de propagation de bruit (cf. p. 92), la réduction de bruit du signal $S(0)$ permet d'augmenter significativement le rapport signal sur bruit de concentration des cartes $[Gd]$ reconstruites. Nous choisissons sur cette base de filtrer les cartes $S(0)$ afin de réduire le bruit dans l'image, associée aux hautes fréquences spatiales, tout en conservant le signal propre de l'antenne de surface, de basse fréquence spatiale, qui varie de haut en bas dans une coupe et selon la coupe en raison de la sensibilité de l'antenne. Pour cela, nous avons opté pour un filtre médian normé de noyau de taille 15×15 . En effet, sur les coupes des gels CED où il y a un volume partiel entre le gel et le cathéter, le filtrage ne doit pas faire « baver » le signal du cathéter sur les pixels avoisinants faute de quoi on introduirait un biais sur les reconstructions. A noter que le signal spin-écho dans l'épaisseur du cathéter apparaît sur l'image comme hypointense tandis que le lumen rempli de Gd est hyperintense. Un filtre moyennant ou Gaussien n'est pas une bonne solution ici pour cette raison. L'avantage du filtre médian est de sélectionner la valeur médiane des valeurs de pixels dans la fenêtre 15×15 du noyau qui convolue l'image. On élimine ainsi le bruit du domaine gel de l'image, et les pixels associés au cathéter (épaisseur + lumen) hypo et hyper intenses prennent une valeur identique à celles de la partie gel environnante. La taille du noyau (15×15) est déterminée afin que le filtrage de la partie cathéter

soit optimal, c'est-à-dire suffisamment grande devant le diamètre du cathéter (typiquement de 5 à 10 pixels). La Figure 56 ci-dessous illustre ce filtrage $S(0)$ sur une coupe du gel où le cathéter est présent.

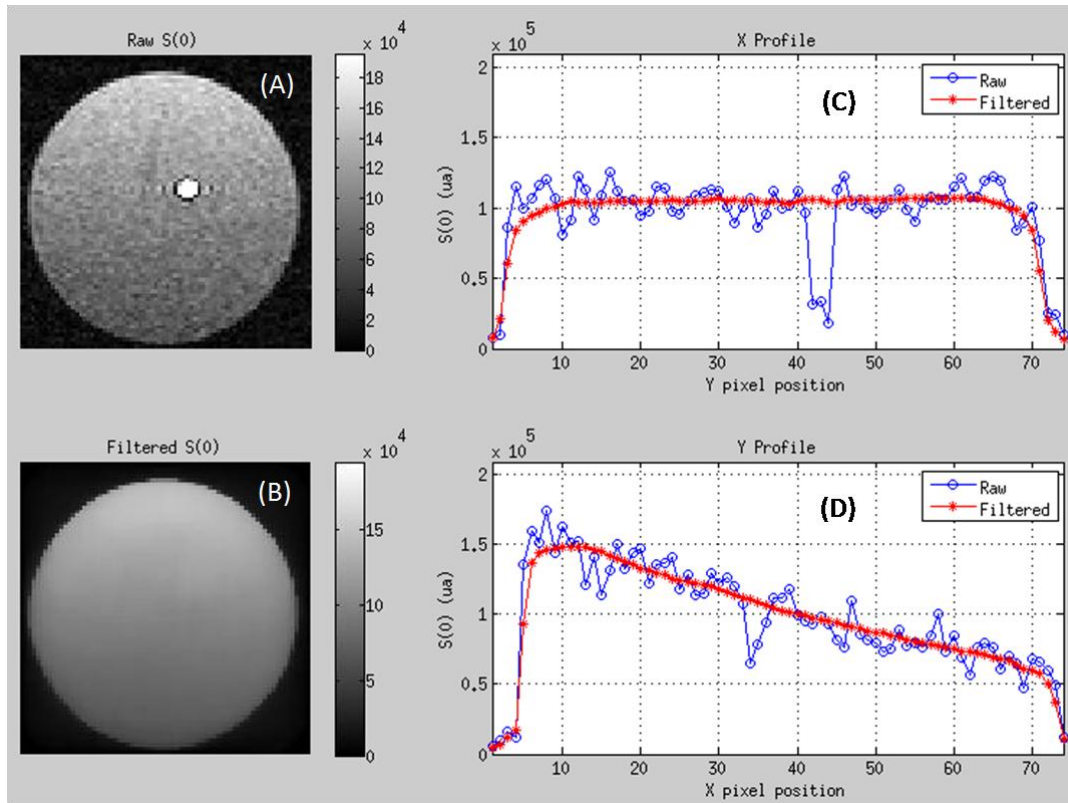


Figure 56: Filtrage du scan de référence $S(0)$. (A) Image $S(0)$ brute d'une coupe de gel injecté par CED ; le cathéter apparaît au centre : l'épaisseur plastique étant hypo intense et le lumen rempli de Gd comme hyper intense. (B) Image $S(0)$ filtré. (C) Profil horizontal au centre de l'image représentant les intensités de signal spin-écho en unités arbitraires avec en bleu le signal brut et en rouge le signal filtré. (D) Profil vertical. Le filtre est de type médian avec un noyau de taille 15×15 comme expliqué ci-dessus.

Ce filtrage est appliqué à chacune des coupes du scan $S(0)$ du gel considéré. L'influence du filtrage en termes de profil de concentration reconstruite, de volume de distribution et de quantité injectée est évaluée dans la partie Résultats (cf. section 2.2.1.5, p. 106).

3.1.1.1.5 Segmentation de l'aiguille

Afin d'analyser systématiquement les données (un gel avec ses différents scans pendant injection ou des scans de gels différents à un même temps d'acquisition), un algorithme de segmentation automatique de l'aiguille a été écrit et le masque 3D résultant est appliqué aux données brutes $S(0)$ et $S(Gd)$ avant reconstruction. Ce masque est calculé à partir du scan $S(0)$ du gel analysé. On utilise pour cela l'image $S(0)$ à laquelle on soustrait l'image $S(0)$ filtrée (cf. section ci-dessus). Le masque du lumen du cathéter est alors calculé selon l'opération logique :

$$Mask_{lumen} = \left(\frac{S(0) - S(0)_{filtré}}{\text{Max}(S(0) - S(0)_{filtré})} \right)^3 > 0.01$$

Eq. 93

Puisque $S(0)$ dans le lumen est hyper intense et $S(0)$ filtré a des valeurs de l'ordre du signal dans le gel avoisinant. Le max du dénominateur est calculé sur l'ensemble des 16 coupes du scan $S(0)$, de sorte à ce que la normalisation soit identique pour chacune des coupes ; ce qui permet également de régler le cas des coupes en dessous du cathéter. On génère ensuite le masque complet du cathéter en faisant une dilatation mathématique du masque précédent avec un noyau circulaire de rayon 1. Le masque 3D final appliqué aux données brutes est le complémentaire logique du masque du cathéter. Les pixels « cathéter » sont attribués à la valeur zéro et ne sont donc pas reconstruits par la suite. Pour un gel CED dont on a le scan de référence et les scans aux différents temps d'injection, le masque 3D est appliqué systématiquement à l'ensemble des scans. On retiendra que cette méthode de segmentation du cathéter est suffisamment robuste pour le jeu de données traité ici, bien que dépendante d'un seuil. Elle reste avantageuse en termes de reproductibilité et de rapidité par rapport à une segmentation manuelle.

2.1.3.4.2 Validité expérimentale avec l'imagerie des gels de calibration

Afin d'évaluer expérimentalement la précision du calcul de concentration par l'algorithme utilisé ici, nous avons imagé les gels de calibration aux différentes concentrations connues expérimentalement avec la séquence spin-écho. Les paramètres de séquence d'imagerie sont les mêmes que ceux utilisés lors de l'imagerie pendant les injections CED dans les gels agarose purs, à la différence près du gain d'acquisition valant ici $RG = 101$ contre $RG = 203$ pour la série gels CED (les ordres de grandeur de signal sont différents mais le SNR reste du même ordre ~ 10). Les concentrations en gadolinium des gels étalons imagés sont respectivement 0, 0.1, 0.25, 0.5 et 1 mM. La différence avec les acquisitions d'imagerie lors d'injections CED est que le gel injecté reste dans l'aimant à la même position sous l'antenne pendant les scans. Pour les étalons, il est nécessaire de sortir et remplacer l'échantillon à chaque fois si l'on veut garder les mêmes paramètres d'acquisition de la séquence d'imagerie. Afin de pouvoir faire la comparaison entre ces différents scans dans les mêmes conditions que lorsque nous comparons les scans d'un gel donné aux différents temps d'injection CED, nous avons d'abord placé dans l'aimant le gel de référence ($[Gd] = 0$). Le shim, l'accord en fréquence, et la définition du champ de vue d'imagerie est alors fait sur ce gel. L'imagerie du gel est ensuite effectuée, puis l'échantillon est sorti de l'aimant et remplacé par le nouveau en évitant tout écart de positionnement dans l'antenne (repères visuels sur l'échantillon par rapport au support dans l'antenne). Nous comparons dans un ROI volumique les valeurs moyennes et écart-types des cartes de concentration pour chaque étalon avec la valeur connue expérimentalement.

2.1.3.5 Analyse des données

Nous avons analysé les données en fonction du temps d'injection selon quatre approches :

- 1) Evaluation du volume de distribution à 5 % de Gd-DOTA dans le gel
- 2) Evaluation de la quantité de Gd dans le volume de distribution à 5 %
- 3) Suivi transitoire d'un profil de concentration moyen
- 4) Suivi transitoire de la concentration moyenne dans un ROI

On notera le cas particulier concernant les injections à $2.5 \mu L \cdot min^{-1}$ qui dure 8 minutes seulement, et où aucun suivi cinétique n'a été effectué. Ces gels étant scannés une seule fois au temps de fin d'injection, les paramètres extraits ne sont alors comparés avec les mesures des autres groupes qu'à l'instant de fin d'injection.

1) Volume de distribution du Gd-DOTA

Le volume de distribution V_d du Gd-DOTA dans le gel est défini comme le volume gel occupé par l'agent sur la plage de concentration $0.05 - 1 \text{ mM}$. Le nombre de voxels présent dans ce volume est compté puis multiplié par le volume d'un voxel, ici 0.0287 mm^3 . Pour le calculer, nous partons des cartes $[Gd]$ reconstruites puis un seuillage est effectué à 0.05 mM : les pixels ayant une concentration supérieure à 0.05 mM sont attribués à la valeur 1, les autres à 0. Ensuite, il faut discerner les pixels appartenant à la distribution de Gd en tant que tel de ceux qui proviennent du bruit ou des frontières du gel où dans les deux cas il peut y avoir des concentrations reconstruites supérieures à 0.05 mM . Pour ce faire, nous appliquons un algorithme de croissance 3D qui à partir d'un premier voxel sélectionné manuellement dans la région où le gadolinium est identifié visuellement, fait croître voxel par voxel (premiers plus proches voisins) un label valant 5. Tous les voxels labellisés à 5 sont ainsi connectés les uns aux autres et définissent le volume de distribution.

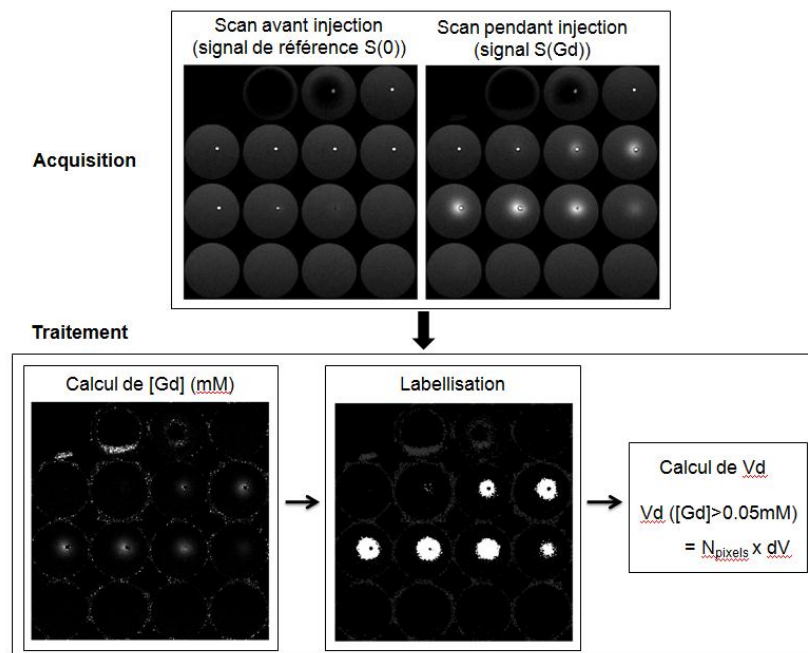


Figure 57: Schéma explicatif simplifié de la procédure de calcul du volume de distribution de Gd dans le gel pour un temps d'imagerie donné. Les cartes de signal spin-écho permettent de reconstruire les cartes de concentration $[Gd]$. Une labellisation du volume occupé par le Gd-DOTA à partir d'un seuillage puis une croissance 3D. Le volume de distribution du Gd-DOTA est alors le nombre de voxels dénombrés dans cette région labellisée, multiplié par le volume d'un voxel. Pour chaque image ci-dessus, les 16 coupes du gel sont représentées.

Le calcul de V_d pour un gel donné aux différents instants d'imagerie est effectué en répétant le processus décrit ci-dessus pour chaque scan. Dans le cas où l'injection dans un gel présente du reflux, le gadolinium apparaît à la surface du gel. L'algorithme de croissance va alors segmenter les pixels gadolinium en dehors du gel sur les premières coupes. Ne souhaitant pas tenir compte des

voxels Gd hors gels dans le calcul de V_d , les premières coupes concernées sont mises à zéro lorsque cela se produit.

2) Quantité de Gd

Nous avons défini une méthode de calcul la quantité molaire de Gd présente sur les coupes du gel à un instant donné d'imagerie. Du point de vue expérimental, avec une concentration d'injection $C_0 = 1 \text{ mM} = 1 \text{ mol.m}^{-3}$ et un poids moléculaire de 560 g.mol^{-1} , la quantité totale de gadolinium en fin d'injection est $n_i(T_{inj}) = C_0 \cdot V_i(T_{inj}) = 20 \text{ nmol}$, soit une masse de $11.2 \text{ } \mu\text{g}$. Ici, en se basant sur le volume segmenté pour l'évaluation du volume de distribution, nous proposons de calculer cette quantité à chaque scan en sommant sur les voxels du volume de distribution, *i.e.* ceux dont la concentration en Gd est comprise entre 0.05 et 1 mM, les concentrations de chaque voxel puis en multipliant cette somme par le volume du voxel :

$$\begin{aligned} n_i(t) &= \iiint_{gel} [Gd](r, t) dV \approx \iiint_{V_d [0.05-1 \text{ mM}]} [Gd](r, t) dV \\ &= dV \sum_{r \in V_d} [Gd](r, t) \end{aligned}$$

Eq. 94

Avec dV le volume du voxel et $[Gd](r, t)$ la concentration dans le voxel r au scan d'imagerie t ; r appartenant au volume de distribution segmenté préalablement. Nous approximations ainsi toute la quantité de Gd dans le volume V_d . Cependant, en raison du bruit dans les cartes de concentrations, il faut bien définir un seuil qui sépare le bruit de la concentration minimale détectable. Ici, on conserve le seuil 0.05 mM car en le réduisant par exemple à 0.025 mM l'algorithme de croissance 3D vient rapidement segmenter un ensemble de voxels bruités qui ne contiennent pas de gadolinium. A titre informatif, nous avons également fait ce type de calcul pour des données d'imagerie *in vivo*, cf. Chapitre 1 p. 129 et Chapitre 4, p. 189.

3) Suivi dans le temps d'un profil de concentration moyen

Nous calculons avec les scans d'un gel aux différents temps l'évolution d'un profil de concentration à la sortie du cathéter en fonction du temps, pendant et après l'injection. Chaque profil, défini visuellement sur la carte de signal spin-écho (scan de fin d'injection), est moyenné sur +/- une ligne autour de la ligne sélectionnée. En appliquant cette méthode à chacun des scans du même gel, nous superposons ces profils aux différents temps pour suivre l'évolution transitoire de $[Gd]$.

4) Suivi de la concentration moyenne dans un ROI en fonction du temps d'injection

Similairement au cas de l'analyse d'un profil de concentration aux différents temps, nous avons analysé l'évolution de la concentration moyenne dans un ROI carré de 9 pixels qui est défini sur l'image spin-écho de l'acquisition de fin d'injection. Lorsque cette analyse est faite sur les différents scans d'imagerie d'un gel donné, le même ROI est utilisé pour chaque scan. Selon cette méthode, nous avons défini plusieurs ROI d'intérêts pour un gel donné : un ROI sur la coupe de l'extrémité du

cathéter (repéré avec le volume partiel du biseau), tout près de la sortie du cathéter ; un ROI sur la coupe située en dessous (pas de cathéter) ; quatre ROI sur une coupe située au-dessus de la coupe de sortie du cathéter. Ces ROI sont définis autour du cathéter (haut, bas, gauche, droite) et permettent de voir s'il y a une différence sur la cinétique d'arrivée du gadolinium, notamment par rapport à la présence du biseau.

2.2 Résultats expérimentaux

2.2.1 Imagerie IRM du Gd-DOTA dans les gels

Dans cette étude expérimentale, nous avons réalisé les injections aux trois débits avec 3 à 4 gels par groupe. Nous avons pu observer à partir des cartes d'imagerie des cas de reflux : soit confiné dans le gel (étant léger ou complet) ou bien total avec apparition de contraste à la surface du gel. Pour les trois débits dans l'ordre 0.3, 0.5 et $2.5 \mu\text{L} \cdot \text{min}^{-1}$, nous avons observé du reflux dans 1 gel / 4 (confiné complet), 2 gels sur 3 (confiné complet) et {2 gels / 3 (confiné complet) + 1 gel / 3 (surface)}, respectivement.

2.2.1.1 Quantité injectée et volume de distribution pendant l'injection

Nous avons administré expérimentalement 20 nmol de Gd-DOTA dans $20 \mu\text{L}$ et par le calcul intégré de cette quantité dans le volume de distribution à 5 % de la concentration d'injection (*cf.* section 2.1.3.5, p. 98), nous trouvons pour les trois débits les résultats suivants, *cf.* Tableau 8 et Figure 58 ci-dessous. Ces valeurs ne sont pas statistiquement différentes entre elles ($p > 0.05$), en particulier avec le groupe $2.5 \mu\text{L} \cdot \text{min}^{-1}$ qui a présenté un cas de reflux en surface, réduisant significativement le volume de distribution et la quantité d'agent de contraste dans ce dernier dans le gel en question.

	Débit d'injection		
	$0.3 \mu\text{L} \cdot \text{min}^{-1}$	$0.5 \mu\text{L} \cdot \text{min}^{-1}$	$2.5 \mu\text{L} \cdot \text{min}^{-1}$
$Vd_{5\%}(\mu\text{L})$, moyenne $\pm$ écart-type	63.8 ± 2.9	66.4 ± 2.5	49.6 ± 10.7
$ni_{5\%}(\text{nmol})$, moyenne $\pm$ écart-type	7.2 ± 0.3	8.6 ± 0.4	10.7 ± 3.5

Tableau 8 : Résumé des valeurs de volume de distribution à 5 % et de la quantité de Gd-DOTA calculée dans ce volume, moyennées par groupe de débit d'injection.

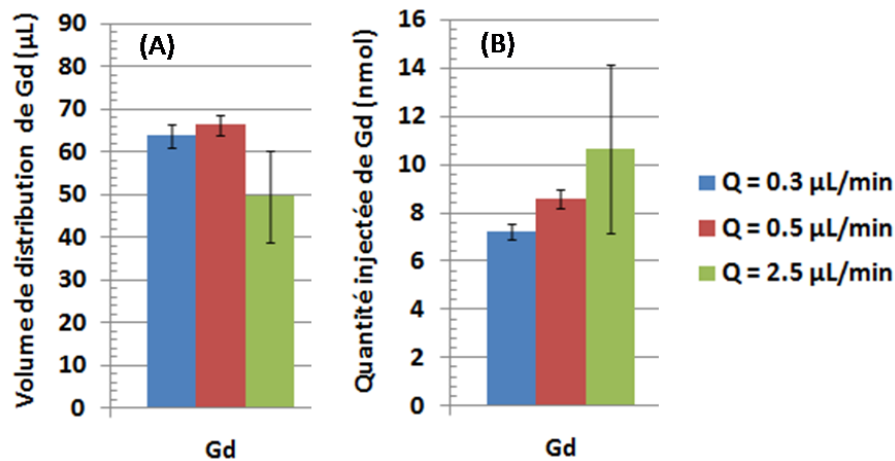


Figure 58: (A) Volume de distribution à 5 % de la concentration d'injection (1 mM) moyen par groupe à l'instant de fin d'injection. (B) Quantité molaire de Gd-DOTA moyenne par groupe, calculée dans le volume de distribution du gel à l'instant de fin d'injection. Les barres d'erreurs indiquent l'écart-type pour 3 à 4 gels par groupe.

Les données transitoires de quantité injectée dans le volume de distribution à 5 %, à 0.3 et $0.5 \mu\text{L} \cdot \text{min}^{-1}$ ne sont pas présentées ici mais une évolution linéaire en fonction du temps d'injection (ou du volume injecté) a été observée. La comparaison à ces deux débits des volumes de distribution à 5 % moyens par groupe est représentée à la Figure 59 ci-dessous.

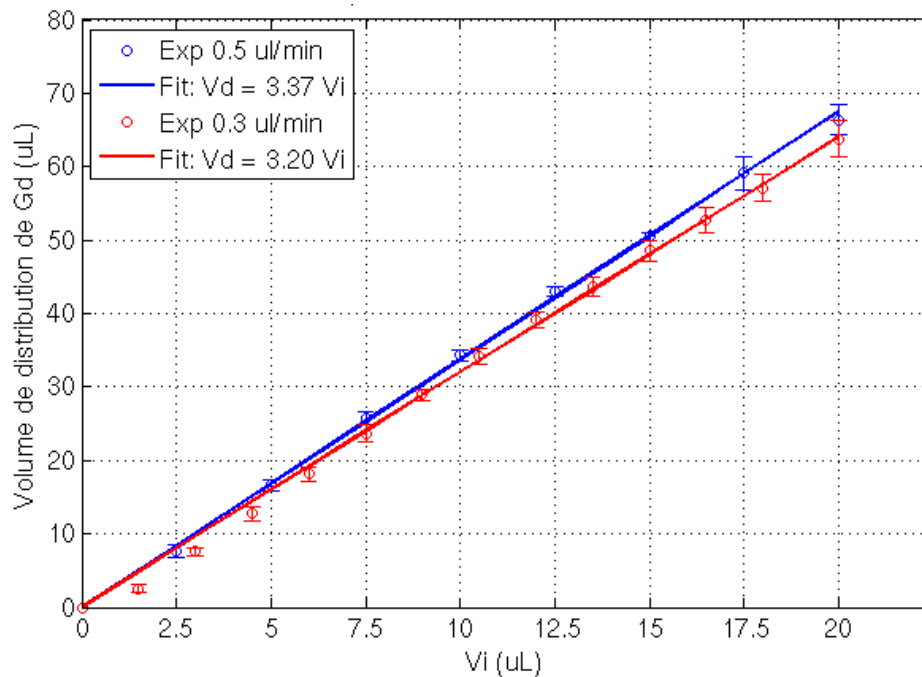


Figure 59: Evolution du volume de distribution à 5 % de Gd-DOTA moyen par groupe de débit d'injection pour la plage de volume injecté 0 - 20 μL . Les droites en trait plein indiquent les courbes de fit $V_d = f(V_i)$ pour chaque débit. Les barres d'erreurs représentent un écart-type calculé à partir des données d'injection de 3 à 4 gels.

Les courbes $V_{d_{5\%}} = f(V_i)$ pour 0.3 et $0.5 \mu\text{L} \cdot \text{min}^{-1}$ débits sont similaires et le fit par une fonction linéaire passant par zéro permet d'établir un rapport $V_{d_{5\%}}/V_i$ valant respectivement 3.20 et 3.37, avec un coefficient de corrélation $R_{corr}^2 \geq 0.9973$. Le Tableau 9 ci-dessous résume les paramètres de fits associés.

Débit d'injection	Equation du fit	$(Vd_{5\%}/Vi)_{min}$	$(Vd_{5\%}/Vi)_{max}$	R^2_{corr}
$0.3 \mu L \cdot min^{-1}$	$Vd_{5\%} = 3.20 Vi$	3.14	3.25	0.9973
$0.5 \mu L \cdot min^{-1}$	$Vd_{5\%} = 3.37 Vi$	3.23	3.41	0.9992

Tableau 9: Fit linéaire des courbes $Vd_{5\%} = f(Vi)$ pendant injection à 0.3 et $0.5 \mu L \cdot min^{-1}$ (fits sous Matlab, minimisation en moindres carré, contrainte $Vd_{5\%}(Vi = 0) = 0$). Les valeurs min et max de la pente de la courbe indiquent l'intervalle de confiance à 95%. Les écart-types de $Vd_{5\%}$ en chaque point Vi ne sont pas pris en compte dans ces fits.

2.2.1.2 Cartes d'imagerie

Les injections dans cette étude n'étant pas facilement comparables du fait de l'apparition éventuelle de reflux ainsi que la faible statistique de gels, nous avons choisi de présenter ici les données d'imagerie pour un gel typique infusé à $0.5 \mu L \cdot min^{-1}$. La Figure 60 ci-dessous représente les cartes spin-écho pour ce gel après mise en forme du signal, ainsi que les cartes reconstruites résolues en concentration d'agent de contraste (mM). Sur ces dernières, le lumen du cathéter apparaît comme hypo-intense (conséquence du mask appliquée).

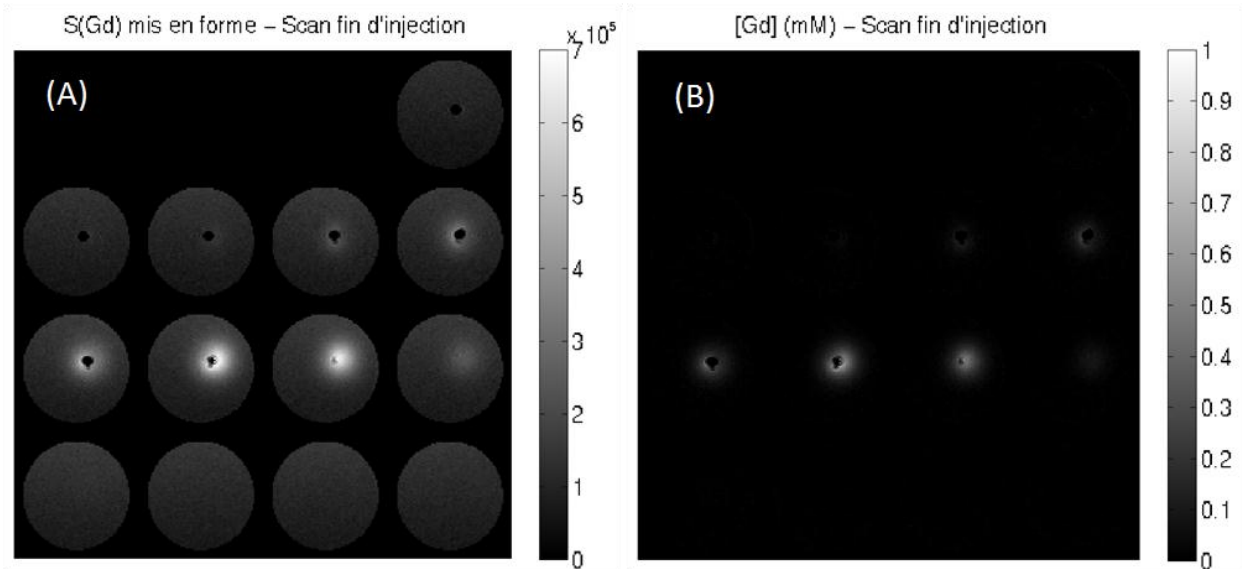


Figure 60: Cartes d'imagerie IRM transverses à l'instant de fin d'injection pour un gel ayant reçu une infusion de $20 \mu L$ de Gd-DOTA à $0.5 \mu L \cdot min^{-1}$. (A) Signal $S(Gd)$ mis en forme. (B) Cartes de concentration reconstruite. Les 16 coupes du gel sont représentées dans chaque cas. Les trois premières coupes de cette acquisition sont mises à zéro car situées en dessus de la surface du gel. Les masques du gel et du cathéter sont pris en compte sur ces images.

Sur cette acquisition, le gadolinium apparaît majoritairement sur les coupes 8 à 11. Des concentrations plus élevées sont visibles coté droit du cathéter sur les coupes 10 et 11 (coté sortie biseau). Un très léger reflux le long de l'aiguille est visible sur les coupes 7 et 8 sur la carte $S(Gd)$. Une faible trace de Gd est notée sur la coupe 12, en dessous du cathéter.

2.2.1.3 Profils de concentration

Toujours pour ce même gel, nous représentons Figure 61 les profils de concentration transitoires pendant et aussi après les $40 min$ d'injection pour une coupe située à la sortie du cathéter (*cf.* coupe 11, Figure 60).

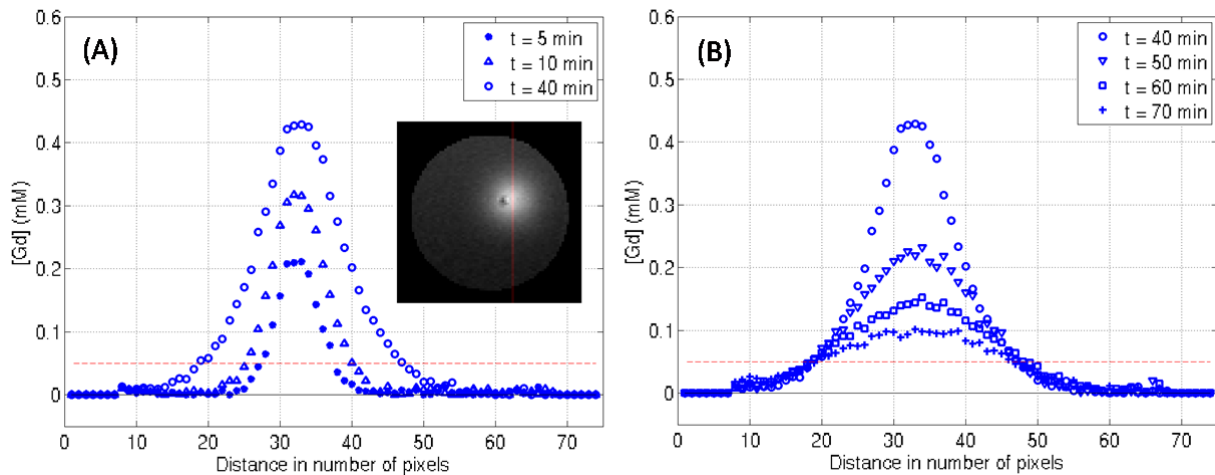


Figure 61: Profils de concentration transitoires à la sortie du cathéter pour un gel ayant reçu une infusion de $20 \mu\text{L}$ de Gd-DOTA à $0.5 \mu\text{L} \cdot \text{min}^{-1}$ (la ligne de tracé du profil est indiqué en rouge sur l'image spin-écho). (A) Pendant injection aux temps 5, 10 et 40 min. (B) Après injection, aux temps 40, 50, 60 et 70 min. Le seuil 0.05 mM est représenté par un trait en pointillés rouge. Chaque courbe en (A) et (B) est la moyenne en concentration sur ± 1 ligne autour du profil sélectionné. 10 pixels correspondent à une distance de 1.5 mm .

Selon Figure 61 (A), la valeur maximale de concentration au centre du profil vaut successivement environ 0.2 , 0.3 et 0.43 mM aux temps 5, 10 et 40 min. La dynamique du transport du Gd est plus forte aux premiers instants d'injection qu'à la fin. Le profil s'élargit en fonction du temps, ce qui traduit l'augmentation du volume de distribution décrit plus tôt. En post-injection (Figure 61 (B)), la concentration décroît rapidement entre 40 et 50 min, puis plus lentement jusqu'à 70 min.

2.2.1.4 Concentration dans un ROI en fonction du temps

La Figure 62 ci-dessous représente l'allure des courbes de concentration calculées dans différents ROI proches de l'extrémité de sortie du cathéter. Cette représentation permet de suivre la cinétique de sortie du gadolinium. Sur la coupe 10, on voit que la concentration augmente plus rapidement et atteint une valeur plus élevée (0.4 mM) sur le côté droit que pour les trois autres cotés où la valeur est plutôt autour de 0.3 mM . Sur la coupe 11 correspondant à la sortie du cathéter, l'augmentation de concentration est également rapide, et tend vers environ 0.43 mM en fin d'injection. On retrouve cette valeur sur le profil de concentration de la Figure 61. Le tracé sur la coupe 12 (plus d'intersections avec le biseau du cathéter) indique une arrivée très lente du gadolinium ainsi qu'une valeur finale faible (inférieure à 0.1 mM). Ce ROI n'est pris en compte dans le volume de distribution à 5 % qu'à partir de 20 min d'injection. En post-injection, on constate une décroissance systématique de la concentration jusqu'à une valeur minimale à $t = 70 \text{ min}$. On note des barres d'erreurs en post-infusion qui diminuent au fur et à mesure du temps de post-injection.

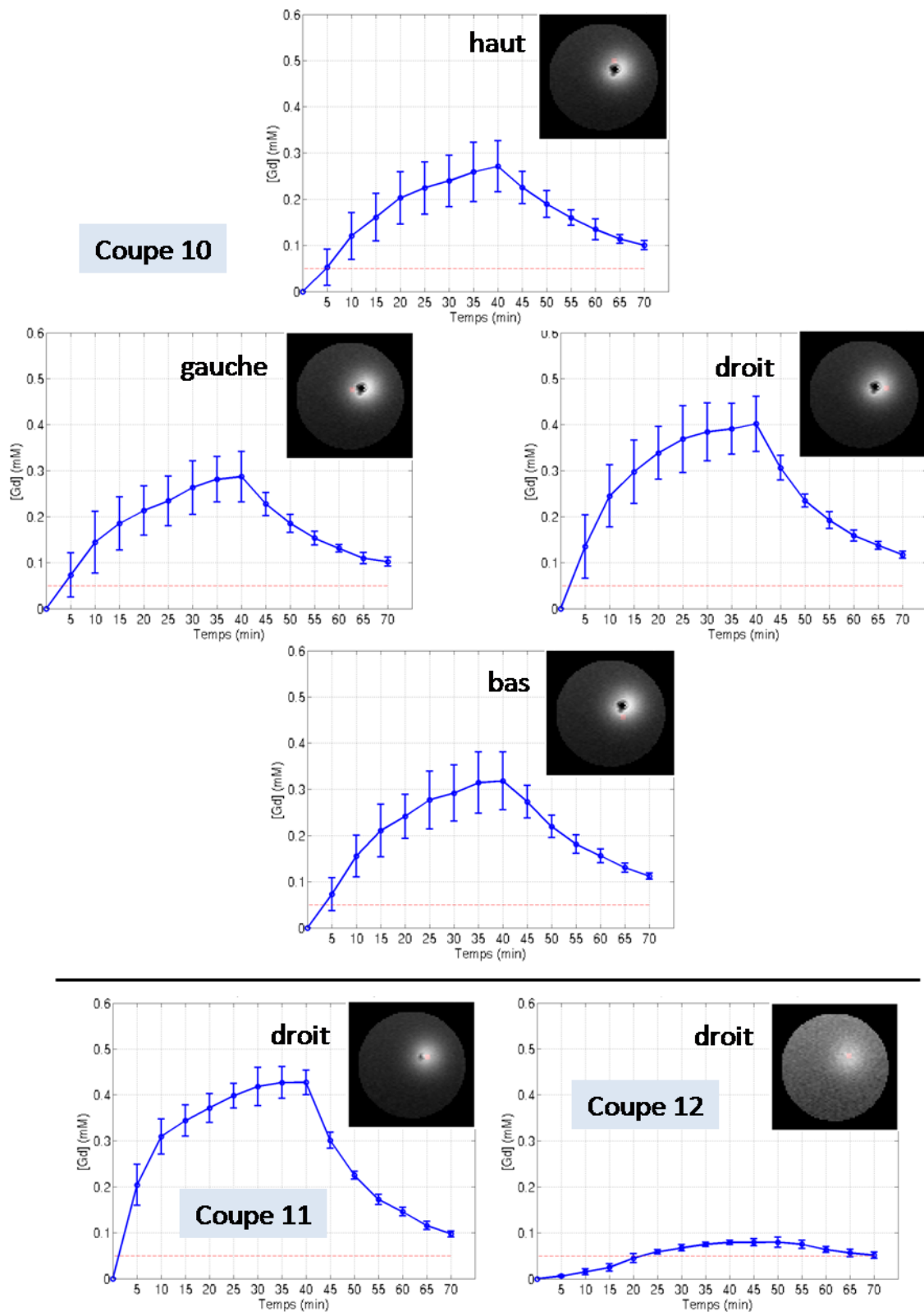


Figure 62: Courbes transitoires de concentration dans différents ROI proches de la sortie du cathéter pour un gel ayant reçu une infusion de $20 \mu\text{L}$ de Gd-DOTA à $0.5 \mu\text{L} \cdot \text{min}^{-1}$. Pour un ROI donné, la valeur à un pas de temps est la concentration moyenne dans le ROI et la barre d'erreur associée est l'écart-type. Les coupes 10, 11 et 12 sont également représentées à la Figure 60. Chaque ROI est constitué de 9 pixels.

2.2.1.5 Validations et estimations de l'erreur

- Sensibilité au filtrage $S(0)$

Nous quantifions ici en termes de volume de distribution, de quantité injectée et de profil de concentration la précision de calcul de $[Gd]$ selon que le filtrage $S(0)$ soit fait ou pas, cf. Figure 63. Ce calcul est fait directement sur les reconstructions d'un gel CED ayant reçu l'infusion à $0.5 \mu L \cdot min^{-1}$. Ces calculs effectués sur la base où les pixels « cathéter » sont segmentés et mis à zéro selon la méthode systématique définie plus tôt.

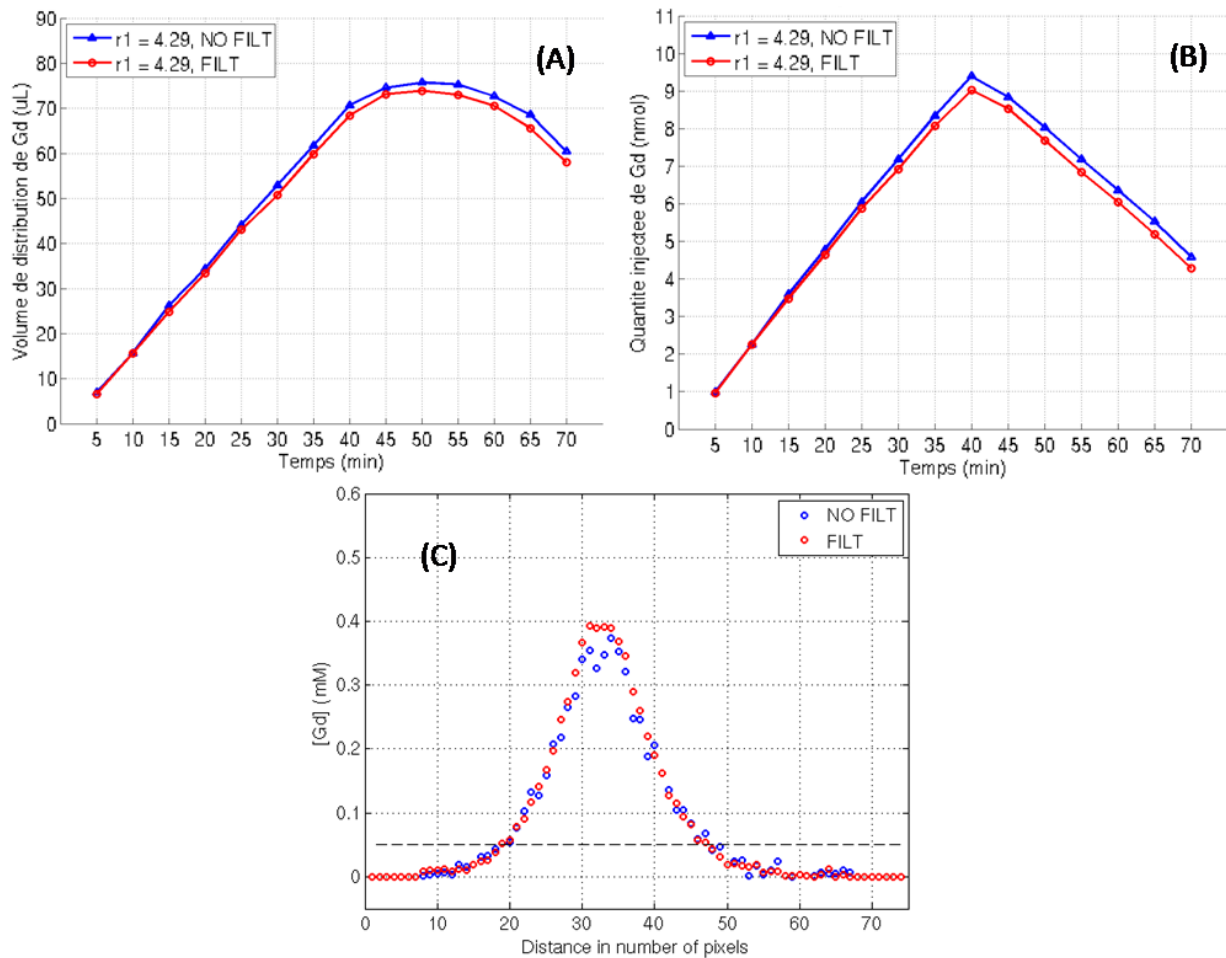


Figure 63: Sensibilité au filtrage $S(0)$ pour un gel ayant reçu une infusion de $20 \mu L$ de Gd-DOTA à $0.5 \mu L \cdot min^{-1}$. (A) Volume de distribution $Vd_{5\%}$. (B) Quantité molaire $ni_{5\%}$ calculée dans $Vd_{5\%}$ en fonction du temps pendant et après injection. (C) Profil de concentration à l'instant de fin d'injection $40 min$ (coupe 11 (sortie du cathéter), profil moyen sur 3 lignes).

D'après les courbes (A) et (B) ci-dessus, le filtrage de $S(0)$ avant reconstruction des cartes $[Gd]$ entraîne une diminution du volume de distribution et de la quantité de Gd de 3.3 et 3.9 % respectivement. D'après les profils de concentrations en (C), le profil $[Gd]$ sans filtrage $S(0)$ est plus bruité et permettrait à quelques pixels du bord de distribution d'appartenir à la plage $0.05 - 1 mM$ ce qui est moins le cas pour le profil avec filtrage $S(0)$.

- Sensibilité aux paramètres r_1 et T_{10}

Nous avons estimé précédemment (*cf.* section 2.1.3.4, p. 91) par une analyse théorique une précision de calcul de $[Gd]$ de l'ordre de 10 % en raison de l'incertitude expérimentale sur les valeurs de r_1 et T_{10} . Nous quantifions ici cette précision directement sur les reconstructions d'un gel ayant reçu une infusion de $20 \mu L$ à $0.5 \mu L \cdot min^{-1}$ en termes de volume de distribution à 5 %, de quantité de traceur dans ce volume et de profil de concentration (non illustrés). Ces calculs sont faits sur la base où $S(0)$ est filtré et les pixels « cathéter » sont segmentés et mis à zéro selon la méthode systématique définie plus tôt. Pour la sensibilité de $Vd_{5\%}$ et $ni_{5\%}$ à r_1 , une sous-estimation de r_1 conduit à une sur-estimation de $Vd_{5\%}$ et de $ni_{5\%}$. Cela vient du fait que d'après l'équation Eq. 78, si r_1 est sous-estimé alors le seuil de concentration $0.05 mM$ est également sous-estimé soit un rayon de distribution à 5 % plus grand et donc un volume de distribution plus élevé. On note qu'à l'instant de fin d'injection, l'écart-relatif moyen avec le volume de distribution nominal obtenue pour $r_1 = 4.29 mM^{-1} \cdot s^{-1}$ est de l'ordre de 1.5 %, *cf.* Tableau 10 ci-dessous. On observe la même tendance pour la sensibilité de ces courbes à l'incertitude T_{10} . Cependant, les écarts sont plus importants ; *e.g.* pour le volume de distribution, l'écart-relatif moyen à l'instant de fin d'injection est 4.5 %. On constate une plus forte sensibilité selon l'incertitude T_{10} que celle de r_1 . En résumé de cette analyse de sensibilité à l'incertitude de r_1 et T_{10} , on trouve pour ce gel à l'instant de fin d'injection une incertitude cumulée sur $Vd_{5\%}$ de 6 % et sur $ni_{5\%}$ de 11 %

Constantes de reconstruction		$Vd_{5\%} (\mu L)$	$ni_{5\%} (nmol)$
r_1 $T_{10} = 2.996 s$	$r_1 = 4.19 mM^{-1} \cdot s^{-1}$	69.4	9.3
	$r_1 = 4.29 mM^{-1} \cdot s^{-1}$	68.4	9.0
	$r_1 = 4.39 mM^{-1} \cdot s^{-1}$	67.3	8.8
	Ecart-relatif moyen (%)	1.5 %	2.8 %
T_{10} $r_1 = 4.29 mM^{-1} \cdot s^{-1}$	$T_{10} = 2.846 s$	71.6	9.8
	$T_{10} = 2.996 s$	68.4	9.0
	$T_{10} = 3.146 s$	65.5	8.3
	Ecart-relatif moyen (%)	4.5 %	8.3 %

Tableau 10: Valeurs de volume de distribution à 5 % et de quantité calculée de Gd à l'instant de fin d'injection avec différentes valeurs de r_1 et T_{10} pour un gel ayant reçu une infusion de $20 \mu L$ de Gd-DOTA à $0.5 \mu L \cdot min^{-1}$. Dans ce calcul, $S(0)$ est filtré avant reconstruction.

- Validation de l'algorithme avec l'imagerie des gels de calibration

Les valeurs de concentrations reconstruites avec $S(0)$ filtré à partir des scans d'imagerie des gels de calibration sont représentés dans le Tableau 11 ci-dessous. L'écart-relatif entre la concentration calculée et la concentration connue expérimentalement est en valeur absolue inférieure à 15 % pour les 4 concentrations. Le rapport signal sur bruit en concentration est plus élevé à 0.25 et 0.5 mM qu'à 0.1 et 1 mM. Ces valeurs sont représentées en rouge Figure 64.

$[Gd]$ (mM) connue		0.1	0.25	0.5	1
Algorithme + ROI sur cartes $[Gd]$	Moyenne	0.09	0.23	0.46	0.98
	Ecart-type	0.01	0.01	0.02	0.05
	Ecart-relatif (%)	- 13.9	- 6.3	- 7.7	- 1.6
	$SNR([Gd]) = m / \sigma$	10.9	21.6	25.4	18.0

Tableau 11: Statistiques de concentration à partir des scans imagerie des gels de calibration. Pour ces reconstructions, $S(0)$ est filtré de la même façon que pour les gels CED. Les valeurs sont calculées dans un ROI volumique de 5 coupes, de forme cylindrique, dans la région centrale de l'antenne et proche du bord supérieur du gel (SNR maximal). Le ROI contient 1550 voxels. Les moyennes et écart-types sont faits directement sur les cartes de concentration reconstruites.

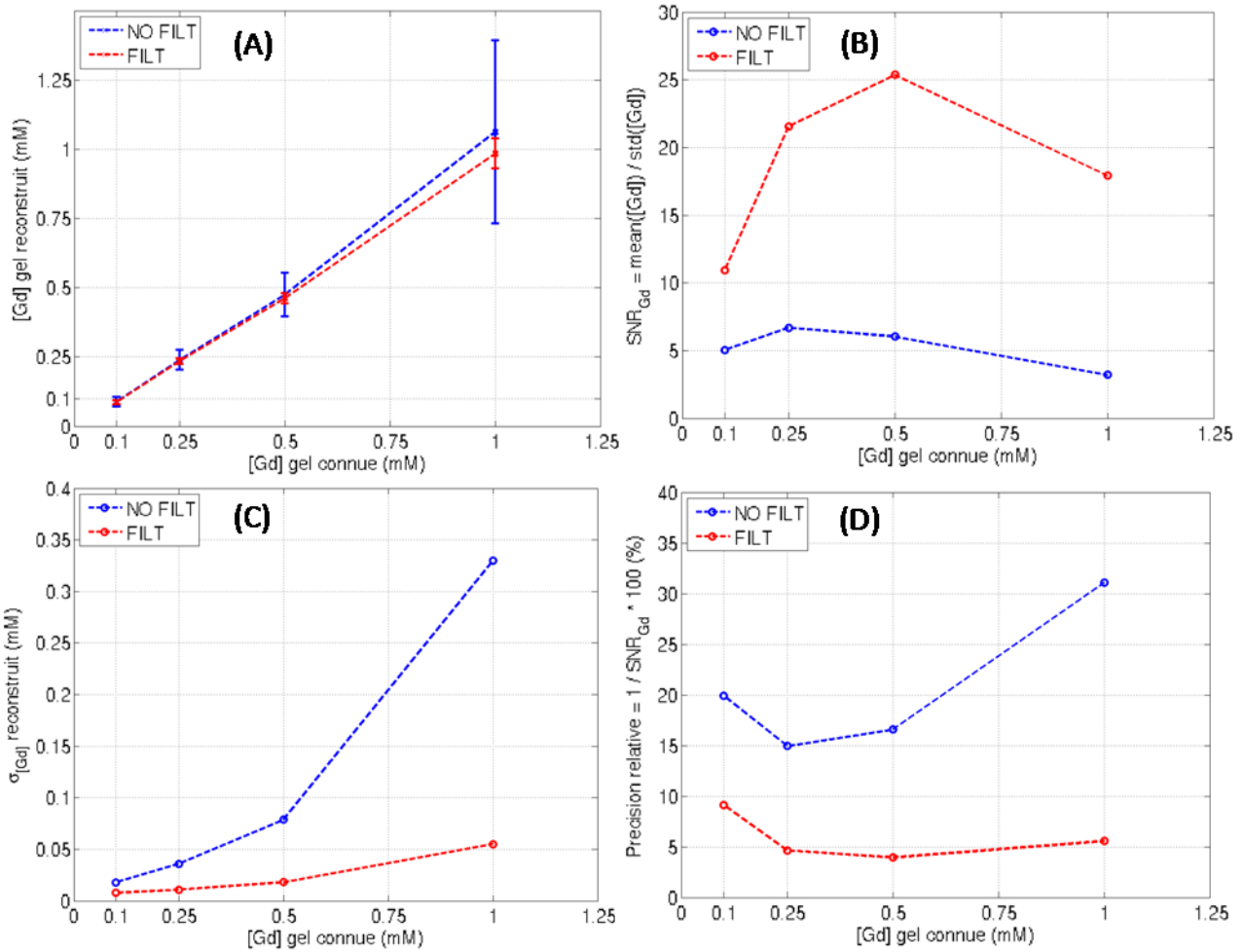


Figure 64: Mesures de concentrations dans le ROI sur les gels de calibration et statistiques associées. Les courbes rouge et bleu indiquent le cas de filtrage ou non de $S(0)$ avant reconstruction. (A) Concentration $[Gd]$ moyenne reconstruite par l'algorithme en fonction de la concentration $[Gd]$ connue expérimentalement. La barre d'erreur correspond à l'écart-type de concentration dans le ROI. (B) Rapport signal sur bruit en concentration $\langle [Gd] \rangle / \sigma_{[Gd]}$ en fonction de $[Gd]$ des étalons. (C) $\sigma_{[Gd]}$ en fonction de $[Gd]$ des étalons. (D) Rapport $\sigma_{[Gd]} / \langle [Gd] \rangle$ (%) en fonction de $[Gd]$ des étalons.

La Figure 64 illustre là aussi l'intérêt de faire le filtrage $S(0)$ avant les reconstructions des cartes $[Gd]$. L'écart-type des cartes reconstruites est nettement réduit et le rapport en signal sur bruit en concentration qui en résulte augmente également. Les concentrations que nous reconstruisons ici permettent de valider la méthode de calcul de $[Gd]$ sur la base d'une valeur moyenne estimée à moins de 15 % et une précision associée inférieure à 10 %. Les cartes de signal et de

concentrations de ces gels de calibration sont explicitées dans l'annexe « Validation algorithme sur gels calibrés ».

2.3 Méthodes de calcul numérique

2.3.1 Cadre

Nous proposons ici de modéliser l'écoulement et le transport du Gd-DOTA dans une géométrie proche de la géométrie expérimentale en décrivant le gel comme un domaine poreux rigide homogène et isotrope caractérisé par sa porosité et sa perméabilité hydraulique. Le fluide injecté est Newtonien et le traceur qu'il contient a une certaine diffusivité dans le gel selon les conditions expérimentales. Pendant l'injection, la distribution de l'agent se fait uniquement par convection et diffusion, étant donné que le gel est inerte (pas de vascularisation, ni de fixation sur les chaînes polymères *a priori*).

2.3.2 Géométrie et maillage

Les échantillons expérimentaux sont des contenants cylindriques en verre avec un culot sphérique au fond. Les dimensions du cylindre sont : diamètre 11 mm et hauteur totale de 75 mm dont 5 mm de culot. Le volume typique de gel agarose coulé était 5 à 6 mL. L'aiguille utilisée en injection est un cathéter plastique de diamètre externe 0.8 mm et de diamètre interne 0.5 mm. Le biseau n'est pas décrit ici. L'aiguille dans le modèle se résume donc à un cylindre de diamètre 0.8 mm avec, à la sortie, une surface (couronne) décrivant l'épaisseur de l'aiguille, et la section de sortie en tant que telle où la condition limite traduisant l'écoulement est imposée. Cette géométrie (cf. Figure 65) est réalisée sous Ansys [114] avec le module ICEM-CFD [115].

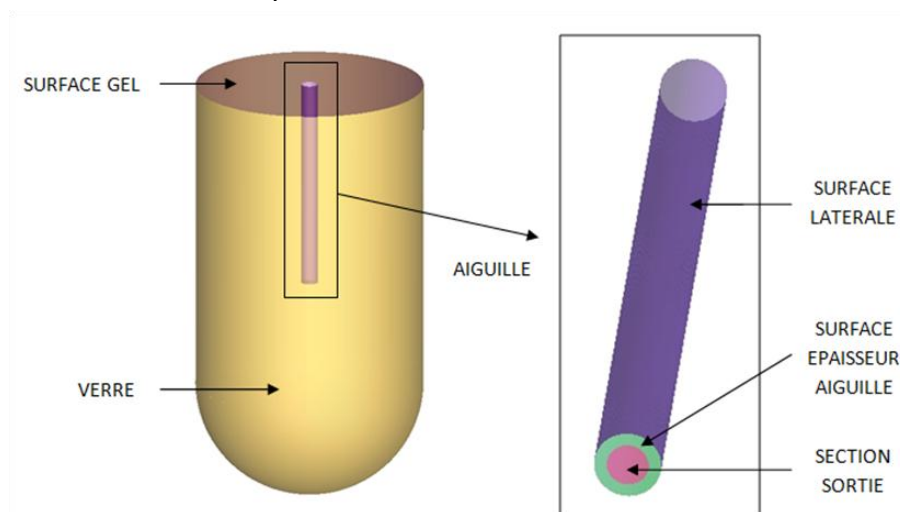


Figure 65: Représentation de la géométrie créée avec ICEM-CFD. Le domaine gel est constitué d'un cylindre de 11 mm de diamètre et de 15 mm de haut ainsi qu'un fond sphérique de 5.5 mm de haut. Les frontières sont définies par la surface du gel et la surface du verre. L'aiguille est définie par un cylindre de diamètre externe 0.8 mm et un diamètre interne de 0.5 mm. Elle est constituée de 3 surfaces : la surface latérale et la surface associée à l'épaisseur de l'aiguille puis la section de sortie de l'aiguille par où est imposée la condition limite d'écoulement.

Le maillage réalisé ici est également réalisé avec ICEM-CFD. Il est constitué uniquement de tétraèdres dont la taille est contrôlée dans le domaine gel ainsi qu'aux surfaces. Le facteur d'échelle

entre les dimensions des grandes surfaces de la géométrie et les surfaces de l'aiguille nécessitent un maillage adaptatif. Par ailleurs, le maillage doit être suffisamment fin pour physiquement conduire à une solution numérique satisfaisante, et ceci plus particulièrement à la sortie de l'aiguille, puisque c'est à cet endroit que le champ de vitesse et de pression lié à l'écoulement varie le plus. Pour la partie transport, le champ de concentration occupera un volume de l'ordre du volume injecté divisé par la porosité effective du gel. Le maillage volumique dans la partie associée où la distribution de l'agent est attendue doit donc être suffisamment fin pour converger vers une solution numérique correcte, ainsi que pour le post-traitement envisagé. Cela dit, la diminution de la taille des tétraèdres est limitée à deux contraintes : tout d'abord, la puissance de calcul des machines restreint le nombre de tétraèdres envisageables - c'est le facteur le plus critique ; ensuite du point de vue physique, le tétraèdre le plus petit dans le domaine poreux doit être suffisamment grand pour respecter l'approximation des milieux continus exprimé ici par la loi de Darcy qui est utilisée pour résoudre l'écoulement dans le domaine. En l'occurrence, l'échelle d'observation doit contenir à la fois la phase fluide et la phase solide du milieu poreux afin que la définition locale des variables de pression, vitesse et concentration soit fondée par rapport à ces équations. Ici, le maillage a été réalisé d'abord avec un algorithme d'Octree sur lequel a été appliqué l'algorithme de Delaunay, assurant la progressivité spatiale souhaitée. Le nombre d'éléments du maillage est environ 440 000 tétraèdres. Après la génération du maillage, des vérifications et améliorations sur la qualité sont effectuées. Les vérifications consistent à identifier et résoudre les erreurs et problèmes possibles : les éléments dupliqués, les faces non couvertes, l'orientation des volumes et des surfaces, les arêtes multiples, les arêtes seules, les vertex non connectés et les vertex non-repliés. Un lissage global du maillage est ensuite appliqué pour améliorer la qualité géométrique des tétraèdres : 5 itérations de lissage avec un critère de qualité à 0.5. Le maillage est ensuite exporté vers Ansys CFX [116].

2.3.3 Modèle

2.3.3.1 Mécanismes

Le gel est décrit comme un milieu poreux rigide homogène et isotrope défini par une phase solide occupée par les chaînes de polymères et les molécules d'eau liées, et une phase fluide constituée du volume complémentaire interstitiel rempli ici d'eau saline. Le domaine est ainsi caractérisé par sa porosité, sa tortuosité et sa perméabilité hydraulique. Le modèle considère l'écoulement à la sortie de l'aiguille dans le gel (partie hydrodynamique) et le transport de l'agent sur tout le domaine par convection et diffusion moléculaire (partie transport). Les équations hydrodynamiques se résument ici à l'équation de Darcy qui décrit l'écoulement laminaire en milieu poreux, couplés à une équation de conservation de la masse. L'équation de transport en milieu poreux est décrite avec des termes de convection-diffusion. Ce système d'équations s'écrit :

$$\begin{cases} \vec{v}_d = -\kappa \overrightarrow{\text{grad}} p_i & (1) \\ \text{div}(\rho \vec{v}_d) = 0 & (2) \\ \frac{\partial(C_i)}{\partial t} + \text{div}(\vec{v}_i C_i) = \text{div}(D_{eff} \overrightarrow{\text{grad}} C_i) & (3) \end{cases}$$

Eq. 95

Avec v_d ($m.s^{-1}$) la vitesse de Darcy du fluide interstitiel ; v_i ($m.s^{-1}$) la vitesse interstitielle du fluide ; p_i (Pa) la pression interstitielle ; κ ($m^3.s.kg^{-1}$) la conductivité hydraulique du tissu ; ρ ($kg.m^{-3}$) la masse volumique du fluide ; D_{eff} ($m^2.s^{-1}$) le coefficient de diffusion moléculaire de l'agent dans le tissu ; C_i ($mol.m^{-3}$) la concentration interstitielle d'agent.

2.3.3.2 Paramètre du modèle

2.3.3.2.1 Fluide

Le fluide injecté expérimentalement est du sérum physiologique concentré à $1 mM = 1 mol.m^{-3}$ de Gd-DOTA. A cette très faible concentration, on néglige l'influence du Gd-DOTA sur les propriétés de masse volumique et viscosité du fluide. Le sérum physiologique est une solution d'eau saline que l'on peut assimiler à de l'eau en termes de propriétés rhéologiques. Sur cette base, le fluide est Newtonien et il est décrit par sa masse volumique et sa viscosité dynamique à la température donnée. Lors des expériences dans la salle RMN, la température de la pièce était $22^\circ C$. La viscosité dynamique de l'eau à cette température et à pression atmosphérique est $0.955 mPa.s$; la masse volumique est $997.86 kg.m^{-3}$. Nous avons considéré dans le modèle une viscosité dynamique du fluide de $0.95 mPa.s$ et une masse volumique de $998 kg.m^{-3}$.

2.3.3.2.2 Porosité effective

D'après Johnson *et al.* 1996 [117] et Pluen *et al.* 1999 [118], dans un gel agarose, la fraction volumique de fibres d'agarose ψ peut se calculer selon la formule :

$$\psi = \frac{c_{\text{agarose}}}{\rho_{\text{agarose}} \cdot \omega_{\text{agarose}}}$$

Eq. 96

Où c_{agarose} est la concentration en agarose dans le gel (w/v) et ρ_{agarose} est la densité de l'agarose sec ($1.64 g.mL^{-1}$ d'après Laurent *et al.* 1967 [119]). ω_{agarose} est la fraction massique d'agarose dans une fibre (0.625 d'après Johnson *et al.* 1995 [120]), facteur de conversion qui tient compte de la présence de molécules d'eau liées à l'intérieur des fibrilles d'agarose hélicoïdales. Pour un gel agarose 0.6% (w/v), la fraction volumique de fibres est donc $\psi = 0.0058$, soit une fraction volumique en eau estimée ainsi à $\phi = 1 - \psi = 99.42\%$.

Cependant, les travaux utilisant les gels agarose comme fantôme CED montrent que les volumes de distribution mesurés *in vitro* pour un certain volume injecté correspondent à une fraction volumique en eau nettement plus faible que celle évaluée à partir de la taille des fibrilles d'agarose. Chen *et al.* 2004 [48] obtiennent sur des gels agarose 0.6% un rapport $Vd / Vi = 10$ contre 7.1 sur le cerveau de cochon pour des volumes injectés entre 0 et $90 \mu L$ avec des débits de 0.5 et $1 \mu L.min^{-1}$. En supposant une faible influence de la diffusion moléculaire sur le volume de

distribution pendant l'injection, le rapport V_i / V_d représente une estimation de la porosité effective du gel. Ici, cela donnerait une porosité effective de 10 %. Cependant, Chen *et al.* n'explicitent pas de valeur de cette porosité mais ils discutent le fait que les « volumes d'exclusion » pour le gel agarose 0.6% et le cerveau sont similaires, ce qu'ils présument être pour le gel la conséquence d'une différence importante entre le volume occupé par l'agarose déshydraté et le volume total (Chen *et al.* 2008 [113]) qui ne seraient pas accessibles aux composés hydrophiles de faible poids moléculaire.

Bauman *et al.* 2004 [121] étudient également sur des gels agarose 0.6 % l'influence de la présence de bulles d'air dans le cathéter lors de l'injection. Bien que cela ne soit pas référencé, les calculs qu'ils mènent en discussion pour estimer les ordres de grandeur de vitesse interstitielle du fluide font l'hypothèse d'une porosité d'environ 0.2 pour ce type de gel. Chen *et al.* 2002 [44] font une comparaison entre des mesures optiques de bleu de bromophénol injecté en CED dans des gels agarose 0.2 % à des débits variant entre 0.5 et 10 $\mu\text{L} \cdot \text{min}^{-1}$ ainsi qu'un modèle prédictif de type poroélastique. La porosité avant déformation choisie dans leur modèle est 25 %, non référencée. Une étude analytique et numérique du transport des macromolécules dans les gels couplée avec des déformations mécaniques est proposée par Netti *et al.* 2003 [109]. Dans leur analyse, ils utilisent une porosité de 0.2 en référence à Jain 1987 [67]. Chen *et al.* 2008 [113] proposent de quantifier les concentrations de Gd-DTPA injecté dans un hydrogel d'agarose 1 % (w/w) par imagerie IRM puis de les comparer à un modèle numérique en géométrie simplifiée type cavité sphérique. Leur modèle s'appuie sur une estimation de la porosité du gel à partir du volume de distribution estimé du Gd-DTPA dans le gel. Il trouve ainsi un rapport $V_i / V_d = 60 \%$ ainsi qu'une concentration maximale mesurée de $6.4 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ avec une solution d'injection à $10 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$. Pour notre modèle, il est difficile d'évaluer la porosité effective du gel agarose 0.6 % (w/v) en se basant sur les travaux semi-empiriques de la littérature (Johnson *et al.* 1996 [117], Pluen *et al.* 1999 [118]) car on ne peut pas connaître précisément le volume poreux fluide accessible au liquide injecté par CED. Nous préférons alors l'estimer à partir des mesures IRM que nous avons faites sur ces gels en faisant le calcul du rapport V_i / V_d . Pour 3 gels agarose 0.6 % injectés à $0.5 \mu\text{L} \cdot \text{min}^{-1}$ pendant 40 min, nous avons estimé le volume de distribution à 5% de la concentration injectée à environ 70 μL . Cela nous donne un rapport V_i / V_d d'environ 30 %. Nous retenons donc une porosité effective de 30 % pour les gels agarose 0.6 % modélisées ici.

2.3.3.2.3 Coefficient de diffusion effectif

Dans un milieu libre, le coefficient de diffusion libre d'une molécule D_0 ($\text{m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$) peut s'estimer à partir de la formule de Stokes-Einstein :

$$D_0 = \frac{k_b T}{6 \pi \eta R_h}$$

Eq. 97

Où T (K) est la température de la solution, η ($\text{kg} \cdot \text{m}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$) sa viscosité dynamique, R_h (m) le rayon hydrodynamique de la molécule qui diffuse et k_b ($\text{J} \cdot \text{K}^{-1}$) la constante de Boltzmann.

Dans les gels d'agarose qui forment un réseau de fibres dont l'architecture dépend la concentration en agarose, le coefficient de diffusion effectif D_{eff} de la molécule considérée dans le gel est réduit

en raison d'effets hydrodynamique et stérique liés au milieu et à la molécule. Il existe différents modèles dans la littérature permettant d'estimer le rapport D_{eff}/D_0 dans les milieux poreux de type gels ou tissus biologiques. Les plus complets tiennent compte de la fraction volumique de fibres, du rayon des fibres, de la perméabilité hydraulique du gel, de sa porosité ainsi que de constantes. Ici, nos gels agarose sont concentrés à 0.6 % (w/v). D'après Urciolo *et al.* 2008 [122], en mesurant le coefficient de diffusion de l'albumine de sérum bovin fluorescente (FITC) par la technique FRAP (« Fluorescence Recovery After Photobleaching ») dans une solution libre ou dans des gels d'agarose concentrés à 2, 4 et 6 % (w/v), ils estiment le facteur D_{eff}/D_0 à respectivement 0.81, 0.53 et 0.41. Par ailleurs, Nicholson *et al.* 1993 [123] utilisent des gels agarose 0.3 % comme mesure de référence D_0 pour comparer à des mesures de D_{eff} *in vivo* sur des coupes corticales de rat. Ils considèrent qu'aux faibles concentrations en agarose du gel, la diffusion de leurs molécules dextran dans le gel est suffisamment peu restreinte pour pouvoir être assimilée à une diffusion libre. Ils font référence à Schantz *et al.* 1962 [124] qui observent pour des grosses molécules autres que des protéines chargées une réduction du coefficient de diffusion de 3 à 5 % dans des gels agar 1.5 % (w/v). Puis Slade *et al.* 1966 [125] trouvent pour des petits cations diffusant dans de l'agar la relation $D_{eff}/D_0 = 1/(1 + 0.023 w)$ avec w le pourcentage massique d'agar. D'autres références (Ackers *et al.* 1962 [126], Jain *et al.* 1990 [127]) trouvent une diffusion effective significativement restreinte pour des protéines chargées dans des gels agar 0.2 % (w/v). Nicholson conclut finalement pour ses gels agarose 0.3 % et ses molécules dextran de taille variant de 3 à 70 *kDa* que leurs erreurs de mesure du coefficient de diffusion libre dans les gels due à l'obstruction de l'agarose est de moins de 1 %. Ici, le Gd-DOTA a un rayon hydrodynamique d'environ 1 nm et un poids moléculaire de 560 *Da* (Guerbet®). Nous faisons donc l'hypothèse qu'étant donné la faible taille de la molécule ainsi que la faible concentration en agarose du gel, la diffusion du Gd-DOTA dans le gel d'agarose 0.6 % est sensiblement la même qu'en solution pure :

$$D_{eff} \approx D_0 = \frac{k_b T}{6 \pi \eta R_h}$$

Eq. 98

A 22°C, avec $\eta = 0.95 \text{ kg.m}^{-1}.\text{s}^{-1}$, $R_h = 1 \text{ nm}$ et $k_b = 1.38065.10^{-23} \text{ J.K}^{-1}$, on trouve $D_{eff} = 2.28 \times 10^{-10} \text{ m}^2.\text{s}^{-1}$. Cette valeur est du même ordre de grandeur que celle rapportée par Dawe *et al.* 2008 [128] qui évalue le coefficient de diffusion effectif du bleu trypan (poids moléculaire 961 *Da*) dans un gel agarose 0.6 % (w/v) à partir d'un fit entre profils de concentrations théoriques et profils expérimentaux. Ils trouvent $D_{eff} = 2.8 \times 10^{-10} \text{ m}^2.\text{s}^{-1}$, soit une différence relative avec notre calcul de l'ordre de 20 %.

2.3.3.2.4 Perméabilité hydraulique

Johnson *et al.* 1996 [117] ont évalué la perméabilité hydraulique de membranes en gels d'agarose concentrés à 2, 3.9, 5.6 et 7.3 % (w/v) en appliquant des pressions variant de 3 à 20 *kPa*. Ils trouvèrent que la perméabilité hydraulique variait principalement avec la concentration en agarose du gel et, de façon secondaire, selon la pression appliquée (perméabilité réduite d'un facteur ~ 2 à 20 *kPa* par rapport à la valeur extrapolée à pression nulle). La perméabilité extrapolée à pression nulle est 616 nm^2 pour le gel 2 %, 132 nm^2 pour le gel 3.9 %, et 22 nm^2 pour le gel 7.3 %. Par

ailleurs, la perméabilité hydraulique est une grandeur dont la racine est une estimation de l'ordre de grandeur de la taille des pores du milieu poreux (Scheidegger 1958 [129]). Elle est d'ailleurs largement utilisée dans la plupart des modèles de diffusion effective évoquées dans la littérature. Ici, la perméabilité mesurée par Johnson *et al.* 1996 [117] pour un gel agarose 2 % est 616 nm^2 soit une taille de pores de l'ordre de 25 nm . Johnson *et al.* proposent un fit de la perméabilité k en fonction de la fraction volumique de fibres d'agarose ψ pour les mesures faites à 20 kPa de pression appliquée : $K(20 \text{ kPa}) = 0,0244 \cdot \psi^{-2.45}$. Bien que ce fit soit fait avec les données de perméabilité à 20 kPa et non à partir des données extrapolées à une pression appliquée nulle, on s'en sert pour estimer l'ordre de grandeur de la perméabilité d'un gel agarose 0.6 % (w/v). Une seconde approximation dans cette estimation consiste à supposer que les gels agarose concentrés à moins de 2% (w/v) suivent cette formule empirique. Le calcul pour une fraction volumique de fibres de 0.0058 (*cf.* paragraphe « porosité » -ci-dessus) conduit à une perméabilité d'environ $7400 \text{ nm}^2 = 7.4 \times 10^{-15} \text{ m}^2$; et en prenant la racine, la taille de pore est estimée à 85 nm . D'après ces éléments, nous avons choisi ici de considérer une taille de pore du gel d'agarose 0.6% (w/v) de l'ordre de 100 nm , ce qui amène à une perméabilité hydraulique de l'ordre de $(100 \text{ nm})^2$ soit 10^{-14} m^2 . A titre comparatif, Chen *et al.* 2008 [113] prennent dans leur modèle numérique d'hydrogel agarose 1 % (w/w) une conductivité hydraulique $\kappa = 1.42 \times 10^{-12} \text{ m}^3 \cdot \text{s} \cdot \text{kg}^{-1}$ mesuré avec un perméamètre, ce que l'on peut ramener à une perméabilité hydraulique d'environ $K = 1.42 \times 10^{-15} \text{ m}^2$ en considérant une viscosité de $1 \text{ mPa} \cdot \text{s}$; soit un ordre de grandeur en moins que notre estimation, sachant que les gels n'ont pas les mêmes concentrations d'agarose.

2.3.3.2.5 Résumé des paramètres de simulation

Le Tableau 12 ci-dessous résume les différents paramètres physiques du modèle :

Type	Grandeur	Notation	Valeur
Injection	Débit volumique ($\mu\text{L} \cdot \text{min}^{-1}$)	Q_0	0.3 – 0.5 – 2.5
	Durée d'injection (min)	T_{inj}	67 - 40 – 8
	Volume injecté (μL)	V_i	20
Fluide et soluté	Température ($^{\circ}\text{C}$)	T	22
	Viscosité dynamique ($\text{mPa} \cdot \text{s}$)	η	0.95
	Masse volumique ($\text{kg} \cdot \text{m}^{-3}$)	ρ	998
	Concentration (mM)	C_0	1
	Coefficient de diffusion ($\text{m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$)	D_{eff}	$2,28 \cdot 10^{-10}$
Aiguille	Diamètre extérieur (mm)	d_{ext}	0.8
	Diamètre intérieur (mm)	d_{int}	0.5
Propriétés du gel	Porosité effective	ϕ	0.30
	Perméabilité hydraulique (m^2)	$K = \eta \kappa$	$1 \cdot 10^{-14}$

Tableau 12: Paramètres physiques du modèle.

2.3.3.2.6 Applicabilité de l'équation de Darcy

D'après les paramètres résumés ci-dessus, nous pouvons vérifier la validité du modèle de Darcy (Bear 1972 [130]) pour ce modèle. En effet, la loi de Darcy suppose que les effets d'inertie de l'écoulement sont négligeables. Pour vérifier cette hypothèse, le nombre de Reynolds Re permet la comparaison entre forces d'inertie et forces visqueuses de l'écoulement :

$$Re = \frac{\rho L v}{\eta}$$

Eq. 99

Avec L (m) une longueur caractéristique de la géométrie d'écoulement, et v ($m.s^{-1}$) une vitesse caractéristique de l'écoulement à l'échelle de L . Si on calcule le nombre de Reynolds dans l'aiguille où le fluide s'écoule (notation Re_{needle}), la longueur caractéristique est le diamètre interne de l'aiguille et une vitesse caractéristique est par exemple la vitesse moyenne transverse pour un débit d'injection donné. Si on considère l'écoulement dans les pores du gel tout proche de la sortie de l'aiguille (notation Re_{poreux}), la longueur caractéristique est par exemple la taille caractéristique d'un pore du gel (ici 100 nm) et la vitesse caractéristique est par exemple la vitesse interstitielle moyenne du gel sur la section de sortie de l'aiguille, c'est-à-dire la vitesse moyenne du fluide dans l'aiguille divisée par la porosité du gel. Le Tableau 13 ci-dessous résume les valeurs du nombre de Reynolds selon que l'on considère l'écoulement dans l'aiguille, ou dans le gel à la sortie proche de l'extrémité de l'aiguille, et selon le débit d'injection :

Q_0 ($\mu L.min^{-1}$)	0.1	0.5	2.5	5	10
Re_{needle}	4.5×10^{-3}	2.2×10^{-2}	1.1×10^{-1}	2.2×10^{-1}	4.5×10^{-1}
Re_{porous}	3.0×10^{-6}	1.5×10^{-5}	7.4×10^{-5}	1.5×10^{-4}	3.0×10^{-4}

Tableau 13 : Valeurs de Reynolds dans l'aiguille ou dans le poreux selon le débit d'injection.

Avec un nombre de Reynolds qui reste systématiquement inférieur à 1 selon ces paramètres, il est justifié de négliger ici les termes d'inertie de l'écoulement et la loi de Darcy est bien applicable (Bear 1972 [130]).

2.3.3.2.7 Etapes du modèle, conditions aux limites et résolution numérique

Etapes du modèle

La résolution des équations d'hydrodynamique et de transport est réalisée séparément. Nous considérons ici que lorsque la pompe impose le débit au travers du prolongateur et du cathéter, le débit s'établit instantanément à la sortie de l'aiguille. Selon les conditions de notre modèle, l'hydrodynamique influence la partie transport de l'espèce. Le transport de l'agent dans le milieu n'influence pas en retour l'écoulement. Ce ne serait pas le cas par exemple si la viscosité du fluide injecté dépendait de la concentration de l'espèce auquel cas il y aurait un couplage fort entre les deux mécanismes. Nous faisons donc en premier lieu la résolution des équations d'hydrodynamique - loi de Darcy et loi de conservation de la masse - en régime permanent pour le débit d'injection donné ce qui détermine le champ de pression et de vitesse du fluide dans le gel. Nous résolvons ensuite l'équation de convection-diffusion du Gd-DOTA en régime transitoire

pendant toute la durée d'injection. Ce calcul transitoire utilise comme vitesse, à tout instant du calcul, la vitesse interstitielle obtenue précédemment en résolvant les équations d'hydrodynamique en régime permanent.

Conditions aux limites : cf. p. 43

Résolution numérique

- 1) Hydrodynamique : l'équation de conservation de la masse et l'équation de Darcy sont résolues en régime permanent. A $t = 0$, toutes les variables (pression et vitesse) sont initialisées à 0 sur l'ensemble du domaine.

Le schéma numérique utilisé dans CFX-Pre est « High Resolution », le schéma le plus précis parmi les autres schémas disponibles (« Upwind » et « Specified Blend Factor »). La convergence du calcul est contrôlée par le calcul du résidu de type Root Mean Square (RMS) sur plusieurs itérations. Le calcul converge si ce résidu devient inférieur à un seuil (résidu cible) avant d'avoir atteint le nombre maximal d'itérations. Ici, nous avons fixé le résidu cible à 10^{-6} et le nombre maximal d'itérations à 100. La définition du résidu dans Ansys-CFX est expliquée en Annexe « calcul du résidu ». Bien que la résolution des équations d'écoulement soit faite ici en régime permanent, Ansys-CFX utilise un algorithme de faux transitoire qui nécessite de définir un pas de temps qui permet de faire relaxer les équations, selon l'idée que l'état quasi-stationnaire résulte de la convergence d'un régime transitoire [131]. Ici, les paramètres de temps du solveur sont configurés par défaut en « Auto Timescale control » : le solveur définit un pas de temps à partir des conditions aux limites et des conditions initiales définies par l'utilisateur, ainsi que des dimensions géométriques du domaine (Length scale option : conservative). Nous avons vérifié que les pas de temps définis en mode automatique par le solveur sont cohérents pour les trois débits considérés ici, et que les résultats de calcul avec des pas de temps de calcul imposés sont indifférents de ceux avec le pas de temps défini en mode auto par le solveur, y compris pour des pas de temps inférieurs. Le paramètre critique de qualité du résultat est la valeur du résidu cible que l'on a montré devant être inférieur à 10^{-5} pour avoir un débit effectif sur la section de l'aiguille suffisamment près de la valeur utilisateur définie. Par exemple, pour $Q_0 = 0.5 \mu L \cdot min^{-1}$, avec un résidu cible de 10^{-6} , on trouve un débit effectif de $0.496 \mu L \cdot min^{-1}$, ce qui se traduit sur une simulation de transport CED pendant 40 min à partir de cette solution de vitesse par une différence de quantité injectée de Gd-DOTA inférieure à 1 % à la fin de l'injection par rapport à la quantité théorique (20 nmol). Les calculs sont faits en double précision plutôt qu'en simple étant donné les très faibles valeurs de certaines grandeurs comme la perméabilité hydraulique dans notre cas, ce qui peut être critique pour la convergence du calcul dans certaines conditions avec le mode simple précision. La fiabilité de ce résultat, en plus des critères de convergence, peut-être estimée en faisant un bilan de masse et quantité de mouvement sur le domaine entre les régions définies comme Inlet et celles définies comme Outlet. On s'assure que l'écart relatif entre les flux entrant/sortant du domaine pour chacune des équations est inférieur à 3 %. En pratique ici, ces écarts sont très inférieurs à 1% avec les conditions de résidu cible définies ci-dessus.

Conditions aux limites pour chaque étape du modèle

	Surfaces du domaine poreux				
	Aiguille			Frontières du gel	
	Section de sortie de l'aiguille (NEEDLE_TIP_SURF)	Surface associée à l'épaisseur de l'aiguille (NEEDLE_OUT_SURF)	Surface latérale de l'aiguille (NEEDLE_LAT_SURF)	Surface du verre (GLASS)	Surface du gel (GEL_SURF)
Hydrodynamique	Boundary type : Inlet Condition : Mass flow rate Value : ρQ_v Flow direction : normal to boundary	Boundary type : Wall Wall influence : no slip $\vec{v} = \vec{0}$	Boundary type : Wall Wall influence : no slip $\vec{v} = \vec{0}$	Boundary type : Wall Wall influence : no slip $\vec{v} = \vec{0}$	Boundary type : Opening Condition : opening pressure (entrainment) Relative pressure : 0 Pa
Transport CED (convection diffusion)	Boundary type : Inlet Concentration: Value = C_0	Boundary type : Wall Concentration: ZeroFlux $(\vec{v}C - D_{eff}\vec{\nabla}C) \cdot \vec{n} = 0$	Boundary type : Wall Concentration: ZeroFlux $(\vec{v}C - D_{eff}\vec{\nabla}C) \cdot \vec{n} = 0$	Boundary type : Wall Concentration : ZeroFlux $(\vec{v}C - D_{eff}\vec{\nabla}C) \cdot \vec{n} = 0$	Boundary type : Wall Concentration = ZeroFlux $(\vec{v}C - D_{eff}\vec{\nabla}C) \cdot \vec{n} = 0$

- 1) Hydrodynamique : une traduction simple de l'écoulement en condition limite dans Ansys CFX-Pre est d'imposer un débit sur la section de sortie de l'aiguille. Les parois de l'aiguille ainsi que la surface du verre sont décrites comme des murs avec une condition de non glissement. La surface de sortie du fluide est la surface du gel où on impose une pression relative nulle avec une condition type « Opening » qui autorise l'entrée / sortie de fluide étant donné que la vitesse du fluide loin de la sortie de l'aiguille est quasiment nulle.
- 2) Transport CED : la source de Gd-DOTA dans l'équation de transport est définie à partir de la condition limite de concentration imposée sur la section de sortie de l'aiguille pour toute la durée de l'injection. Toutes les autres surfaces du domaine sont considérées comme des murs, c'est-à-dire que le flux moléculaire (convectif et diffusif) est nul au travers de ces surfaces.

- 2) Transport CED : l'équation de transport est résolue en régime transitoire sur la durée T_{inj} . La non-résolution des équations d'écoulement est forcée dans CFX-Pre. Seule l'équation transport est résolue. A $t = 0$, la concentration est initialisée à 0 mM sur l'ensemble du domaine. L'initialisation de la vitesse est faite dans le solveur CFX-Solve à partir du fichier résultat de la partie hydrodynamique.

Le schéma numérique de résolution dans CFX-Pre est également « High Resolution ». Il est associé pour la partie transitoire à l'algorithme d'Euler second ordre explicite, plus précis que l'autre algorithme disponible qui est du premier ordre (« First order backward Euler »). Le résidu cible (RMS) est fixé à $5 \cdot 10^{-5}$. A chaque pas de temps donné du transitoire de concentration, le control de la convergence se fait avec les paramètres : « Max coefficient loops = 50 », et « Fluid timescale control : coefficient loops ». Le transitoire de concentration lui-même est contrôlé avec un pas de temps fixé par l'utilisateur. Nous estimons ce pas de temps à partir des données hydrodynamiques en sortie d'aiguille. En l'occurrence, le pas de temps s'estime habituellement comme une fraction du temps de résidence du fluide dans le domaine, typiquement [131]:

$$\Delta t \approx \frac{1}{3} \frac{L}{U} = \frac{1}{3} \frac{\phi_{int}}{\left(\frac{Q_v}{\pi \phi_{int}^2 / 4} \right)}$$

Eq. 100

Avec L une longueur caractéristique de la géométrie d'écoulement ici le diamètre interne de l'aiguille, U une vitesse caractéristique de l'écoulement ici pris comme la vitesse moyenne du fluide sur la section interne de l'aiguille. Ce calcul aboutit aux pas de temps suivants pour les trois débits considérés :

Q_0 ($\mu\text{L}/\text{min}$)	0.3	0.5	2.5
Δt (s)	$6.5 \approx 4$	4	$0.8 \approx 0.5$

Tableau 14: Valeurs des pas de temps de calcul de la simulation de transport CED selon le débit d'injection Q_0 .

2.3.3.2.8 Analyse des données simulées

Nous avons extrait de ces données des paramètres comparables aux données expérimentales. En particulier, le volume de distribution à 5 %, la quantité de Gd-DOTA présente dans ce volume, les profils de concentration à la sortie du cathéter ont été évalués. Concernant le volume de distribution, la méthode de calcul initialement implémentée dans CFX-Post basé sur un isovolume s'est révélée sensible au maillage non linéairement en fonction du temps d'injection, étant donné l'adaptation du maillage localement autour de l'aiguille. Nous avons défini avec le support une méthode de calcul par seuillage qui s'affranchit de cette limitation (lissage implicite de l'isosurface) et évite d'augmenter le nombre d'éléments du maillage à plus d'un million. On peut ainsi bien estimer ce volume avec un nombre d'éléments correct. Par ailleurs, les profils de concentration ont été extraits puis mis en forme sous CFX-Post afin de simuler l'effet de volume partiel du à la taille des voxels d'imagerie.

Les résultats essentiels de ces calculs sont présentés dans la section suivante, en superposition avec les données expérimentales.

2.4 Résultats expérimentaux et simulés

La Figure 66 ci-dessous indique la distribution de Gd-DOTA simulée en fin d'injection pour un débit de $0.5 \mu\text{L} \cdot \text{min}^{-1}$. La distribution est nettement sphérique, et pratiquement centrée sur l'extrémité de sortie du cathéter.

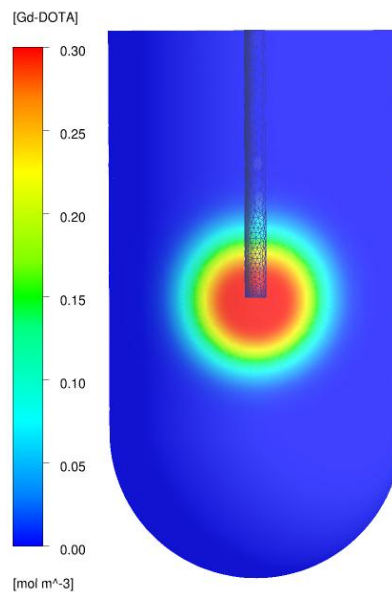


Figure 66 : Tracé à l'instant de fin d'injection d'une coupe longitudinale dans la distribution simulée de 20 μL de Gd-DOTA administré à un débit de $0.5 \mu\text{L} \cdot \text{min}^{-1}$. Concentration d'injection : 1 mM.

Nous représentons sur la Figure 67 ci-dessous les profils de concentration obtenus expérimentalement avec les données simulées à 0.3 et $2.5 \mu\text{L} \cdot \text{min}^{-1}$. Les profils de concentration simulés présentent un gradient de concentration de concentration plus fort à $2.5 \mu\text{L} \cdot \text{min}^{-1}$ qu'à $0.3 \mu\text{L} \cdot \text{min}^{-1}$ ainsi qu'un plateau de concentration central est plus large. Expérimentalement, les profils ont une allure similaire, hormis dans la région centrale, plus étroite où la concentration associée est plus élevée, en particulier à $2.5 \mu\text{L} \cdot \text{min}^{-1}$. Les gradients de concentration en périphérie de distribution sont similaires. Ces courbes laissent entendre *via* leurs intersections avec le seuil 0.05 mM que les volumes de distribution à 5 % sont surestimés par le modèle numérique.

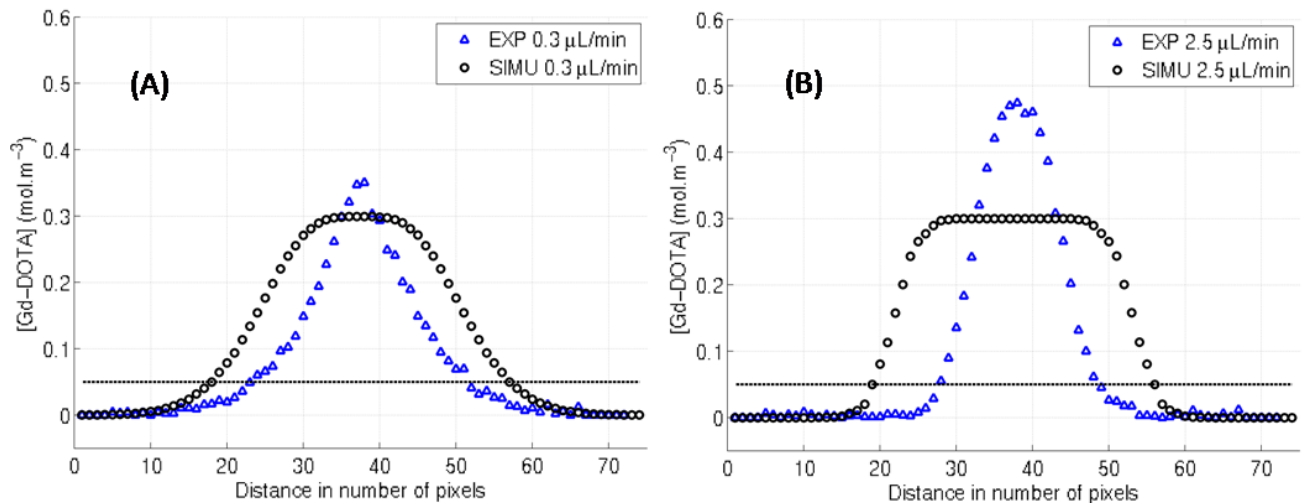


Figure 67 : Comparaison à l'instant de fin d'injection de 20 µL de Gd-DOTA des profils de concentration expérimentaux et simulés à 0.3 (A) et 2.5 µL.min⁻¹ à la sortie du cathéter. Les profils simulés ont été moyennés selon Z pour correspondre à l'effet de volume partiel des voxels d'imagerie (1.3 mm d'épaisseur de coupe). La ligne en pointillés noirs indique le seuil à 5 % de la concentration d'injection, utilisé dans le calcul du volume de distribution.

Nous représentons sur la Figure 68 ci-dessous les résultats comparés en termes de volume de distribution à 5 % de la concentration d'injection, ainsi que la quantité molaire d'agent de contraste calculée dans ce volume. Ces données sont représentés en fonction du volume injecté de 0 à 20 µL.

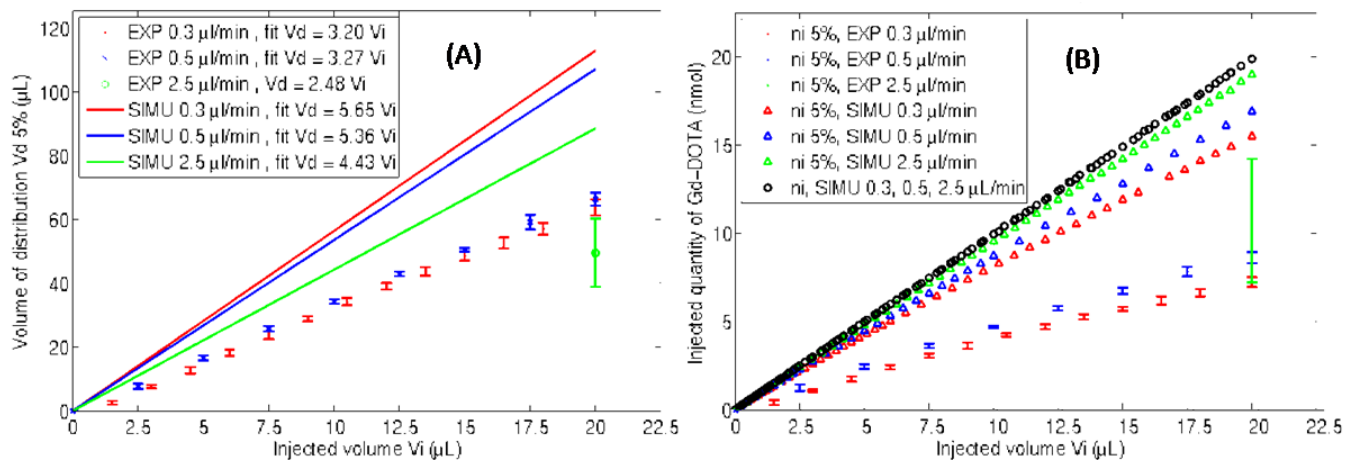


Figure 68 : Comparaison en fonction du volume injecté des données expérimentales et simulées pour les trois débits étudiés de : (A) volume de distribution à 5 % de la concentration d'injection ; (B) la quantité molaire calculée dans ce volume. La quantité expérimentalement administrée est 20 nmol.

Pour les trois débits de l'étude 0.3, 0.5 et 2.5 µL.min⁻¹, nous trouvons par le modèle numérique un volume de distribution à 5 % de la concentration d'injection qui augmente linéairement avec le volume injecté (cf. Figure 68 (A)), avec une plage de variation en fin d'injection entre 90 et 114 µL. Les rapports volume de distribution sur volume injecté sont respectivement 5.65, 5.36 et 4.43. Pour les données expérimentales, le volume de distribution augmente aussi linéairement en fonction du temps, comme nous l'avons vu Figure 59, p. 102. Cela dit, nous trouvons des pentes fittées différentes : le rapport volume de distribution sur volume injecté est ici de 3.20, 3.27 et 2.48 respectivement aux trois débits. De plus, les volumes de distributions atteints en fin d'injection sont

plus élevés à bas débit qu'à fort débit. On notera qu'un modèle analytique de transport majoritairement convectif en milieu poreux rigide homogène et isotrope indique que le facteur de proportionnalité entre volume de distribution $Vd_{5\%}$ et volume injecté V_i ne dépend pas du débit d'injection Q_0 mais seulement de la fraction volumique en eau ϕ , cf. section 1.3.2.6, p. 25.

La description des courbes transitoire de quantité de Gd-DOTA présente dans le volume de distribution à 5 % est la suivante. Pour les données simulées comme expérimentales, cette quantité augmente en fonction du volume injecté, avec une évolution linéaire pour les simulations. Nous trouvons que cette quantité calculée dans $Vd_{5\%}$ est plus élevée au fort débit qu'à 0.3 et 0.5 $\mu L \cdot min^{-1}$, à la fois en simulé qu'en expérimental. Les valeurs simulées sont toutefois significativement plus élevées que les données expérimentales (de -78 à -115 % pour les trois débits en fin d'injection). A titre comparatif, la courbe en noir indique (données simulées) la quantité de Gd-DOTA calculée dans *tout* le volume du gel et non pas seulement dans le volume de distribution du traceur, et représente la superposition des points pour les trois débits simulés. On constate que ces points se superposent et atteignent effectivement 20 nmol en fin d'injection. Ces données suggèrent que dès que ce calcul de quantité est mené dans le volume de distribution à 5 %, une partie de la quantité périphérique est exclue du volume de distribution, et ce dans des proportions différentes selon le débit.

2.5 Discussion

Nous avons réalisé ici des développements méthodologiques en collaboration qui ont permis de faire le suivi d'infusions CED de Gd-DOTA dans des gels agarose faiblement concentrés à différents débits. L'optimisation des paramètres de séquence d'imagerie a permis de suivre quantitativement avec une estimation correcte l'arrivée de la distribution de concentration $[Gd]$ (mM) dans le milieu, pour une concentration d'injection de 1 mM adapté en termes de dynamique de mesure. Les caractéristiques d'imagerie sont une résolution spatiale dans le plan de $(150 \mu m)^2$ sur une coupe d'épaisseur 1.3 mm et une résolution temporelle d'acquisition des scans volumiques de ~ 4 minutes (suivi effectif toutes les cinq minutes). Dans ces conditions, nous n'avons pas observé d'artéfact de mouvement sur les scans pendant injection aux bas débits (0.3 et 0.5 $\mu L \cdot min^{-1}$), le premier scan étant réalisé à 5 min après début d'injection, ceci en accord avec les calculs analytiques préliminaires de transport convectif fait à 0.5 $\mu L \cdot min^{-1}$ pour une résolution spatiale de 150 μm . Les calculs analytiques menés en première partie pour quantifier l'incertitude de mesure de concentration ont indiqué une certaine sensibilité aux paramètres estimées du gel r_1 et T_{10} (incertitude cumulative d'environ 10 % sur le calcul de concentration). Le rapport signal sur bruit des cartes de concentration reconstruites a été amélioré en effectuant un filtrage médian des cartes de signal spin-écho avant injection avant d'exécuter la reconstruction, comme suggéré par une analyse de propagation d'erreurs préliminaire.

Nous avons développé en parallèle un modèle d'écoulement et de transport interstitiel du traceur dans une géométrie réaliste de gel, ce dernier étant décrit en tant que milieu poreux rigide consolidé. L'écoulement (loi de Darcy et conservation de la masse) a été calculé en régime

stationnaire puis ensuite le transport transitoire par convection-diffusion a été résolu pour les trois débits et durées d'injection de l'étude. Nous avons ainsi pu confronter données expérimentales et simulations en termes de volumes de distributions à 5 % et de quantité de traceur présent pendant injection ainsi que les profils de concentration à la sortie du cathéter en fin d'injection. Pour les données simulées, nous avons trouvé une évolution linéaire des courbes $Vd_{5\%} = f(V_i)$ et $ni_{5\%} = f(V_i)$, ce qui est cohérent avec la résolution d'une équation de transport linéaire, dominée par un terme convectif, c'est-à-dire le débit d'injection, lui-même relié au volume injecté par $V_i(t) = Q_0 t$. Pour les données expérimentales, les courbes $Vd_{5\%} = f(V_i)$ sont linéaires ($R_{corr}^2 \geq 0.997$), alors que les courbes $ni_{5\%} = f(V_i)$ s'écartent de ce comportement. La comparaison simulations - mesures suggère que le modèle surestime le volume de distribution à 5 % expérimental pendant l'injection, pour les trois débits. Des calculs préliminaires en augmentant la porosité effective dans le modèle semble suggérer qu'il est possible de réduire ces écarts de cette façon. Nous trouvons de plus que ce volume de distribution (données simulées et expérimentales) est plus élevé aux bas débits qu'à $2.5 \mu L \cdot min^{-1}$. Par ailleurs, les quantités de traceurs calculées dans le volume de distribution à 5 % par les simulations indiquent une surestimation par rapport aux données expérimentales. Ces quantités sont plus élevées en fin d'injection à fort débit qu'à faible débit (données expérimentales et simulées). En corrélation avec l'évolution des volumes de distribution selon le débit, et le fait que ces infusions durent 67, 40 et 8 minutes respectivement pour 0.3, 0.5 et $2.5 \mu L \cdot min^{-1}$, indiquent qu'une partie de la masse de traceur infusé a diffusé au-delà du seuil $0.05 mM$ pendant la durée de l'injection. Si les nombres de Peclet dans cette étude indique un transport majoritairement convectif, ces données montrent que la diffusion moléculaire joue quand même un rôle, d'autant plus sur les longues infusions. Par ailleurs, différentes explications peuvent expliquer les écarts observés entre données expérimentales et données simulées. Nous avons vu que la surestimation du volume de distribution par le modèle pouvait être liée à une sous-estimation de la porosité effective mise en entrée du modèle. De fait (données simulées), des volumes de distributions plus élevées pourraient impliquer qu'il soit plus difficile pour le traceur de diffuser au-delà du seuil $0.05 mM$ dans le temps d'injection, suggérant alors une surestimation également de la masse de traceur dans $Vd_{5\%}$ par rapport aux données expérimentales. Cela dit, une explication d'ordre expérimental pourrait suffire à expliquer ces écarts : il s'agit du reflux. Si un faible espace annulaire de fluide contenant le traceur se crée autour du cathéter à ces débits, mêmes aux plus faibles, alors il se pourrait que le champ de vitesse interstitielle soit réduit à l'extrémité du cathéter, réduisant le transport local dans le volume du gel ($Vd_{5\%} \searrow$) et par la même occasion la quantité de traceur présente dans ce dernier ($ni_{5\%} \searrow$). Autrement, ces écarts pourraient être dues à des effets de poroélasticité, comme le suggère la non-linéarité des courbes $ni_{5\%} = f(V_i)$ expérimentales à 0.3 et $0.5 \mu L \cdot min^{-1}$.

2.6 Conclusion

Nous avons développé ici une méthodologie d'imagerie IRM qui permet le suivi pendant injection de traceurs dans des gels agarose faiblement concentrés. Ces gels homogènes, isotropes et inertes permettent de simplifier les relations entre paramètres d'injection CED et distributions

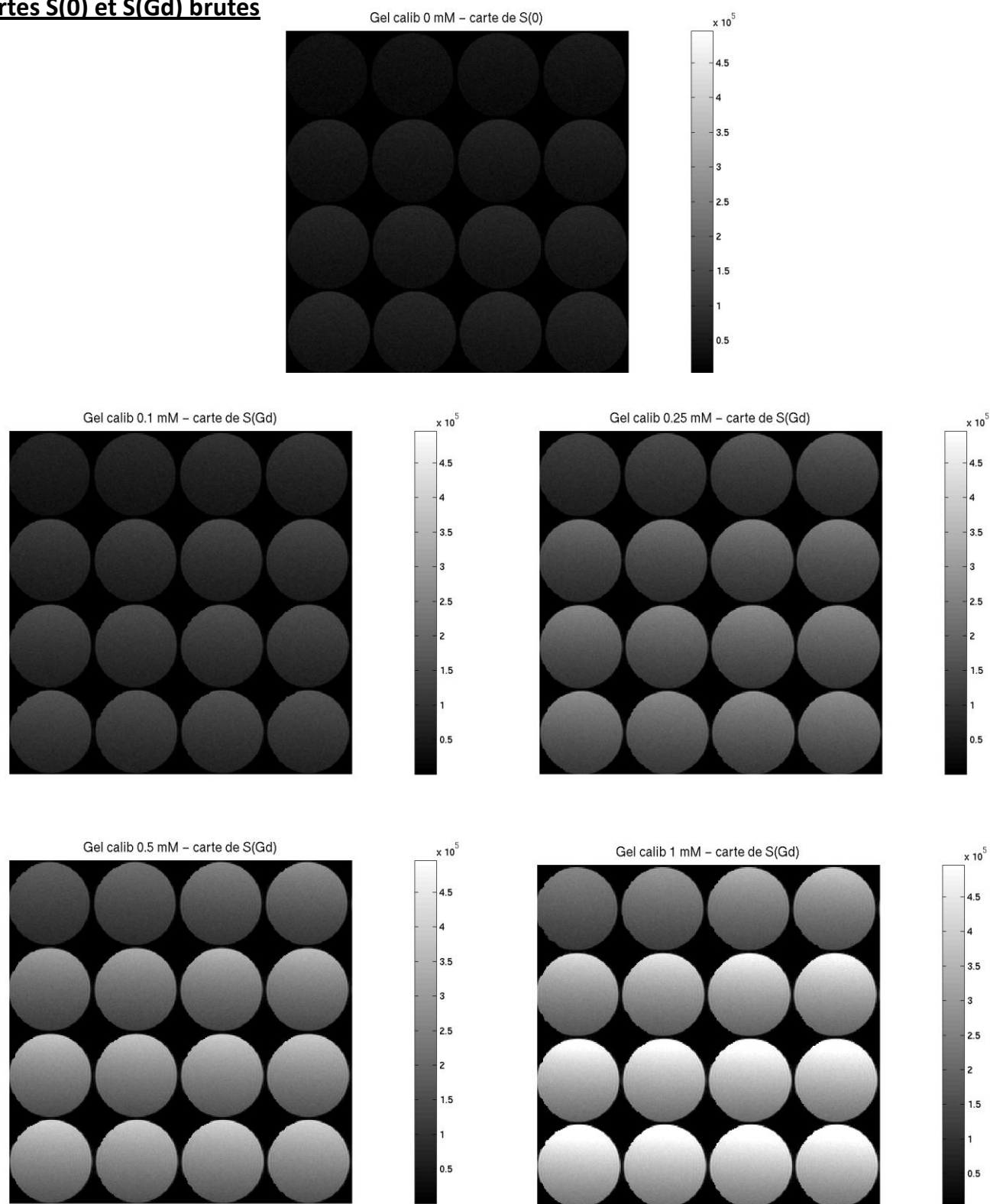
expérimentales observées. Notamment, il n'y a pas de réabsorption micro vasculaire comme dans le cerveau. En faisant varier le débit d'injection sur des plages de transport convectif prédominants (données expérimentales comparées à des données simulées), nous avons observé l'influence de ce dernier sur l'allure des profils de concentration et constaté que la diffusion moléculaire influence tout de même la distribution au travers de la durée d'infusion, pour une même quantité de traceur administrée.

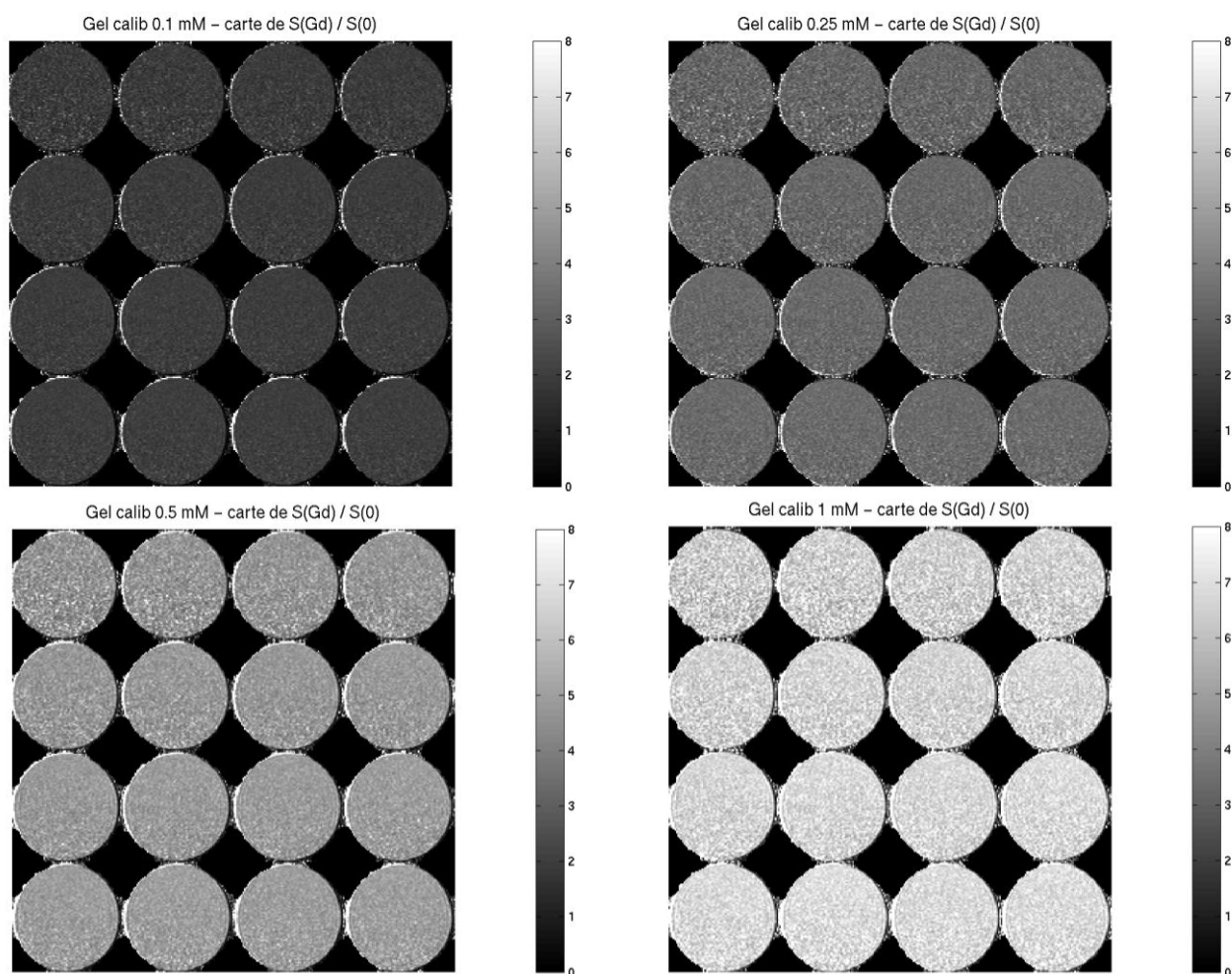
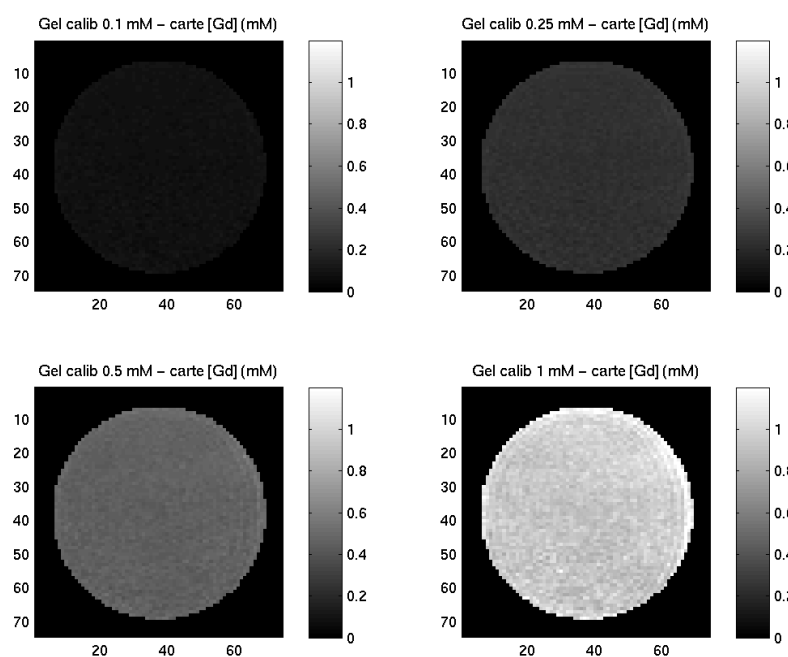
La procédure d'imagerie incluant les calibrations préliminaires suggèrent que ce type d'analyse pourrait être mené sur le petit animal. Pour une estimation quantitative des cartes de distributions de l'agent de contraste, il est nécessaire de connaître les paramètres RMN du milieu imagé, et il serait alors question de savoir comment estimer les paramètres r_1 et T_{10} afin de valoriser l'aspect quantitatif de cette méthodologie. On retiendra en effet que le signal spin-écho pour ce type de séquence n'est pas linéaire selon la concentration et que le calcul de volume de distribution par seuillage des cartes de signal spin-écho brutes est limité. Toutefois, une estimation au premier ordre de la distribution *in vivo* d'agents de contraste RMN reste bien sûr possible et a déjà été rapporté dans la littérature.

Cette méthodologie dans les gels d'agarose pourrait également servir à réaliser des études sur des fantômes de tissu cérébral pour des volumes de gel semblables aux volumes cérébraux humains. Cela pourrait servir à valider des méthodes de suivi temps réel par IRM en vue d'un transfert de la méthodologie vers des applications cliniques (*e.g.* avec un IRM intra-opératif). Cette approche serait alors de première importance pour des essais cliniques CED où il est crucial de suivre la distribution estimée d'un agent thérapeutique administré via un traceur co-injecté ou encapsulé et éventuellement corriger un protocole en cours par exemple dans le cas d'apparition de reflux (Chen *et al.* 2004 [48], Krauze *et al.* 2005-2006 [132, 133], Mardor *et al.* 2005 [40]).

Annexe 2.1 Validation algorithme sur gels calibrés

Cartes $S(0)$ et $S(Gd)$ brutes



Cartes $S(\text{Gd}) / S(0)$ brutes**Cartes $[\text{Gd}]$ (coupe 9/16, reconstruction sans filtrage $S(0)$)**

Annexe 2.2 Protocole préparation du gel agarose

Descriptif : Préparer un gel agarose à 0.6 % (masse / volume)

0,6 g d'agarose en poudre est pesé avec une balance de précision puis est mélangé à 100 mL de solution saline (chlorure de sodium à 0,9%, *Vétoflex*) dans un bécher. La solution est chauffée autour de 100°C où la dissolution complète de la poudre est observée. La solution se refroidit à température ambiante jusqu'à environ 50°C puis elle est versée dans les récipients finaux puis se gélifie lors du retour à température ambiante.

Composés utilisés :

- Poudre agarose : Agarose D5 – DNA Grade (Gelling temp: 35.9°C, Melting temp = 89.3°C) - *Euromedex*
- Solution chlorure de sodium à 0,9% (9g NaCl pour un 1L d'eau distillée) - *Vétoflex*

Protocole détaillé :

- Prélever le volume souhaité de solution NaCl (0.9%) avec une seringue gros calibre puis en verser les 3/4 dans un bécher
- Calculer la masse de poudre nécessaire pour le volume final de gel à couler, sachant que l'on veut un gel à 0.6 % (m/v), soit 600 mg d'agarose par 100mL de solution
- Tarer la balance, prélever puis peser la masse de poudre d'agarose avec la spatule
- Placer le bécher sur la plaque chauffante
- Ajouter et mettre en marche l'agitateur magnétique
- Ajouter la poudre pesée dans le bécher, et rincer les résidus de poudre dans le bécher avec le 1 / 4 restant de solution saline de la seringue
- Placer le thermomètre dans le bécher
- Couvrir le bécher avec du papier aluminium pour réduire l'évaporation
- Allumer le chauffage jusqu'à ébullition (se fier au thermomètre et non à la température lue de la plaque chauffante)
- Vérifier que la poudre est complètement dissoute puis éteindre le chauffage après quelques minutes à 100 °C
- Laisser la solution refroidir à l'ambiante jusqu'à qu'elle atteigne 50°C, toujours en agitant.
- Retirer le papier aluminium et le thermomètre
- Couler la solution dans les récipients avec un pipetman
- Couvrir chaque échantillon d'un « couvercle » plastique, caoutchouc ou papier aluminium pour éviter toute évaporation du gel jusqu'à utilisation finale
- Attendre gélification complète
- Stockage des échantillons au frigo (~5°C). Usage optimal 24 à 48h après coulage

Matériel nécessaire :

- Récipients gels : cuves BD en verre, contenance ~ 8mL
- Spatule prélèvement poudre + récipient de pesée
- Balance électronique
- Bécher
- Seringue gros calibre
- Une plaque chauffante et magnétique
- Agitateur magnétique
- Papier aluminium
- Thermomètre électronique ou à mercure
- Chiffons papier, gants, blouse

Annexe 2.3 Calcul du résidu

D'après la documentation Ansys-CFX [134]

Dans Ansys-CFX, la convergence du calcul est contrôlée par le calcul du résidu sur plusieurs itérations. Le calcul converge si ce résidu devient inférieur à un seuil (résidu cible), avant d'avoir atteint le nombre maximal d'itérations.

Le code d'Ansys-CFX résout les équations à partir d'un système discret d'équations linéarisées qui sont résolues avec un solveur itératif (« Multigrid (MG) accelerated Incomplete Lower Upper (ILU) factorization technique ») :

$$[A][\phi] = [b]$$

Avec $[A]$ une matrice de coefficients, $[\phi]$ le vecteur solution et $[b]$ un vecteur de coefficients.

Le calcul itératif du solveur consiste à déterminer une nouvelle solution à chaque itération à partir de l'ancienne :

$$\phi^{n+1} = \phi^n + \phi'$$

Le résidu R^n à l'itération n est alors défini comme : $R^n = b - A \phi^n$

Le résidu brut pour chaque variable est alors normalisé selon :

$$\tilde{R}_\phi = \frac{R_\phi}{a_p \cdot \Delta\phi}$$

Où a_p est un coefficient du volume de contrôle et $\Delta\phi$ est une valeur représentative de la variable dans le domaine.

Deux types de résidu sont définis dans Ansys-CFX : MAX et RMS

- MAX : la convergence est basée sur le résidu maximum sur l'ensemble du domaine
- RMS (Root Mean Square) : la convergence est basée sur une moyenne des résidus sur tous les volumes de contrôle :

$$Residu\ RMS = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^N R_i^2}{N}}$$

Selon les recommandations fournies par la documentation Ansys-CFX, une convergence raisonnable est obtenue pour un résidu de type MAX valant au minimum 10^{-3} , et pour un résidu de type RMS valant au minimum 10^{-4} . Ces valeurs sont celles par défaut dans le logiciel.

3. Etude de la distribution CED d'iode *in vivo* par TQRS

Résumé

Nous présentons dans ce chapitre une étude expérimentale réalisée sur des rats sains et sur des rats porteurs de tumeurs F98 à un stade de développement avancé. Des injections d'iode intracérébrales par CED ont été réalisées avec ou sans épinéphrine, cette dernière étant utilisée en tant que vasoconstricteur. Deux débits d'injections, différents d'un facteur cinq, ont été appliqués. Nous avons imagé *in vivo* par Tomographie Quantitative par Rayonnement Synchrotron (TQRS) à haute résolution spatiale ($45.7 \mu m$) les distributions CED d'un agent de contraste iodé (iopamidol) immédiatement après la fin de l'injection chez l'animal anesthésié (~ 10 minutes) avec des durées d'acquisition d'environ 8 minutes. Dans une première partie, nous avons caractérisé par TQRS les tumeurs après administration d'iode par une veine de la queue, vérifiant la présence de la tumeur et quantifiant sa distribution en iode. L'analyse de ces données systémiques par rat nous donne ainsi une estimation du volume tumoral et de sa localisation dans l'hémisphère. L'analyse quantitative en concentration d'iode des données CED a permis quant à elle, notamment avec du recalage d'images, de faire une comparaison complète des données CED pour les différents rats de chaque groupe de l'étude. Nous avons systématiquement calculé le volume de distribution à 5 %, l'histogramme de concentration, les profils de concentration. Un suivi cinétique post-injection des rats sains injectés avec de l'iode seul ou avec épinéphrine a permis de mesurer les temps caractéristiques de décroissance de concentration d'iode dans le striatum de ces rats. Finalement, nous avons également montré l'intérêt du recalage d'images pour ces données. Ce recalage pour les données « CED iode » a permis de faire une comparaison quantitative des positions relatives des distributions CED d'iode parmi les différents rats de l'étude. De plus, une nouvelle approche a été développée pour comparer les distributions CED d'iode avec les distributions d'iode après injection systémique (estimation du volume tumoral), permettant entre autres de définir un facteur de recouvrement spatial de l'iode infusé par CED par rapport au volume tumoral.

3.1 Tomographie quantitative par rayonnement synchrotron

3.1.1 Introduction au rayonnement synchrotron

Le rayonnement synchrotron tel qu'on le trouve à l'ESRF (« European Synchrotron Radiation Facility ») est basé sur l'émission de photons suite à la déflexion de particules chargées. A l'ESRF, il s'agit d'électrons qui, initialement émis par un canon, sont d'abord accélérés à une énergie de 200 *MeV* par un accélérateur linéaire (LINAC) puis par un accélérateur circulaire (booster) où ils atteignent l'énergie finale de 6 *GeV*. Les électrons sont alors injectés dans un anneau de stockage quasi-circulaire de 844 *m* de périmètre (cf. Figure 69). La production de rayonnement synchrotron apparaît chaque fois que le faisceau d'électrons présent dans l'anneau de stockage subit un changement de vitesse en direction ou en norme, c'est-à-dire chaque fois que les particules sont courbées ou accélérées. En l'occurrence, la courbure de la trajectoire des électrons en rotation dans l'anneau de stockage est assurée par des éléments magnétiques – on parle d'aimants de courbure (« Bending Magnet », BM). La structure de l'anneau est partitionnée en segments rectilignes dont la jonction est réalisée par des aimants de courbure, assurant une première production de faisceau synchrotron tangentielllement à la courbure de la trajectoire. Le long des segments droits, on retrouve entre autres des éléments d'insertion (« Insertion Device », ID), appelés « wiggler » ou onduleur, qui génèrent une seconde source de rayonnement synchrotron plus brillante⁵ que celle produite par un aimant de courbure. Les lignes de lumière, environ cinquante, sont réparties autour de l'anneau de stockage dans le prolongement tangentiel des aimants de courbure ou éléments d'insertion.

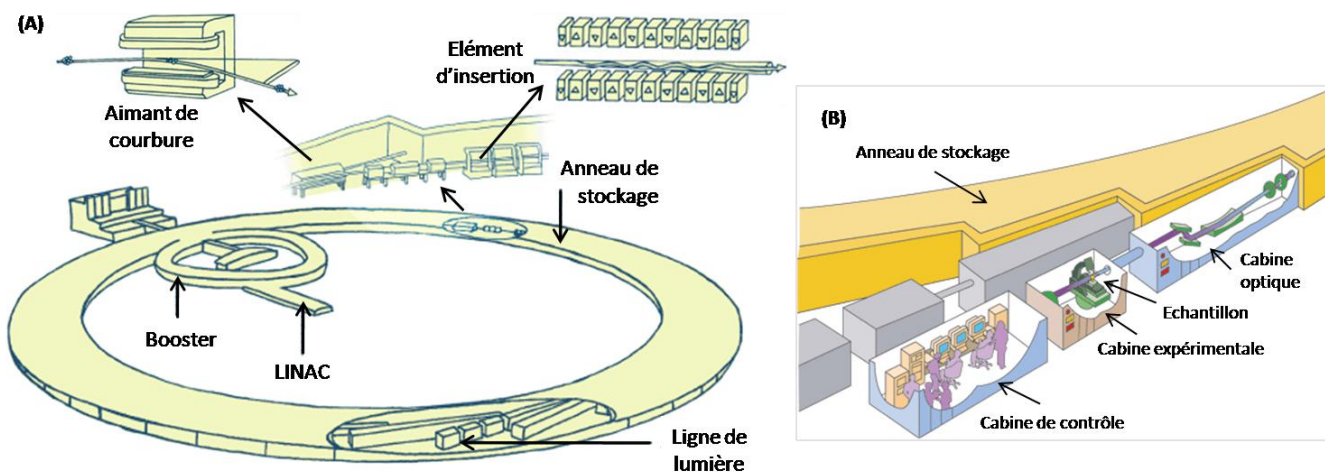


Figure 69: (A) Schéma de l'ESRF (« European Synchrotron Radiation Facility »). (B) Schéma de structuration typique d'une ligne de lumière à l'ESRF. (Extrait de www.esrf.fr).

Le principe d'un aimant de courbure est l'application d'un champ magnétique vertical par rapport au plan de rotation du courant d'électrons qui courbe sa trajectoire selon la direction définie par la force de Lorentz. Lors de ce changement de direction des électrons, il y a émission tangentielle de photons. Les éléments d'insertion sont quant à eux constitués d'une suite périodique d'aimants

⁵ Brillance : Caractéristique du rayonnement synchrotron émis par les électrons en mouvement dans l'anneau, elle exprime à une énergie donnée des électrons le nombre de photons émis par seconde, par mm^2 (source), par mrad^2 (divergence) et pour une bande passante d'énergie égale à 0.1 % de l'énergie des photons considérée.

bipolaires qui permettent de générer un grand nombre de déflections des électrons au travers de ce champ magnétique périodique, produisant ainsi un faisceau de rayons X nettement plus intense qu'avec un aimant de courbure. Selon la période des aimants qui le constitue, un élément d'insertion se décline soit en « wiggler », soit en onduleur. A la différence du « wiggler », l'ondulateur présente un spectre discontinu en raison d'interférences. A titre de comparaison, la Figure 70 ci-dessous représente la superposition du spectre d'une source de rayons X conventionnelle telle que celle d'un scanner d'hôpital avec le spectre de faisceau blanc délivré par un « wiggler » de la ligne médicale ID17 de l'ESRF, ligne dédiée aux applications médicales.

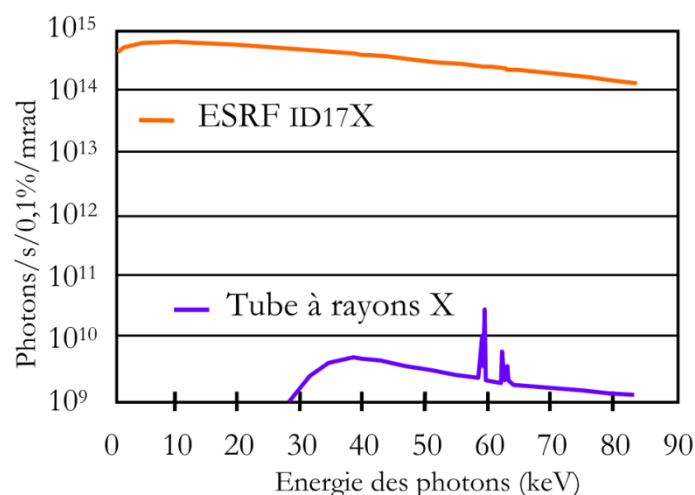


Figure 70 : Tracés des spectres respectifs d'un tube à rayons X conventionnel et du faisceau blanc du synchrotron produit à la sortie du « wiggler » de la ligne médicale à l'ESRF. Ces données sont fournies pour un « wiggler » réglé à $1.4\text{ T} - 1.6\text{ m} - 150\text{ m}$ / source et un courant machine de 200 mA. Les données « tube conventionnel » sont fournies pour $110\text{ kV} - 2.5\text{ mm Al} - 1\text{ m}$ / source.

La forte intensité du flux de photons émis à l'ESRF comparée à celle d'un tube à rayons X conventionnel permet de sélectionner une énergie donnée, par l'utilisation d'un monochromateur, avec une largeur de bande relativement étroite (0.1 % de la bande d'énergie considérée) tout en conservant suffisamment de flux pour des applications comme l'imagerie médicale sur ID17. Le rayonnement synchrotron se caractérise également par une faible divergence. Ainsi sur ID17, la cabine expérimentale d'imagerie se situe à 150 m du « wiggler » permettant une largeur horizontale de faisceau allant jusqu'à 150 mm , pour une hauteur n'excédant pas 20 mm . La ligne ID17 est composée de deux cabines expérimentales fonctionnant de façon alternative. La première, dans le hall expérimental, concerne la radiothérapie par micro-faisceaux (MRT). La seconde, située à 150 m du « wiggler » (satellite extérieur), est dédiée à l'imagerie médicale – angiographie et tomographie – ainsi qu'à la radiothérapie stéréotaxique par rayonnement synchrotron (SSRT). Davantage de détails sur le fonctionnement de l'ESRF, ses propriétés et les caractéristiques d'instrumentation de la ligne médicale sont rapportés dans plusieurs travaux (Elleaume 1999, Adam 2003, Rousseau 2007 [135-137]) et ne font pas l'objet de plus de développements ici. Les données de tomographie présentées dans ce manuscrit ont été acquises sur le satellite ID17.

3.1.2 Imagerie médicale par rayons X et tomographie

3.1.2.1 Principes de base et cas d'un agent de contraste

En physique médicale des rayons X , on considère l'étude des phénomènes de transport de photons dans la matière. Dans ce paragraphe, on restreindra la discussion au cas où la matière est définie par des tissus biologiques, où l'on distinguera les tissus de type « mous » des tissus de type « osseux » ayant des densités différentes. On considère typiquement un volume de tissu étant traversé par N_0 photons incidents dont un détecteur placé en aval permet de mesurer N_d photons. Dans le cas d'un faisceau parallèle d'intensité I_0 traversant un échantillon d'épaisseur homogène Δz , la différence de nombre de photons entrée / sortie ΔN est connue selon :

$$\Delta N = -N_0 \mu_{att} \Delta z$$

Eq. 101

Avec $\mu_{att} (cm^{-1})$ coefficient d'atténuation linéique du milieu. Cette écriture coïncide avec la loi de Beer-Lambert où le rapport nombre de photons en sortie sur le nombre de photons en entrée est donné par l'exponentielle $\exp(-\mu_{att}\Delta z)$. Un modèle plus élaboré de géométrie d'irradiation consiste en une source X décrite par un point rayonnant proche de l'objet et du détecteur (cf. Figure 71). Dans cette configuration, l'atténuation d'intensité que subit le faisceau lors de la traversée de l'objet le long d'une ligne décrite par la coordonnée r s'écrit :

$$I_d(x, y) = \int_{spectre} I_0(E) \exp\left(-\int_{objet} \mu_{att}(x, y, z, E) dr\right) dE \quad avec \quad r = \sqrt{x^2 + y^2 + z^2}$$

Eq. 102

On précise en plus le cas où la source possède une intensité décrite par un spectre continu $I_0(E)$ selon l'énergie E et où le tissu traversé a un coefficient d'atténuation linéique qui varie spatialement et en fonction de l'énergie.

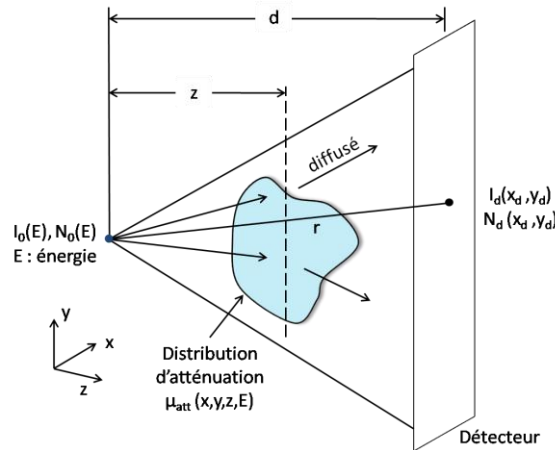


Figure 71: Schéma d'un système de rayons X de type source ponctuelle. La source, définie par une densité surfacique d'énergie et de photons X donnée à une énergie E donnée, émet des photons qui traversent l'objet. L'intensité transmise mesurée sur le détecteur reflète la distribution d'atténuation de l'objet traversé. Dans cette configuration, l'image de l'objet sur le détecteur par la source est agrandie et le grandissement est défini par $M = d/z$. (adapté de Macovski 1983 [138])

Si la source n'était pas ponctuelle, une intégrale supplémentaire serait nécessaire pour tenir compte de l'intensité incidente selon (x, y) . Dans le cas du rayonnement synchrotron sur le satellite

d'ID17, la distance de la source (wiggler) au détecteur est de 150 m et la divergence latérale du faisceau est de $1 \text{ mrad} \equiv 0.057^\circ$ d'où une bonne approximation d'un faisceau quasi-parallèle au niveau de l'échantillon pour les expériences courantes où ce dernier est placé à environ 6 m du détecteur (on néglige ici l'impact des monochromateurs sur la divergence).

Nous avons évoqué ci-dessus la dépendance du coefficient d'atténuation linéique en fonction de l'énergie du faisceau traversant le tissu et selon les coordonnées (x, y, z) . La variation spatiale de μ_{att} est une première justification de l'imagerie médicale par rayons X, puisque c'est cette distribution de valeurs que l'on cherchera à quantifier dans le tissu et celle qui permet d'observer un contraste dans l'image, par exemple pour une tête où l'on distinguera le crâne du cerveau. La variation de μ_{att} selon l'énergie est une propriété intrinsèque des tissus ou matériaux qui est référencée dans des bases de données partagées (NIST, [139]). La Figure 72 présente l'allure de ces courbes dans le cas de l'eau (équivalent aux tissus mous), du tissu osseux et d'éléments lourds tels que l'iode, agent de contraste couramment utilisé en imagerie médicale par rayons X. De façon plus subtile, cette variation $\mu_{att}(E)$ peut également être utilisée pour augmenter le contraste d'imagerie disponible, par exemple avec des techniques de soustraction d'images réalisées de part et d'autre du seuil d'absorption photoélectrique de l'élément d'intérêt (Elleaume 2000, 2002 [140, 141]).

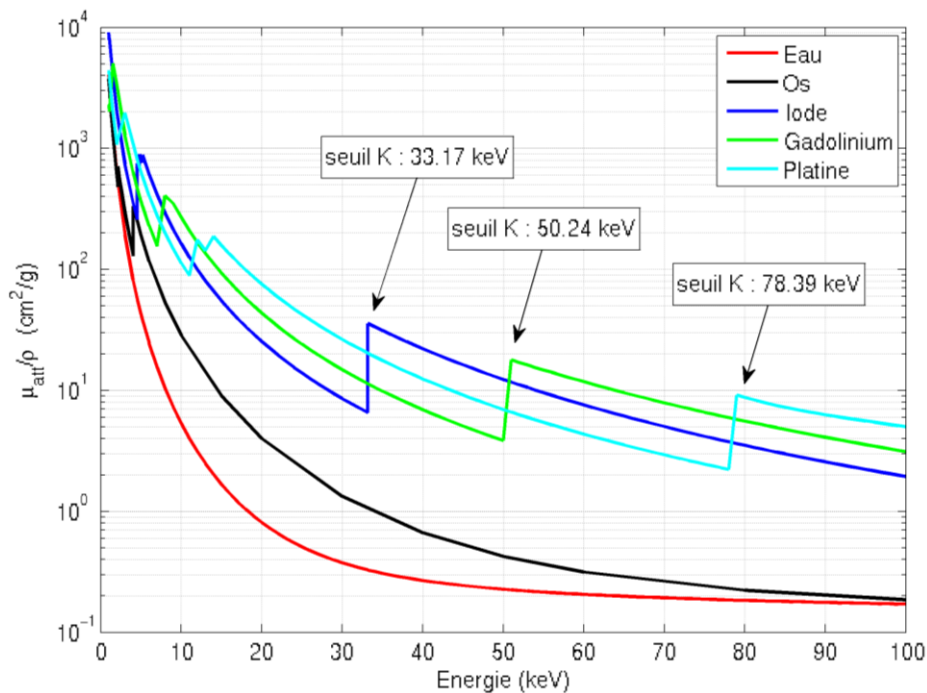


Figure 72: Evolution du coefficient d'atténuation massique total de l'eau, de l'os cortical, de l'iode (I, numéro atomique $Z = 53$), du gadolinium (Gd, $Z = 64$) et du platine (Pt, $Z = 78$) en fonction de l'énergie des photons. L'échelle est semi-logarithmique. La discontinuité d'atténuation observée à l'énergie du seuil K d'un élément correspond à l'absorption photoélectrique (éjection d'un électron de la couche K de l'atome à partir d'une certaine énergie du photon incident). (Données extraites de NIST, [139])

Le coefficient d'atténuation massique μ_{att}/ρ ($\text{cm}^2 \cdot \text{g}^{-1}$) tel que présenté sur la Figure 72 ci-dessus est une formulation du coefficient d'atténuation linéique $\mu_{att}(\text{cm}^{-1})$ qui permet une tabulation du matériau indépendante de sa masse volumique ρ ($\text{g} \cdot \text{cm}^{-3}$). La loi d'atténuation exponentielle de l'intensité photonique se réécrit alors à l'énergie E comme :

$$\frac{N_d}{N_0} = \exp\left(-\left(\frac{\mu_{att}}{\rho}\right)_E \rho \Delta z\right)$$

Eq. 103

Les principales interactions rayonnement X – matière à l'origine de cette atténuation sur la plage d'énergie 0 – 100 keV sont la diffusion (Compton et Rayleigh) et l'effet photo-électrique. A titre informatif, les systèmes d'imagerie médicale par rayons X avec entre autres les systèmes de formation de l'image, la théorie des systèmes linéaires et les interactions rayonnement – matière sont largement référencés dans la littérature, comme par exemple dans l'ouvrage de Macovski 1983 [138] ainsi que dans Aninash *et al.* 2001 [142], Jain 1988 [143], et ne sont pas développés davantage ici. Nous présentons toutefois dans le Tableau 15 ci-dessous un résumé de valeurs d'atténuation remarquables pour les éléments lourds présentés Figure 72.

Symbole	I	Gd	Pt
Numéro atomique (Z)	53	64	78
Masse atomique (u)	126.90	157.25	195.08
Masse volumique ρ ($g.cm^{-3}$) à 25 °C	4.93	7.90	21.5
Energie du seuil K (keV)	33.17	50.24	78.39
$(\mu_{att}/\rho)_{E_K^-}$ ($cm^2.g^{-1}$)	6.55	3.81	2.20
$(\mu_{att}/\rho)_{E_K^+}$ ($cm^2.g^{-1}$)	35.8	18.6	9.38
$(\Delta\mu_{att}/\rho)_{E_K}$ ($cm^2.g^{-1}$)	29.3	14.8	7.18
$(\mu_{att}/\rho)_{E_K}^{tissus}$ ($cm^2.g^{-1}$)	0.33	0.23	0.18
$(\mu_{att}/\rho)_{E_K}^{os}$ ($cm^2.g^{-1}$)	1.03	0.42	0.23

Tableau 15: Propriétés physique et d'atténuation massique de l'iode à l'énergie de seuil K de l'élément lourd considéré. Les données d'atténuation massiques sont également fournies pour les tissus mous et pour l'os à la même énergie. [140, 144]

On notera couramment par la suite μ_{att} comme « μ » et (μ_{att}/ρ) comme « (μ/ρ) ».

3.1.2.2 Principe de la tomographie X

La tomographie est basée sur l'acquisition de profils d'atténuation en transmission de rayons X à différents angles d'incidence, *cf.* Figure 73. Pour un angle donné, on mesure sur le détecteur une projection tomographique, aussi appelé profil d'atténuation. Dans cette configuration, soit le couple source – détecteur est en rotation autour de l'échantillon qui est immobile, soit il est fixe et l'échantillon est en rotation par rapport au faisceau incident. Nous utilisons cette deuxième configuration sur le satellite ID17. Il existe d'autres modes d'acquisition tomographiques qui ne sont pas détaillés ici (scanner de 4^{ème} génération, scanner hélicoïdaux et autres, référencés par exemple dans Macovski 1983 [138]).

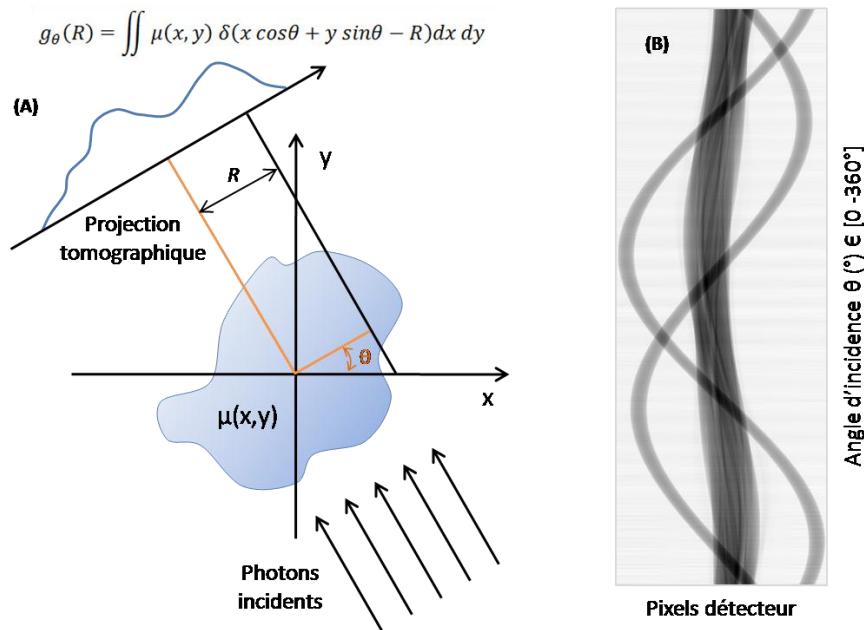


Figure 73: (A) Principe de la tomographie axiale. Des photons incidents parallèles traversent l'échantillon. A une incidence donnée, le détecteur placé de l'autre côté de la source par rapport à l'échantillon enregistre un profil d'atténuation à l'image de l'intégrale de décroissance exponentielle en chaque point de coordonnée R . Une suite de projections tomographiques est acquise pour des incidences θ variées avec un pas angulaire fixe. Cet ensemble de profils d'atténuation constitue un sinogramme (B). Celui présenté ici correspond à l'acquisition pour un rat positionné sur un cadre en plexiglas et dont la tête est imagée. La partie centrale noire de l'image correspond à la tête du rat tandis que les deux sinusoides plus éloignées sont les tiges en plexiglas du cadre qui servent à le maintenir.

Plusieurs méthodes mathématiques permettent ensuite de reconstruire la coupe tomographique à partir du sinogramme acquis. Une première, basée sur le théorème de la tranche centrale, consiste à reconstituer l'image dans le plan de Fourier en coordonnées cylindriques à partir des transformées de Fourier de chaque projection puis de faire une transformée de Fourier inverse après être repassé en coordonnées cartésiennes. La seconde est la rétroprojection filtrée. Celle-ci consiste en la superposition dans une matrice vierge des rétroprojections de chaque profil d'atténuation. Pour compenser la réponse impulsionnelle de sommation des rétroprojections, un filtre de type « rampe » est appliqué aux rétroprojections et permet la restauration de ces dernières. Sur la ligne médicale, les algorithmes de reconstruction usuels sont HST (« High Speed Tomography », de type rétroprojection filtrée, [145]) et SNARK (algorithmes multiples, [146]). L'image tomographique ainsi reconstruite est la carte des coefficients d'atténuation linéique, en cm^{-1} .

3.1.2.3 Quantifications pour un tissu avec agent de contraste

Lorsque l'échantillon est constitué de plusieurs composés, par exemple pour un tissu biologique dans lequel se trouve un agent de contraste d'imagerie, le coefficient d'atténuation massique total $(\mu/\rho)_{mél,E}$ s'écrit comme la somme des coefficients d'atténuation massique de chaque composé $(\mu/\rho)_{j,E}$ pondérés par leur fraction massique respective w_j . On écrit cette loi dans un voxel d'imagerie contenant le mélange :

$$\left(\frac{\mu}{\rho}\right)_{mél,E} = \sum_{j=1}^N w_j \left(\frac{\mu}{\rho}\right)_{j,E}$$

Eq. 104

Exprimé en $cm^2.g^{-1}$ avec $\rho = M/V$ ($g.cm^{-3}$) la masse volumique du mélange, où M est la masse totale du voxel considéré, V le volume qu'il représente ($V = \sum_{j=1}^N V_j$); $\rho_j = m_j/V_j$ la masse volumique du composé j ; $w_j = m_j/M$ la fraction massique du composé j avec m_j la masse du composé j . En remplaçant dans l'équation Eq. 104 les termes de masse volumique par leurs expressions respectives, on arrive à une formulation fonction des coefficients d'atténuation linéiques :

$$\mu_{mél,E} = \sum_{j=1}^N \varphi_j \mu_{j,E}$$

Eq. 105

Avec $\varphi_j = V_j/V$ la fraction volumique du composé j , et par construction $\sum_{j=1}^N \varphi_j = 1$. On applique l'équation Eq. 105 au cas d'un mélange {tissu (noté T) + iode (noté I)} :

$$\mu_{mél,E} = \left(1 - \frac{V_I}{V}\right) \mu_T + \frac{V_I}{V} \mu_I$$

Eq. 106

Puis avec $C_I = V_I/V \times \rho_I$ on obtient la formulation exacte suivante :

$$C_I = \left(\frac{\mu_{mél,E} - \mu_{T,E}}{\mu_{I,E} - \mu_{T,E}}\right) \rho_I$$

Eq. 107

Avec C_I ($g.cm^{-3}$) la concentration massique d'iode définie dans le volume V . Cela signifie que dans le voxel d'étude de volume V où l'on a un coefficient d'atténuation linéique du mélange {tissu + iode} $\mu_{mél,E}$, on mesure la concentration massique d'iode C_I en connaissant le coefficient d'atténuation linéique du tissu seul $\mu_{T,E}$ (estimé par exemple dans un autre voxel non iodé de l'image, *e.g.* la région controlatérale), la masse volumique de l'iode et le coefficient d'atténuation linéique de l'iode à l'énergie considérée ($\mu_{I,E} = (\mu/\rho)_{I,E} \rho_I$) (NIST [139]). A 35 keV, on peut simplifier le dénominateur avec une bonne approximation ($\mu_{I,E}/\mu_{T,E} \sim 500$) selon :

$$C_I \cong \frac{\mu_{mél,E} - \mu_{T,E}}{\left(\frac{\mu}{\rho}\right)_{I,E}}$$

Eq. 108

Dans nos études expérimentales de tomographie quantitative, c'est cette formulation que nous avons utilisée. A titre informatif, l'approximation de cette formulation par rapport à l'équation Eq. 107 induit pour l'iode à 35 keV une sous-estimation de la concentration de 0.2 %.

3.1.2.4 Valeur ajoutée du rayonnement synchrotron

Un des intérêts majeurs du rayonnement synchrotron dans le cas des applications d'imagerie médicale par rayons X est l'intensité disponible à la sortie de l'élément d'insertion de l'anneau. Celle-ci permet de sélectionner le faisceau sur une bande d'énergie étroite (0.1 % de l'énergie considérée) tout en conservant un débit photonique élevé. En termes de contraste d'imagerie, on sait par exemple qu'à un ordre 1 d'analyse pour un processus de Poisson, le rapport signal sur bruit dans un tissu partitionné en deux domaines de coefficient d'atténuation linéiques μ_1 et μ_2 est proportionnel au contraste multiplié par la racine du nombre de photons par pixel de détecteur, *cf.* Figure 74 (A). Il est donc nécessaire d'accumuler suffisamment de photons pour obtenir un rapport signal sur bruit de l'image satisfaisant. Le débit de photons élevé en aval du monochromateur permet de réaliser des acquisitions relativement rapides ce qui est intéressant dans notre cas pour diminuer le biais de résolution temporelle pour quantifier des distributions intracérébrales d'agent de contraste de nature transitoire (*cf.* chapitre II, section 2.1.3.3, p. 89). Un autre point intéressant de l'utilisation du rayonnement synchrotron est la faible divergence du faisceau dans la cabine expérimentale (1 *mrad*) ce qui implique d'obtenir un faisceau quasi-parallèle au niveau de l'échantillon imagé avec une bonne approximation, et permet donc de limiter les distorsions géométriques de cette nature dans le processus de formation de l'image. Le point fort du rayonnement synchrotron pour les tissus biologiques reste de pouvoir quantifier de façon absolue le coefficient d'atténuation linéique des tissus, grâce au faisceau monochromatique. Celle-ci permet en effet de s'affranchir en grande partie du phénomène de durcissement de faisceau qui se traduit par un déplacement vers les hautes énergies de l'énergie moyenne du spectre du faisceau pendant la traversée des photons dans le tissu, en raison de l'atténuation plus importante des composantes de basse énergie, *cf.* Figure 74 (B).

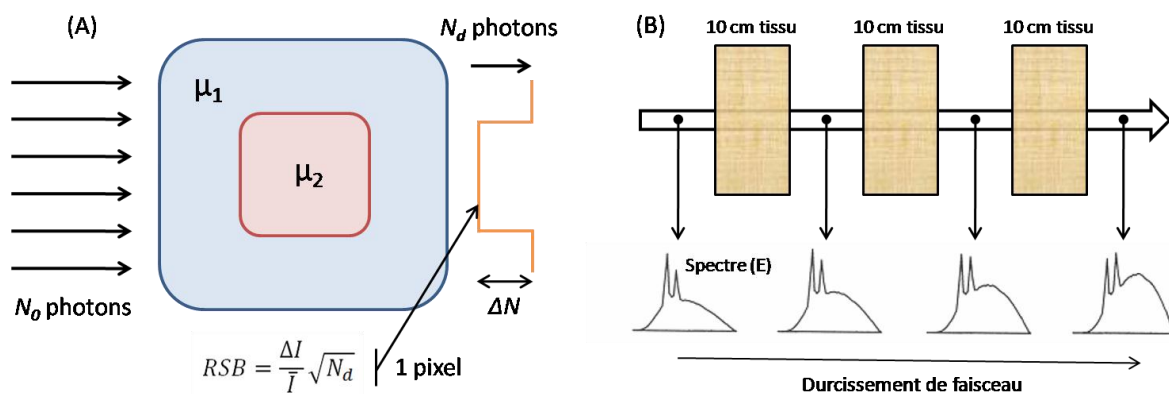


Figure 74: (A) Schéma d'atténuation d'un faisceau de N_0 photons incidents dans un échantillon formé de deux constituants de densité différentes. Les intensités détectées I_1 et I_2 pour les photons ayant parcouru soit le matériau μ_1 , soit les matériaux μ_1 et μ_2 respectivement définissent le contraste $C = |I_1 - I_2|/\bar{I}$ du signal mesuré. Le rapport signal sur bruit peut-être défini pour une statistique de Poisson comme proportionnel à la racine du nombre de photons par pixel détecté N_d . (B) Schéma explicatif du mécanisme de durcissement de faisceau lors de la traversée de tissus par un faisceau présentant un spectre continue d'énergie. L'énergie moyenne du faisceau augmente à cause de l'atténuation des composantes de basses énergies au fur et à mesure du parcours. Dans cette représentation, les spectres sont normalisés. (Extrait de Jerrold *et al.* 2002 [147])

Sur les systèmes d'imagerie X conventionnels, la mesure des coefficients d'atténuation des tissus est ainsi biaisée par le durcissement de faisceau, puisque l'amplitude du signal détecté est fonction de la position d'un point dans l'échantillon par rapport à la source et au détecteur. Des algorithmes

itératifs existent pour compenser ces non-linéarités de formation des projections mais restent limités en pratique par les discontinuités du coefficient d'atténuation des tissus, par exemple aux interfaces os – tissus mous (Macovski 1983 [138], Stonestrom *et al.* 1981 [148]). Le synchrotron s'impose donc comme une technologie particulièrement précise pour quantifier la distribution d'agents de contraste *in vivo* à moyenne ou haute résolution spatiale avec une résolution temporelle compatible avec les temps caractéristiques des mécanismes physiques ou biologiques étudiés.

3.1.3 Dispositif expérimental utilisé sur ID17

3.1.3.1 Monochromateur de tomographie

Le monochromateur est le système de la ligne de lumière qui permet de sélectionner parmi le spectre du faisceau « blanc » (spectre continu issu du « wiggler ») une composante quasiment monochromatique, de faible largeur de bande ($\Delta E/E = 0.1\%$), pour des énergies de sortie typiquement entre 20 et 100 keV sur ID17. Trois monochromateurs sont disponibles sur la ligne médicale. On présente ici seulement la configuration de celui de tomographie « fixed-exit » que nous avons utilisé pour nos études *in vivo* par TQRS. Il est constitué de deux cristaux de silicium d'orientation cristalline (111), légèrement courbés, utilisés en transmission (*cf.* Figure 75). Il permet d'obtenir un faisceau monochromatique de direction parallèle au faisceau blanc incident, à une hauteur quasi-identique (40 ± 3 mm) quelle que soit l'énergie. Le premier cristal diffracte le faisceau blanc et un ajustement de la position du second cristal par rapport au premier permet de sélectionner un angle donné de diffraction, c'est-à-dire une énergie spécifique d'après la loi de Bragg : $\lambda = 2d \sin\theta / n$; avec λ la longueur d'onde des rayons X diffractés, d la distance entre deux plans cristallographiques du réseau, n un entier naturel décrivant l'ordre de diffraction et θ le demi-angle de déviation, ici l'angle entre le faisceau blanc et le plan cristallographique de diffraction.

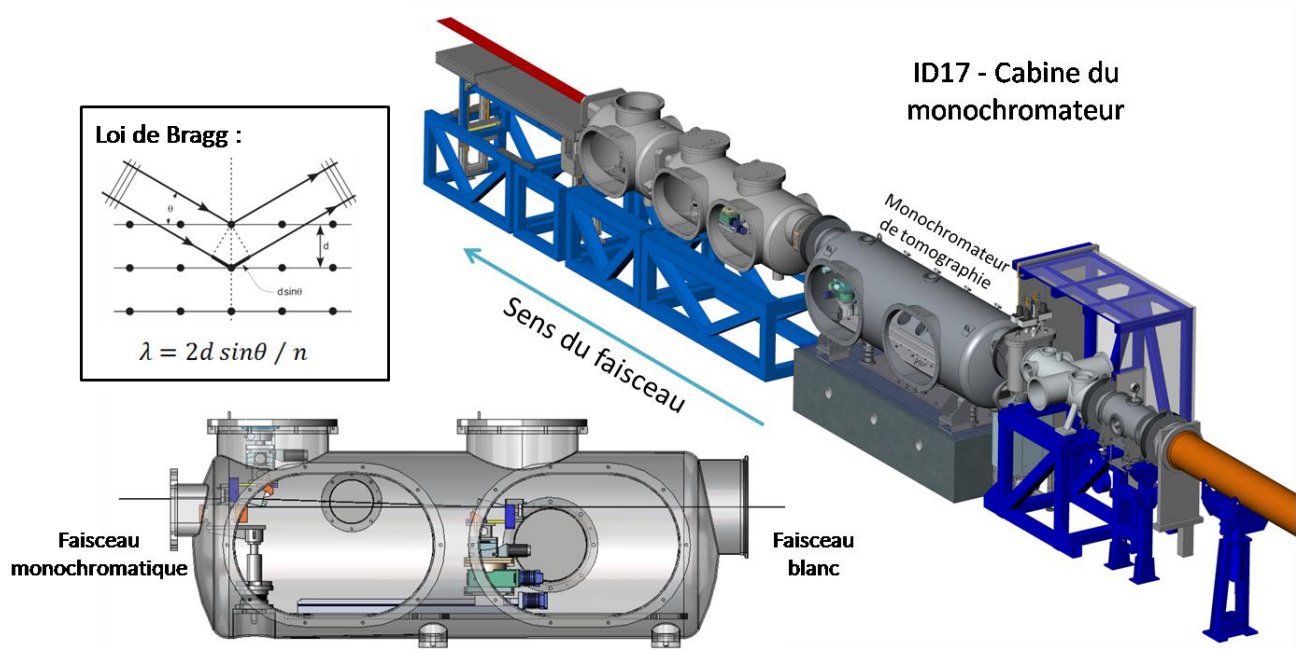


Figure 75: Plan du monochromateur de tomographie de la ligne médicale de l'ESRF, ainsi que son emplacement par rapport au reste de la ligne dans la cabine associée. Ce dernier est constitué de deux cristaux dont le premier assure la sélection d'une énergie donnée du faisceau blanc incident (à ~100 eV près) suivant le phénomène de diffraction optique décrit par la loi de Bragg.

3.1.3.2 Dispositif d'imagerie tomographique

Le faisceau X monochromatique arrive ensuite dans la cabine expérimentale où il peut atteindre une largeur de 15 cm et une hauteur de 1 à 3 mm selon la configuration du « wiggler » et l'énergie choisie. L'ajustement du faisceau aux dimensions souhaitées par rapport à l'échantillon imagé est réalisé par quatre plaques en tungstène de 3 mm d'épaisseur, situées en sortie du monochromateur. Le détecteur d'imagerie est ensuite aligné dans l'axe du faisceau. L'échantillon, un rat sur la Figure 76 ci-dessous, est placé sur une table où sept degrés de liberté sont possibles en translation et rotation. Le cahier des charges d'imagerie a nécessité la conception des moteurs possédant une excellente rigidité mécanique, afin de limiter les artéfacts dûs à des mouvements imprécis et / ou non reproductibles. Des procédures permettent d'aligner l'horizontalité de la table avec le faisceau pour éviter également des artéfacts d'imagerie. La vitesse angulaire de la table peut atteindre $180^\circ.s^{-1}$. L'axe Z de rotation est contenu dans un cylindre de confusion de moins de $400\ \mu m$. La translation selon Z se fait à une vitesse maximale de $500\ mm.s^{-1}$ sur une hauteur de 600 mm avec une précision de 0.5 % (Elleaume *et al.* 1999 [135]).

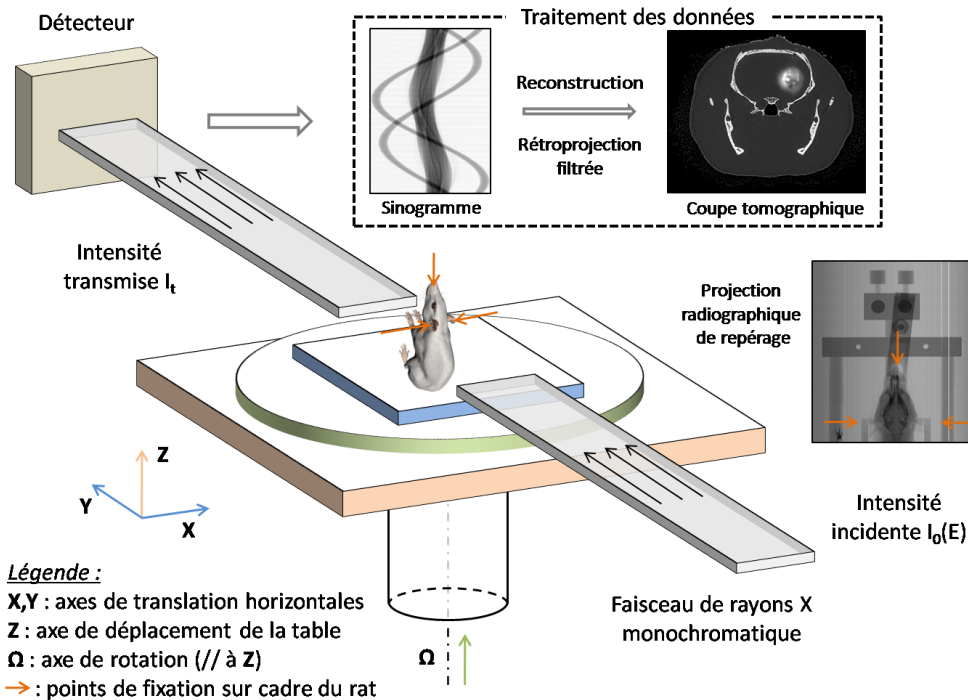


Figure 76: Schéma simplifié du dispositif expérimental de tomographie pour le petit animal. Le rat anesthésié est verticalisé sur un cadre stéréotaxique en plexiglas (non représenté sur ce schéma). Suite à un repérage sur une première acquisition en projection radiographique, la région d'intérêt que l'on cherche à imager - le cerveau du rat - est placé dans le champ de vue du faisceau de rayons X incident, initialement rendu monochromatique à l'énergie $E \pm \Delta E/2$ ($E = 33 \text{ keV}$, $\Delta E \approx 33 \text{ eV}$ dans nos expériences). Pour l'acquisition tomographique, le rat est mis en rotation uniforme autour de l'axe Z puis il est scanné selon plusieurs étages d'axe Z afin de couvrir toute la région d'intérêt étudiée. Les sinogrammes acquis sont ensuite reconstruits. Les dimensions du schéma ne sont pas à l'échelle.

3.1.3.3 Caméra FReLoN

Deux détecteurs sont usuellement disponibles dans la cabine expérimentale du satellite ID17 : un détecteur germanium haute pureté (HPGe) (Elleaume *et al.* 1999 [135]) et une caméra FReLoN. Nous ne détaillons que le second que nous avons utilisé dans nos études d'injections intracérébrales d'agents de contraste. La caméra CCD (« Charge-Coupled Device ») FReLoN (« Fast Readout Low Noise ») est un détecteur développé à l'ESRF autour des années 1995 pour les applications nécessitant une échelle d'observation fine (Bravin *et al.* 2003 [149]). Un écran fluorescent de $100 \mu\text{m}$ d'épaisseur en entrée de la caméra permet la conversion des photons X en lumière visible : alliage $\text{Gd}_2\text{O}_2\text{S}:\text{Tb}$; 5 g.cm^{-3} ; efficacité de 40 % à 33 keV ; surface active $(94 \text{ mm})^2$. Les photons visibles sont ensuite guidés vers l'écran CCD de la caméra au travers d'un réseau de fibres optiques présentant un facteur de réduction de 3.2 : 1 (« taper »). Les caractéristiques de l'écran CCD sont les suivantes : matrice $(2048)^2$ pixels de dimensions $(14.7 \mu\text{m})^2$. La taille effective d'un pixel a été estimée par métrologie à $(45.71 \mu\text{m})^2$. Une caractérisation de ce modèle de caméra FReLoN est détaillé par Coan *et al.* 2006 [150]. En résumé, le niveau de bruit de lecture et le courant d'obscurité de la caméra CCD sont maintenus relativement bas par la qualité des éléments optique et électronique, ainsi que par l'utilisation d'un système de refroidissement Peltier à -18°C . L'efficacité globale du système « écran – fibres optiques réductrices » est environ 25 % à 33 keV . La vitesse maximale de lecture est de 20 Mpixels/s pour quatre sorties de lecture, permettant d'imager rapidement

(4.2 *projections.s⁻¹*). Parmi les trois modes d'acquisition / lecture des données de la caméra – «full frame», «pipeline» et «concatenate» – nous avons uniquement utilisé le mode «pipeline» où les mêmes lignes de la caméra sont continuellement exposées aux rayons X ; il s'agit du cas d'un échantillon en rotation et / ou translation dans le faisceau par rapport au détecteur fixe. Les lignes exposées sont transférées vers les deux sorties de lecture les plus proches, cette lecture étant synchronisée avec la rotation de la table. Ce mode de lecture permet un stockage direct des données sur ordinateur, sans saturation de la mémoire de la caméra. 850 μ s de transfert et lecture sont nécessaires entre l'acquisition de chaque ligne. Un «chopper» synchronisé avec le détecteur a été conçu entre la source et les collimateurs pour bloquer le faisceau pendant le temps de lecture du détecteur (Renier *et al.* 2005 [151]). Ce système permet, tout en réduisant l'exposition des lignes de la caméra aux rayons X , de minimiser le bruit, d'améliorer la résolution spatiale et de réduire la dose de rayons X déposée dans l'échantillon. Dans le cas de notre étude, nous avons opté pour l'utilisation de la caméra FReLoN afin de décrire à haute résolution spatiale par TQRS la distribution *in vivo* d'agent de contraste, profitant également d'une résolution temporelle d'acquisition inférieure à 10 *min* pour un volume d'intérêt du cerveau du rat.

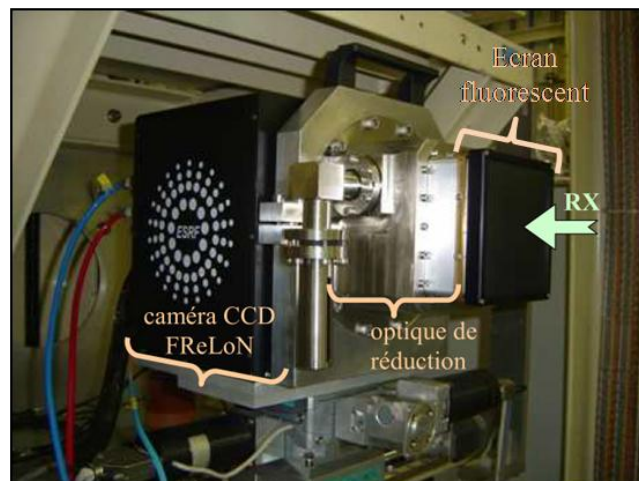


Figure 77: Photo de la caméra FReLoN.

3.2 Modèle expérimental de tumeur

3.2.1 Modèle animal et tumoral

Nous nous sommes intéressés dans nos études expérimentales *in vivo* à la distribution d'un agent de contraste dans le tissu cérébral de rongeurs. Ces études ont été réalisées sur la lignée Fischer 344 male. Plusieurs modèles tumoraux chez le rat existent dont par exemple le 9L, C6, T9, RG2, TR2 ou encore CNS-1. Tout modèle tumoral doit tendre vers les caractéristiques suivantes, tel que résumé par Barth *et al.* 2009 [152]. Il doit être dérivé de cellules gliales. Il devrait être possible de cultiver ces cellules *in vitro* pour les dériver en lignées cellulaires, puis de les faire croître *in vivo* par transplantation. Le taux de croissance tumoral devrait être prédictible et reproductible. Les tumeurs devraient avoir des caractéristiques semblables à la croissance des gliomes humains en termes d'angiogenèse, d'altération de la barrière hémato-encéphalique (BHE) et de croissance invasive sans encapsulation. Dans le cadre de traitement thérapeutique, le modèle tumoral devrait avoir une survie minimale chez l'hôte pour pouvoir évaluer correctement l'efficacité du traitement. Il devrait être faiblement ou non immunogénique, c'est-à-dire ne pas induire ou le moins possible de réponse immunitaire chez l'hôte pour ne pas fausser l'étude thérapeutique. L'absence ou la réponse à un traitement devrait être prédictif de la réponse de ce dernier pour une tumeur cérébrale humaine. Enfin, la tumeur ne devrait pas croître dans l'espace épidural ou au-delà du cerveau. Nous avons choisi la lignée cellulaire F98 par continuité avec les travaux précédents réalisés au sein de l'équipe, en particulier pour des études de survie avec traitement par radiothérapie stéréotaxique par rayonnement synchrotron, combinée à l'injection intra-tumorale d'agents chimiothérapeutiques. Le modèle animal de tumeur F98, bien connu chez le rat, et dont les caractéristiques sont un fort taux de croissance (classification en gliome anaplasique ou indifférencié), une nature infiltrante et une faible immunogénicité (Ko *et al.* 1980, Barth *et al.* 1998 [153, 154]). Elle a été induite chez une rate Fischer gestante par injection intraveineuse d'une dose de nitrosuré, dont les tumeurs spontanées apparaissant sur la portée ont été isolées et classées en lignées cellulaires, dont la lignée F98 (laboratoire Koestner, Ohio State University, USA). L'analyse par imagerie de la distribution d'agents de contraste *in vivo* permettrait en effet de mieux connaître la localisation de l'agent administré par CED dans la tumeur.

3.2.2 Protocole d'inoculation des cellules tumorales

3.2.2.1 Culture cellulaire

Les cellules F98 (American Type Culture Collection ; ATCC-LGC Promochem) sont adhérentes et se multiplient en monocouches dans des flasques en plastique ; elles sont incubées dans une étuve à 37 °C en atmosphère humide (95 % d'air et 5 % de CO₂). Le milieu de culture, DMEM (Dulbecco's Modified Eagle Medium ; Gibco-Invitrogen-France), est complété par 10 % de sérum de veau fœtal (Gibco) et 1 % d'un mélange d'antibiotiques (pénicilline et streptomycine). Lorsqu'elles arrivent à confluence dans les flasques, les cellules sont repiquées généralement au 1/3 ; cette opération de réensemencement est réalisée environ deux fois par semaine.

3.2.2.2 Protocole d'inoculation

La procédure suivante est appliquée pour tout rat recevant une injection intracérébrale par CED pour la première fois, celle-ci servant soit à l'inoculation des cellules tumorales comme décrit ci-dessous (protocole repris de Benabid *et al.* 1986 [155]), soit à administrer l'agent de contraste (*cf.* partie 3.3.2, p. 145). Le rat est anesthésié par une brève inhalation d'isoflurane suivie d'une injection intrapéritonéale (i.p.) d'un mélange {kétamine (40 à 80 $mg.mL^{-1}$) + xylasine (5 à 10 $mg.mL^{-1}$)}. La préparation pratique est réalisée en mélangeant 4 mL de kétamine (10.0 $g / 100 mL$) avec 2.5 mL de xylasine (2.0 $g / 100 mL$) puis 3.5 mL de solution saline ou eau pour préparation injectable (ppi). L'injection i.p. est faite avec environ 0.2 mL de solution d'anesthésique par 100 g de poids de rat. Cette procédure maintient le rat endormi pendant environ 40 minutes à une heure ; des injections additionnelles sont parfois nécessaires pour prolonger l'anesthésie pour toute la durée de la chirurgie. Une fois le rat endormi, le dessus de la tête est tondu puis l'animal est placé sur un cadre stéréotaxique (Kopf®, *cf.* Figure 78) et un gel oculaire lubrifiant est appliqué sur ses yeux. Sa tête est fixée avec deux barres d'oreilles et ses dents placées à l'avant du cadre de sorte à ce que sa tête n'aie plus aucun degré de liberté. Après application de bétadine, une incision est pratiquée sur le dessus du crâne selon le plan sagittal. La peau est écartée de part et d'autre de l'incision avec des masselottes puis la membrane qui recouvre l'os (périoste) est dégagée avec des coton-tiges, jusqu'à ce que l'on puisse identifier visuellement les structures osseuses, notamment le Bregma (*cf.* [156] et Figure 78 (B)). Pour réaliser l'injection, un trou d'environ 1 mm est pratiqué dans l'os pour permettre ensuite l'insertion de l'aiguille aux coordonnées stéréotaxiques. Le repère du trou de l'os est pris avec une pointe métallique (broche de Kirschner) placée sur le cadre et que l'on déplace avec les vis micrométriques en translation de 3.5 mm à droite du Bregma. Dans notre étude *in vivo*, nous avons choisi d'uniformiser les aiguilles utilisées pour réaliser les injections intracérébrales par CED – inoculation de cellules tumorales (cas 1) ou injection d'agent de contraste (cas 2). L'aiguille choisie est le modèle générique Hamilton 1700 SN, scellée et biseautée, 10 ou 25 μL selon qu'il s'agisse du cas 1 ou 2, respectivement (*cf.* partie 3.3.2.1, p. 146). La seringue est remplie délicatement de la solution contenant les cellules tumorales en prenant soin d'éviter la présence de bulles d'air, puis la surface externe de l'aiguille est essuyée avec une lingette. Une fois le rat préparé et positionné sur le cadre stéréotaxique, la seringue est placée sur la pompe d'injection, liée au cadre stéréotaxique. On vérifie également que le biseau de l'aiguille est bien placé coté hémisphère droit (même configuration que le schéma Figure 78 (B) p. 145). L'aiguille est insérée en environ une minute à une profondeur de -6 mm par rapport à la surface du crâne puis remontée de $+0.5\text{ mm}$ pour atteindre la profondeur finale de -5.5 mm (*cf.* Figure 78 (B), p. 145). L'injection est démarrée sans attente après l'insertion de l'aiguille. Une fois l'injection terminée, l'aiguille est immédiatement remontée en environ une minute. Le trou de l'os est rebouché avec de la cire à os ; le crâne est badigeonné de bétadine puis la plaie est suturée. *On retiendra de ce protocole d'inoculation que 4 μL contenant 1000 cellules F98 sont injectés à un débit de 0.5 $\mu L.min^{-1}$ aux coordonnées stéréotaxiques usuelles (3.5 mm à droite du Bregma, et à -5.5 mm sous la surface du crâne).* Un protocole décrivant sous forme de liste tous les points clés de la procédure dans l'ordre chronologique a été appliqué dans ces études pour réduire les biais expérimentaux. L'ensemble de

ces procédures (pesée, anesthésie, chirurgie, prélèvements) ont été réalisées à l'animalerie de l'ESRF (« Biomedical Facility », BMF), sur la ligne médicale.

3.3 Groupes et protocoles expérimentaux

3.3.1 Paramètres d'études CED

L'expérience a été réalisée sur 27 rats Fischer 344 males pesant de 220 à 260 g (Laboratoire Charles Rivers). Nous avons défini un groupe de 3 rats sains en tant que contrôle, puis deux groupes de 12 rats tumeurs F98, l'un à 13 jours après implantation (noté J13) et l'autre à 19 jours après implantation (noté J19). Le groupe J13 a été défini en raison des protocoles usuels utilisés au sein de l'équipe pour les essais précliniques où l'agent chimiothérapique (ou l'élément lourd) est administré par voie intratumorale à J13 et la radiothérapie réalisée typiquement à J14. Cela permet de faire une corrélation avec ces données précliniques. Par ailleurs, afin de se placer dans des conditions où la tumeur définit un volume plus important, avec davantage d'hétérogénéités tissulaires et anomalies physiologiques, nous avons également réalisé des études à J19 après implantation. Nous avons ensuite défini trois catégories d'injections intracérébrales par CED, sur la base du même traceur, l'iopamidol concentré à 100 mg.mL^{-1} (Iopamiron® 200). Le traceur est injecté soit seul à un débit d'injection de $0.5 \mu\text{L.min}^{-1}$, soit co-injecté avec de l'épinéphrine (0.085 mg.mL^{-1}) à ce même débit. L'épinéphrine (solution 1 mg.mL^{-1} , Aguettant, Lyon, France) est utilisée ici comme vasoconstricteur c'est-à-dire pour maintenir plus longtemps l'agent de contraste dans l'interstitium cérébral. Plusieurs travaux montrent par exemple qu'elle contribue à une meilleure pénétration de cisplatine dans des tumeurs sous-cutanées et péritonéales (Duvillard *et al.* 1999, Ning *et al.* 1999, Malhotra *et al.* 2001 [157-159]). La troisième catégorie d'injection consiste en l'administration d'iode seul à un débit 5 fois plus fort que précédemment, soit $0.5 \mu\text{L.min}^{-1}$. Le groupe de trois rats sains contrôles a reçu une administration d'iode seul dans l'hémisphère droit, suivi plus tard (< 2h) d'une injection d'iode + épinéphrine dans l'hémisphère gauche (*cf.* partie 3.3.3.3, p. 149).

Nature du tissu cible	Nombre de rats	Solution injectée	Débit ($\mu\text{L}.\text{min}^{-1}$)	Durée (min)
Sain	3	Iode (Hem. droit)	0.5	40
		Iode + Epinéphrine (Hem. gauche)	0.5	40
Tumeur J19	4	Iode	0.5	40
	5	Iode + Epinéphrine	0.5	40
	3	Iode	2.5	8
Tumeur J13	4	Iode	0.5	40
	5	Iode + Epinéphrine	0.5	40
	3	Iode	2.5	8

Tableau 16: Groupes expérimentaux et paramètres d'injections. Pour tous les groupes, le volume d'injection $V_i = 20 \mu\text{L}$ est administré avec une aiguille 32G (Hamilton® 1702 SN). Pour les rats porteurs de tumeurs, les injections sont faites dans l'hémisphère droit aux coordonnées stéréotaxiques spécifiées dans la partie ci-dessous. Les rats sains reçoivent l'injection soit dans l'hémisphère droit (iode seul) soit dans l'hémisphère gauche (iode + épinéphrine).

A titre informatif, la masse d'iode présente dans le volume injecté ($20 \mu\text{L}$) de ce protocole est :

$$m_i(T_{inj}) = C_0 \cdot V_i(T_{inj}) = 100 \text{ mg.mL}^{-1} \times 20 \mu\text{L} = 2 \text{ mg}.$$

3.3.2 Dispositif et protocole d'injection CED

Le protocole d'injection CED a été défini de façon systématique pour l'ensemble des rats de l'étude. Il est le même que pour l'inoculation des cellules tumorales, cf. partie 3.2.2.2, p. 143.

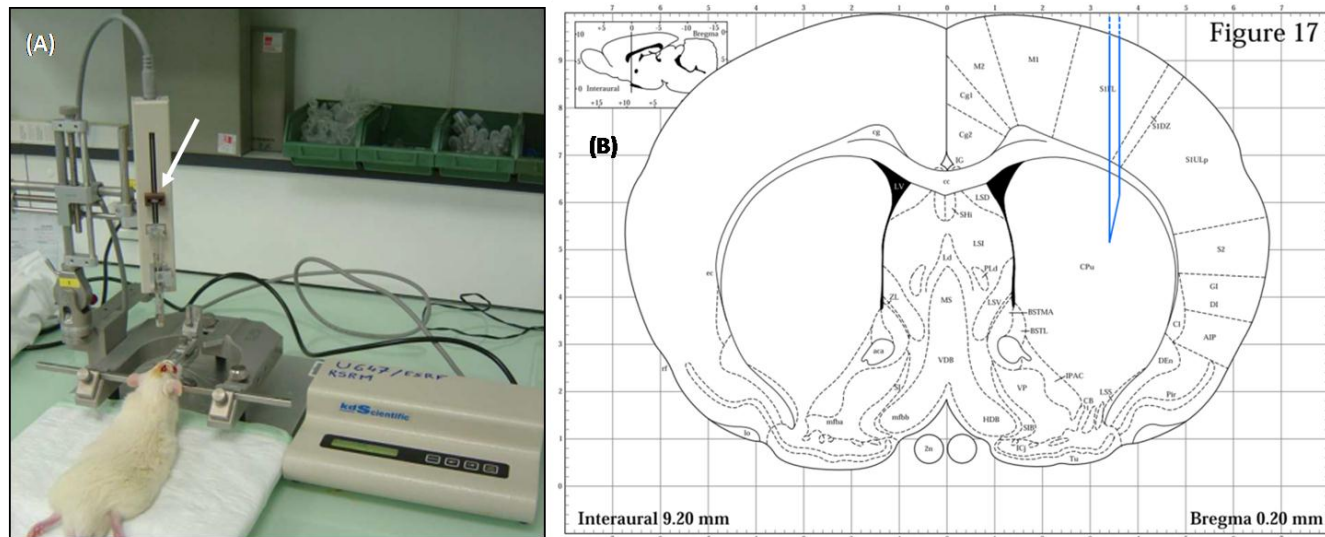


Figure 78: (A) Photo du dispositif expérimental d'injection CED. La partie distale de la pompe est placée sur le cadre stéréotaxique. La seringue, fixée sur cette partie de la pompe, est insérée dans le cerveau du rat aux coordonnées stéréotaxiques d'injection grâce aux vis de translation micrométriques du cadre déplacées manuellement. La partie mobile de la pompe assurant le déplacement du plongeur de la seringue et donc le débit dans l'aiguille est indiquée par une flèche. (B) Positionnement de l'aiguille utilisée dans ce protocole sur un schéma des structures cérébrales du rat sur une coupe coronale à 0.20 mm au dessus du Bregma (d'après Watson et Paxinos [156]). L'aiguille (32G biseautée 12°, Hamilton®) est descendue à 6 mm sous la surface supérieure de l'os puis remontée de 0.5 mm pour atteindre la position finale. La profondeur de tissu traversé est d'environ 4.9 mm pour une épaisseur d'os à cet endroit estimée à environ 0.6 mm d'après des données d'imagerie FReLoN. L'aiguille 32G biseautée est représentée aux coordonnées réelles de l'atlas et les dimensions sont à l'échelle.

3.3.2.1 Système seringue - aiguille

Le système {seringue + aiguille} a été choisi de sorte à ce que la connexion entre ces deux parties soit sûre. En l'occurrence, de précédents tests avec des seringues Hamilton® de type RN (« Removable needle »), où l'aiguille est retirable via une jonction, ont montré des risques de fuite au niveau de la jonction lors d'injections CED d'un colorant dans des gels d'agarose. Le système retenu est de type SN (« Special Cemented Needle »), c'est-à-dire possédant une jonction cimentée. Nous avons également opté pour une aiguille biseautée, contrairement à nos précédentes aiguilles, de sorte à minimiser le risque d'occlusion de l'extrémité de l'aiguille lors de sa descente dans le tissu. Différents biseaux sont également disponibles chez Hamilton, et nous avons choisi un biseau droit avec 12° d'angle tel que recommandé pour les applications médicales (cf. photo Figure 79 (B) ci-dessus) [160]. Les spécifications de l'aiguille sont précisées ci-dessous, Tableau 17.

Nom complet	Hamilton® 1702 SN 32G Pst 4
Nature	Simple-port terminal
Diamètre interne et externe (mm)	0.11, 0.24
Longueur (mm)	25
Biseau	Droit, 12°
Volume seringue (µL)	25
Matériau	Acier inoxydable (DIN 1.4301 - SST 304)

Tableau 17: Caractéristiques de la {seringue + aiguille} utilisée pour cette étude.

3.3.2.2 Pompe d'injection

La pompe utilisée est le modèle KDS 310 (GENEQ Inc.), cf. Figure 79 (A). La partie centrale permet de configurer le type de seringue et d'aiguille utilisé, ainsi que de spécifier le volume injecté et le débit. Elle est connectée à la partie distale, compacte, qui se fixe facilement sur le cadre stéréotaxique. Les spécifications de la pompe sont résumées dans le Tableau 18 ci-dessous.

Nom complet	KDS 310
Plage de volume d'injection (μL)	1 – 100
Débit min et max ($\mu\text{L} \cdot \text{min}^{-1}$)	0.01 – 127.1
Force linéaire (kg)	0.45
Avancée par $\frac{1}{2}$ pas (μm)	6.35
Taux min et max $\frac{1}{2}$ pas (s^{-1})	1/30 – 400
Précision (%)	$\pm < 1$
Reproductibilité (%)	± 0.1

Tableau 18: Caractéristiques « constructeur » de la pompe d'injection utilisée dans l'étude.

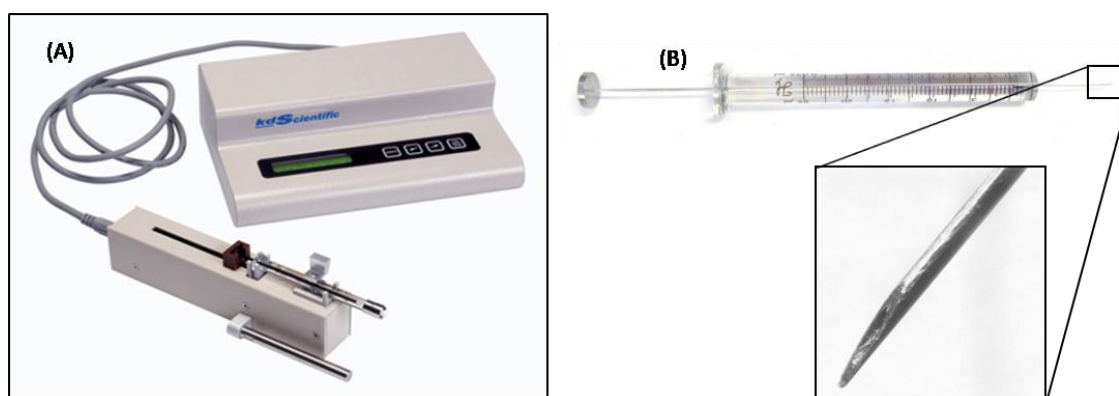


Figure 79: (A) Photo de la pompe utilisée dans cette étude (modèle KDS 310, GENEQ Inc.). Elle assure des injections à débit constant en imposant le déplacement du piston de la seringue. (B) Seringue et aiguille Hamilton utilisée dans notre protocole. L'aiguille comporte un biseau droit à 12° , comme l'indique une photo de l'extrémité de l'aiguille prise au microscope. Préalablement à l'insertion de l'aiguille dans le cerveau des rats, l'ouverture du biseau est positionnée coté hémisphère droit.

Les paramètres du protocole CED sont résumés dans le tableau ci-dessous :

Agent	iode ($100 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$) avec ou sans épinéphrine ($1 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$)
Volume injecté	$20 \mu\text{L}$
Débit d'injection	$0.5 \mu\text{L} \cdot \text{min}^{-1}$ ou $2.5 \mu\text{L} \cdot \text{min}^{-1}$ (soit 40 ou 8 min d'injection)
Pompe d'injection	débit constant, modèle KDS 310
Coordonnées stéréotaxiques d'injection par rapport à la surface de l'os	$-6 \pm 0.5 \text{ mm}$
{Aiguille + seringue}	Hamilton 1702 SN 32G, « point style » 4, longueur 25 mm
Vitesse de remontée de l'aiguille	environ $6 \text{ mm} \cdot \text{min}^{-1}$
Temps d'attente entre fin d'injection et remontée	Aucun
Vitesse de remontée de l'aiguille	environ $6 \text{ mm} \cdot \text{min}^{-1}$

Tableau 19 : Paramètres du protocole CED de l'étude.

3.3.3 Acquisitions IRM et TQRS

3.3.3.1 Protocole et séquences d'imagerie IRM

Deux jours avant les injections CED et imageries tomographiques, un certain nombre d'animaux par groupe ont été imagés par IRM sur l'aimant 7 T de la plateforme RMN du GIN (collaboration avec Emmanuel Barbier et Chantal Rémy). Plus précisément, 3/3 rats sains ; pour les rats porteurs de tumeurs F98 aux stades J13 et J19 : 3/4 rats à « $0.5 \mu\text{L} \cdot \text{min}^{-1}$ iode », 3/5 rats à « $0.5 \mu\text{L} \cdot \text{min}^{-1}$ iode + épinéphrine », 1/3 « $2.5 \mu\text{L} \cdot \text{min}^{-1}$ iode ». A noter qu'à cette date d'imagerie les rats porteurs de tumeurs sont au stade de développement tumoral J11 et J17. A titre de correspondance avec les données de tomographie acquises plus tard, ces acquisitions IRM ont pour but de caractériser le tissu cérébral des rats sains et rats porteurs de tumeurs. Nous avons ainsi vérifié la cohérence des valeurs de volumes tumoraux estimés par tomographie à partir des images T_1 et $T_1 - Gd$. Des séquences anatomiques haute résolution en pondération T_1 puis T_2 ainsi qu'une acquisition *DTI* (« Diffusion Tensor Imaging ») tenseur de diffusion ont été réalisées. De plus pour les rats porteurs de tumeur, une injection de gadolinium par la veine de la queue a été réalisée avec un suivi T_1 basse résolution pendant 15 minutes (Gd-DOTA 0.5 M, administré à $0.498 \mu\text{L} \cdot \text{kg}^{-1}$ de rat, suivi d'un flush de 0.5 mL de sérum physiologique hépariné à 0.12 % (v/v)). Une séquence T_1 haute résolution après la séquence de perfusion lente est ensuite acquise. Les séquences dans leur ordre chronologique sont : T_2 anatomique, *DTI* (6 directions), T_1 anatomique, suivi temporel T_1 basse résolution, T_1 anatomique (nommée $T_1 - Gd$ ensuite). Leurs paramètres sont résumés dans le Tableau 20.

Caractéristiques	T_2	<i>DTI</i>	T_1	Suivi T_1	$T_1 - Gd$
FOVz (mm)	38 x 0.5	10 x 1	38 x 0.5	10 x 1	38 x 0.5
Résolution transverse (μm)	117	117	117	234	117
TE(ms) / TR(ms)	40 / 4000	30 / 3000	5 / 800	4.808 / 500	5 / 800
N _{averages}	6	6	8	1	8
Durée	10 min	8 min	10 min	60 x 15 sec	15 min
Autres	X	$b_0 + 6$ directions	X	X	X

FOVz : « Field of view » : champ de vue selon z (axe des coupes), exprimé en nombre de coupes x épaisseur de coupe

Tableau 20: Paramètres d'imagerie des séquences IRM utilisées sur l'aimant 7 T du GIN. Les rats sains ne sont imagés qu'avec les séquences T_2 , *DTI* et T_1 .

3.3.3.2 Protocole d'imagerie X et chronologie des administrations d'iode

Avant de réaliser les injections CED, les rats porteurs de tumeurs sont imagés une première fois avec le dispositif de tomographie, décrit partie 3.1.3.2 p. 139, après administration systémique d'iode. Cela permet de valider la présence de la tumeur aux coordonnées d'implantation sur la base que l'apparition de contraste dans une région de l'image suite à une injection d'iode systémique indique une extravasation de l'iode des vaisseaux sanguins tumoraux dans le parenchyme cérébral. Pour cette étape, le rat après anesthésie reçoit 1 mL de solution d'iode (Ioméron® $350 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$,

initialement chauffé au bain marie à 37°C) suivi de 0.5 mL de sérum physiologique dans une veine de la queue. Le délai entre la fin d'injection et l'imagerie est de $13 \pm 3 \text{ min}$ (plage de variation : 9 – 22 min). Les injections CED sont pratiquées plusieurs heures après l'injection systémique, en moyenne $6\text{h}40 \pm 2\text{h}$. Le délai entre la fin d'injection CED et le début de l'imagerie est de $12 \pm 6 \text{ min}$ (plage de variation : 5 – 22 min).

A la fin des injections *systémique ou CED* d'iode, le rat anesthésié est placé sur un cadre stéréotaxique en plexiglas puis verticalisé et fixé sur le tomographe. Les images sont acquises à 35 keV, au dessus du seuil K de l'iode (33.17 keV), afin de maximiser le contraste entre le tissu iodé et le tissu seul, cf. Figure 72, p. 133. Les paramètres d'imagerie ont été définis de sorte à avoir une durée d'imagerie la plus courte possible, environ 8 min par acquisition, de sorte à limiter le biais d'étalement transitoire de la distribution d'agent de contraste pendant la durée de l'imagerie. Lors d'une acquisition, la caméra acquiert 100 lignes sur 4 étages pour couvrir la région d'intérêt du cerveau du rat. Par étage, 2000 projections sont acquises à une vitesse de rotation de $6^\circ \cdot \text{s}^{-1}$. Une image avec champ de vue dégagé (« white field ») est acquise et permet la normalisation des images d'intensité transmise.

3.3.3.3 Imagerie iode CED des 3 rats sains : suivi cinétique

Un suivi cinétique avec quatre points de temps a été réalisé sur les trois rats sains de l'étude. Ces rats ont reçu par injection CED 20 μL d'iode seul dans l'hémisphère droit, suivi plus tard de l'injection de 20 μL d'iode + épinéphrine dans l'hémisphère gauche. Les différents temps de ce suivi sont résumés dans le Tableau 21 ci-dessous.

Nom du rat	Durée entre fin injection hem. gauche et injection hem. droit	Δt entre les scans successifs 1-2, 2-3, 3-4	Temps entre fin d'injection et imagerie par scan (1-2-3-4)	
			Hem. gauche	Hem. droit
S4	1h39'	1h24', 1h04', 1h56'	X, 7', 1h11', 3h07'	22', 1h46', 2h50', 4h46'
S5	2h03'	2h04', 1h, 2h	X, 8', 1h08', 3h08'	7', 2h11', 3h11', 5h11'
S6	1h39'	1h38', 1h, 2h	X, 7', 1h07', 3h07'	8', 1h46', 2h46', 4h46'

Tableau 21: Résumé des paramètres de temps d'injection et d'imagerie pour les trois rats sains de l'étude. L'heure de fin d'injection est définie comme l'instant d'arrêt de la pompe d'injection.

3.4 Analyse des données

Les données brutes sont reconstruites sous IDL® avec l'algorithme de rétroprojection filtrée HST [145] implémenté dans le software maison « idltomo ». Ces données représentent environ 4.8 GB d'espace disque par acquisition. Un premier « cropping » (i.e. réduction des dimensions du volume) des images est appliqué pendant la reconstruction permettant d'obtenir une matrice $1247 \times 1247 \times 400$ dont le stockage nécessite 2.3 GB. Une première mise en forme des données a été faite sous ImageJ. Celle-ci permet essentiellement un premier ajustement de la tête du rat

(horizontalité), puis un second « cropping », passant ainsi de matrices 1247×1247 à 907×763 . Un volume rat constitué de 400 coupes passe ainsi de 2.3 GB à 1 GB d'espace disque. Les données traitées sont ainsi 60 volumes [$907 \times 763 \times 400$] de 1 GB au format raw.

3.4.1 Méthodes de quantification

Les données étant volumineuses, le choix a été fait de les traiter avec le logiciel commercial Avizo® (version 6.1.1, Visualization Sciences Group) spécialisé dans le traitement de données volumiques d'imagerie. Parmi les outils disponibles, on notera la visualisation de champ scalaire (coupes, isosurfaces, rendu volumique), vecteur ou tenseur ; l'alignement et la segmentation d'images suivi d'analyse quantitative ; l'extraction de surface et la génération de maillage.

3.4.1.1 Recalage des volumes

Afin de pouvoir comparer entre elles les positions des distributions d'iode observées pour chaque rat, nous avons décidé d'effectuer un recalage initial des volumes entre eux. Ce recalage concerne les volumes d'imagerie d'iode CED, pour lesquels tous les volumes rats sont recalés sur un premier volume rat, dont la position dans l'espace image $(\vec{X}, \vec{Y}, \vec{Z})$ a été définie de sorte à ce que le crâne du rat apparaisse comme s'il était sur le cadre stéréotaxique au moment de la chirurgie. Le recalage est également effectué pour comparer chez les rats porteurs de tumeurs les volumes d'iode systémiques (volumes rats obtenus suite à l'injection d'iode par voie systémique) avec les volumes d'iode CED (volumes rats obtenus suite à l'injection CED d'iode).

3.4.1.1.1 Positionnement du premier volume rat (S11-CED)

Par application de transformation rigide (translation, rotation) dans l'espace image, le volume est ré-orienté de sorte à ce que la surface supérieure du crâne apparaisse comme lors de la chirurgie sur le cadre stéréotaxique : la surface osseuse de la boîte crânienne est alignée avec les dimensions $(\vec{X}, \vec{Y}, \vec{Z})$ du volume, cf. Figure 80 ci-dessous.

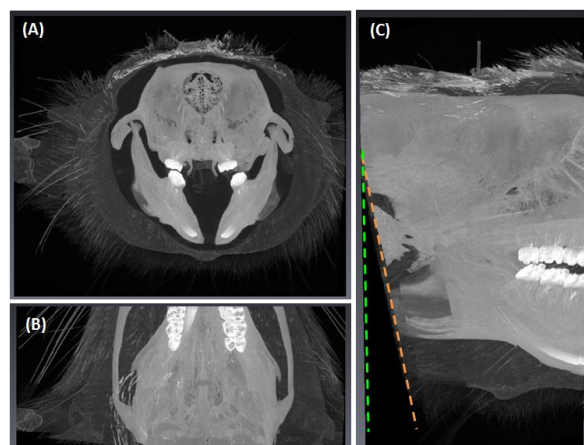


Figure 80: Rat S11 dont la surface de la boîte crânienne est alignée manuellement dans Avizo selon les axes $(\vec{X}, \vec{Y}, \vec{Z})$ du volume. Les projections du volume en maximum d'intensité sont représentées dans chaque direction du volume. Projection en vue coronale (A), en vue axiale (B) et en vue sagittale (C). Sur la vue (C), la ligne en pointillé orange indique un axe du volume avant la transformation, et la ligne en pointillé vert correspond au nouvel axe après transformation et ré-échantillonnage. L'ensemble des volumes CED de l'étude seront recalés sur ce volume.

3.4.1.1.2 Recalage des volumes entre eux

Le recalage appliqué ici est de nature rigide avec 6 degrés de liberté (3 translations, 3 rotations) ; les déformations ne sont pas autorisées. La métrique choisie est l'information mutuelle. A titre informatif, l'implémentation du recalage dans le logiciel est faite sous la forme d'un algorithme d'optimisation itérative avec une approche multi-résolution. Que l'on soit dans le cas où l'on veuille comparer des volumes de rats différents (différence morphologique évidente) le même rat en suivi cinétique (rats sains) ou bien le même rat après injection systémique ou CED d'iode (rats porteurs de tumeurs), on est confronté au fait que le volume modèle et le volume de référence présentent inévitablement des différences de morphologie ou de positionnement. Cela est dû au fait que les rats ne sont pas placés exactement de la même façon sur le cadre en plexiglas d'une acquisition à l'autre, avec par exemple la variabilité de la position de la mâchoire dans la bouche, ou encore de l'emplacement des barres d'oreilles par rapport au champ de vue d'imagerie. Nous avons donc défini la méthode de recalage de sorte à ne pas être sensible à ces différences propres au déroulement de l'expérience. En l'occurrence, nous avons appliqué l'algorithme de recalage à la boîte crânienne seule. Plus précisément, l'os de la boîte crânienne est initialement segmenté sur la base d'une croissance morphologique 3D pour $\mu > 0.80 \text{ cm}^{-1}$. Le masque binaire est appliqué au volume original de sorte à conserver les valeurs de coefficient d'atténuation dans les deux volumes osseux recalés. Dans certains cas, il se peut que l'algorithme ne converge pas vers une solution satisfaisante, probablement due à une configuration géométrique initiale des deux volumes trop défavorable. Dans ce cas de figure, on fait un pré-alignement du volume modèle sur le volume de référence. Le volume final est ré-échantillonné sur la grille de voxels du volume du rat S11 CED. La Figure 81 ci-dessous illustre sur le rat S12 CED les surfaces de la boîte crânienne avant et après recalage selon cette méthode.

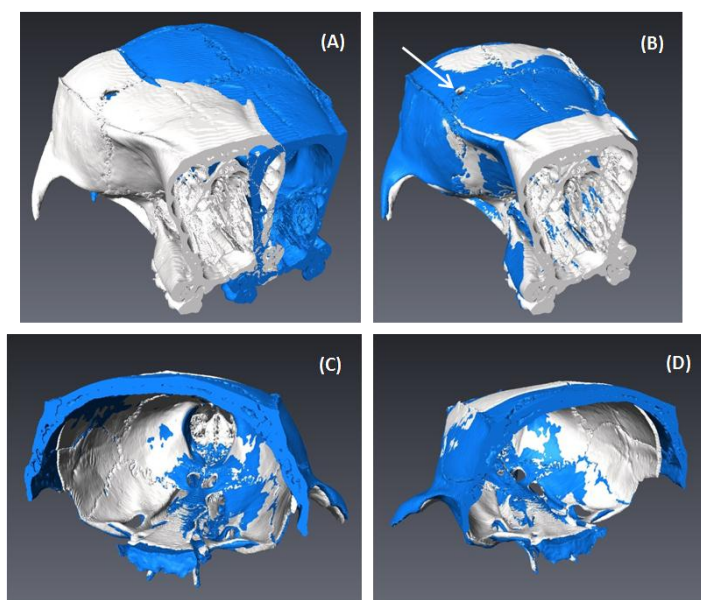


Figure 81: Vue sous Avizo de la surface osseuse de S12-CED (en bleu) avant et après recalage sur celle de S11-CED (blanc). (A) Avant recalage (B) Après recalage, même vue que (A). (C) et (D) Après recalage, vue par l'arrière du crâne. Sur (B), la flèche indique les trous de l'os où l'aiguille est insérée dans le parenchyme cérébral. Les deux trous coïncident assez bien d'un rat à l'autre.

D'après l'exemple ci-dessus de S12-CED, on observe un recalage correct des deux volumes osseux représentés par leurs surfaces respectives. Les surfaces se superposent partiellement par endroit ce qui indique une bonne correspondance. La partie arrière du crâne semble indiquer un léger écart de position, le crâne de S12 à cet endroit étant légèrement au-dessus de celui de S11. Ce type d'écart n'indique pas nécessairement un recalage peu précis, mais correspond très probablement aux différences morphologiques osseuses entre les deux rats.

3.4.1.1.3 Précision du recalage sur un même rat

Nous avons évalué l'ordre de grandeur de la précision spatiale obtenue par cette méthode de recalage. Cette estimation a été menée sur le volume d'imagerie d'un rat, avec comme volume de référence le volume CED de S18 (déjà recalé sur le volume S11-CED) et comme volume modèle le volume iode systémique de S18 (noté S18-SYST). Cela a été fait de deux façons différentes, en comparant la position de quatre points à des emplacements anatomiques donnés sur les deux volumes S18-CED et S18-SYST. La première est basée sur la définition des points directement sur les surfaces osseuses de chaque volume. On utilise avec la deuxième façon la même logique mais à partir des trois coupes 2D orthogonales.

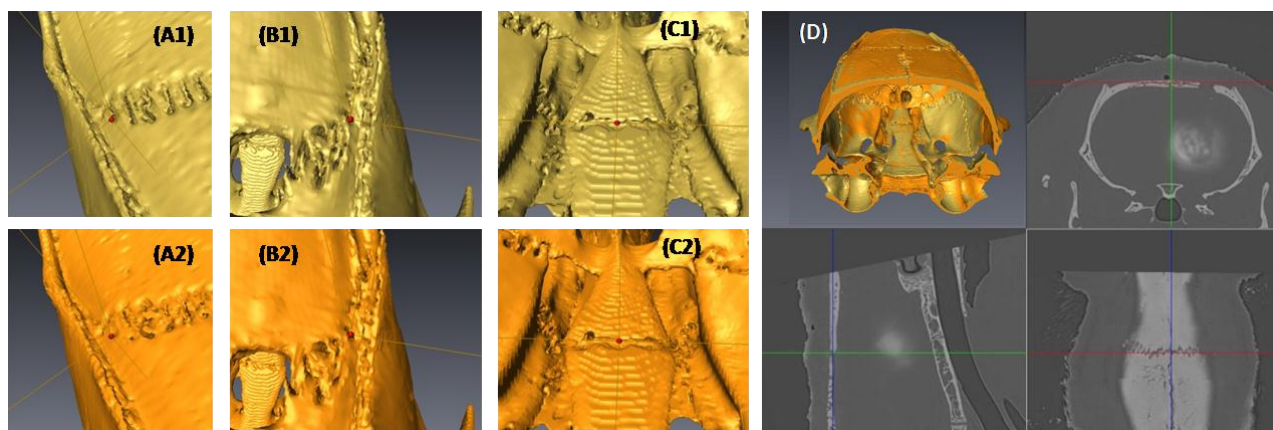


Figure 82: Evaluation de la précision du recalage sur S18 – volume CED et volume systémique recalé – par la mesure de coordonnées cartésiennes de quatre paires de points selon deux approches. (A-B-C) montrent les points 2-3-4 sélectionnés directement en 3D sur les surfaces osseuses du volume CED (indice 1) et du volume systémique (indice 2) ; c'est la première approche. (D) indique la sélection du point 1 (Bregma) sur le volume CED à partir des coupes coronale, sagittale et axiale (de gauche à droite et de haut en bas).

Les valeurs de distances estimées entre chaque point de chaque volume sont résumées dans le Tableau 22 ci-dessous, pour les deux approches de placement des points.

		Approche de placement des points	
		En 3D sur la surface	Par coupes
Distance volume de référence – volume modèle (mm)	Point 1	0.05	0.064
	Point 2	0.05	0.129
	Point 3	0.07	0.046
	Point 4	0.05	0.129
	moyenne ± écart-type	0.055 ± 0.01	0.092 ± 0.043

Tableau 22: Pour une paire de points donnée (point 1 CED et point 1 SYST par exemple), résumé des valeurs de distance euclidienne en mm entre le point du volume CED et le point du volume SYST recalé, pour les deux approches de placement des points utilisées ici. A titre de rappel, la taille de voxel considérée dans notre étude est 45.7 μm .

Dans le cas le plus défavorable - approche de placement des points par coupes – on trouve un écart de positionnement moyen inférieur à 0.1 mm, soit environ 2 voxels. Il est raisonnable de préciser que cette estimation porte sur les données recalées d'un même rat après injection d'iode systémique comparées aux données après injection CED d'iode. Elle ne fournit en aucun cas une estimation de la précision spatiale du recalage pour les données inter-rats où s'ajoute en plus la variabilité morphologique des boîtes crâniennes des rats.

3.4.1.2 Analyse de la distribution d'iode CED

3.4.1.2.1 Mesure de concentration en iode

Les quantifications de concentration en iode sont basées sur le rayonnement synchrotron monochromatique utilisé pour réaliser la tomographie (cf. section 3.1.2.3, p. 135). On peut évaluer la concentration d'iode C_I dans un voxel d'imagerie du cerveau du rat contenant les tissus cérébraux et l'iode et étant scanné à l'énergie E par l'équation (cf. partie 3.1.2.3, p. 135) [136, 137]:

$$C_I \cong \frac{\mu_{mél,E} - \mu_{T,E}}{\left(\frac{\mu}{\rho}\right)_{I,E}}$$

Avec :

1. C_I ($g.cm^{-3}$) la concentration d'iode dans un voxel d'imagerie
2. $\mu_{mél,E}$ (cm^{-1}) le coefficient d'atténuation linéique du mélange {tissu + iode}, mesuré dans le voxel
3. $\mu_{T,E}$ (cm^{-1}) le coefficient d'atténuation linéique du tissu seul, mesuré par exemple dans un ROI de l'hémisphère controlatéral sans iode
4. $(\mu/\rho)_{I,E}$ ($cm^2.g^{-1}$) le coefficient d'atténuation massique de l'iode à l'énergie E, connu des abaques [139]. A 35 keV, on a pour l'iode (Z= 53), $(\mu/\rho)_{I,E} = 31.23 cm^2.g^{-1}$

La programmation des cartes de concentration d'iode est faite directement dans Avizo à partir des cartes reconstruites résolues en coefficient d'atténuation linéique $\mu_{mél,E}$. La valeur de $\mu_{T,E}$ a été estimée dans l'hémisphère controlatéral de plusieurs rats de l'étude ($n = 9$) dans un ROI contenant environ 75 000 voxels :

$$\mu_{T,E} = 0.3345 \pm 0.0038 \text{ cm}^{-1}$$

3.4.1.2.2 Segmentation et volume de distribution d'iode

Le but de l'approche ci-dessous est de segmenter la distribution d'iode sur les coupes tomographiques pour en extraire plusieurs informations à commencer par le volume de distribution. Plusieurs critères dans la littérature sont habituellement utilisés pour évaluer ce volume, et l'utilisation de seuils est la plus courante. Par exemple, définir un seuil à 5 % de la concentration d'injection C_0 (ici $C_0 = 100 \text{ mg.mL}^{-1}$ d'iode) ou bien en se plaçant au dessus du bruit avoisinant la distribution avec un seuil valant $\mu_0 + \lambda \sigma$ avec μ_0 la valeur moyenne du coefficient d'atténuation linéaire, σ l'écart-type du bruit et λ un critère arbitraire. *Nous avons choisi de calculer ce volume sur la base du seuil défini à 5 % de C_0 , c'est-à-dire $5 \text{ mg.mL}^{-1} \equiv 0.4907 \text{ cm}^{-1}$.* On note ce volume par la suite $Vd_{5\%}$. Le volume CED une fois chargé dans Avizo, la segmentation est réalisée avec « Image segmentation Editor ». La segmentation est réalisée en plusieurs étapes qui permettent de gérer certains cas de figures plus complexes. En voici le contenu, également résumé Figure 83 :

- 1) L'os de la boîte crânienne est segmenté en réalisant une croissance (Magic Wand, All slices, $\mu \in [0.60 \text{ cm}^{-1}; +\infty]$) à partir d'un voxel identifié visuellement comme appartenant à cette région osseuse. Le label est verrouillé de sorte à ce que les sélections suivantes (label iode + marge typiquement) ne viennent pas écrire par dessus ces voxels « os » lors de l'attribution des voxels sélectionnés au label « iode + marge ».
- 2) Une première segmentation de l'iode est faite avec une marge. La segmentation est faite en réalisant une croissance (« Magic Wand », All slices, $\mu \in [0.4907; 3.4575 \text{ cm}^{-1}]$, 3.4575 cm^{-1} correspondant à 100 mg.mL^{-1} d'iode) à partir d'un voxel sélectionné dans la région iodée. Cette sélection est ensuite dilatée plusieurs fois avec une opération de morphologie mathématique (Selection, Grow, All slices ou Volume), de sorte à ce que la sélection englobe avec une marge suffisante toute la région iodée.
- 3) Cette première labellisation {iode + marge} définit un masque binaire qui est appliqué au volume original de sorte à obtenir un volume toujours codé en $\mu_{mél,E}$ mais contenant uniquement la région {iode + marge} (module « Arithmetic »).
- 4) Ce nouveau volume est à nouveau édité en segmentation. Le label final de la distribution d'iode est obtenu en faisant un seuillage (Selection, Threshold, All slices) en mode min/max (plage identique $\mu \in [0.4907; 3.4575 \text{ cm}^{-1}]$).
- 5) Pour les représentations en surface de $Vd_{5\%}$, le label est suivi des opérations morphologiques suivantes : remplissage (Segmentation, Fill Holes, All Slices), suppression des voxels bruités périphériques (Segmentation, Remove Islands, All Slices - Size 15 – Percentage 0.25) et d'un lissage (Segmentation, Smoothing labels, 3D volume, Kernel size 3).

Cette méthode permet de s'assurer de la sélection de l'ensemble des voxels iodés de la distribution tel que $\mu \in [0.4907; 3.4575 \text{ cm}^{-1}]$. Notamment, on pourrait penser que la distribution d'iode devrait être topologiquement connexe, mais il s'agit d'un cas idéal et on peut trouver relativement

souvent par la méthode présentée ci-dessus des voxels légèrement en aval de la frontière connexe de la distribution, notamment dans le cas de données bruitées, justifiant de ne pas se contenter d'une simple croissance. Une autre méthode aurait pu être de réaliser plusieurs croissances à partir de points de départ multiples puis d'en faire la réunion mais le manque d'automatisme de l'approche dans le logiciel aurait rendu cette méthode plus lourde et biaisée par le choix utilisateur des points initiaux.

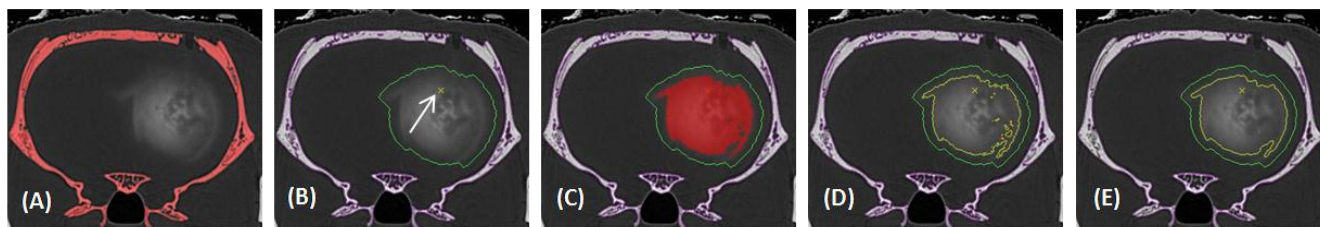


Figure 83: Images sous Avizo des étapes de segmentation de la distribution d'iode CED. Le rat présenté est porteur de tumeur F98 au stade J19 (S11, groupe « $0.5 \mu\text{L} \cdot \text{min}^{-1}$ iode »). (A) Sélection en rouge des voxels osseux de la boîte crânienne. Affichage linéaire entre 0 et 2 cm^{-1} . (B) Label « iode + marge » en vert. Le label « os » apparaît en violet. La flèche indique le voxel de départ de la croissance. (C) Sélection des voxels iodés en rouge par seuillage restreint au label « iode + marge » (D) Labels associés aux trois étapes précédentes. Le calcul du volume de distribution et les quantifications associées sont faits à partir du label « iode » (E) Labels après les opérations successives de morphologie de « Fill Holes », « Remove Islands » et de « Smoothing labels » tel que décrit dans le paragraphe ci-dessus.

3.4.1.2.3 Histogrammes

Un des paramètres intéressants de l'analyse est l'histogramme de concentration d'iode *dans le volume de distribution à 5 % segmenté* ci-dessus. Nous les avons extraits systématiquement dans cette analyse puis fait des moyennes par groupe. Les histogrammes cumulatifs normalisés sont extraits de la même façon. Ils indiquent, à une concentration en iode donnée, le pourcentage de voxels dans le volume $Vd_{5\%}$ ayant une concentration inférieure ou égale à cette concentration. Les histogrammes de concentration d'iode – simple ou cumulatif normalisé – sont calculés avec 256 points répartis entre 0 et $30 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$, ou bien 512 points entre 0 et $60 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$, selon les cas. La même densité de points est utilisée pour les histogrammes d'iode systémique (43 points entre 0 et $5.04 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$).

3.4.1.2.4 Centres géométriques et profils de concentration

Nous avons extrait les coordonnées du centre géométrique de la distribution d'iode systématiquement pour les données systémiques et CED. Bien qu'étant un outil relativement peu précis en soi en raison des variabilités de forme de distribution d'iode (par exemple dans le cas de reflux), il permet d'estimer l'ordre de grandeur de la variabilité de cette position pour l'ensemble des volumes rats CED de l'étude. Par ailleurs, les profils de concentration dans la distribution sont définis comme passant par ce centre. Cette approche et la comparaison directe des données entre les rats n'est possible que grâce au recalage des volumes rats entre eux. Les profils de concentration sont ainsi tracés systématiquement dans les trois directions de l'espace centrées sur ce point : les axes gauche-droite, queue-nez, postérieur-antérieur.

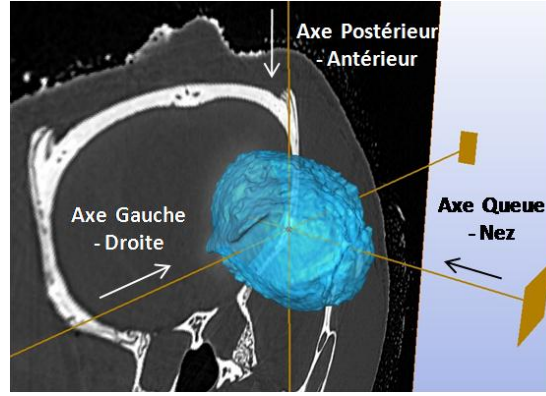


Figure 84: Représentation de la surface du volume de distribution d'iode à 5 % de C_0 pour S11-CED (groupe J19, $20 \mu L$, « $0.5 \mu L \cdot \min^{-1}$ iode »). Le centre de la distribution et les trois axes des profils de concentration sont représentés en orange. Une coupe coronale codée en $\mu_{mél,E}$ est représentée en arrière-plan avec un affichage linéaire entre 0 et 2 cm^{-1} . L'axe queue-nez est plus généralement connu sous le nom d'axe caudal-rostral.

3.4.1.2.5 Masse d'iode dans le volume de distribution à 5 %

Nous avons enfin évalué la faisabilité de mesure de la masse d'iode présente dans le volume de distribution à 5 % à partir des cartes de concentration. Elle est évaluée en intégrant la concentration d'iode sur chaque voxel contenu dans le volume de distribution, multiplié par le volume voxel, selon :

$$m_I^{Vd_{5\%}} = \iiint_{Vd_{5\%}} C_I(\vec{r}) dV = dV_{\text{voxel}} \times \sum_{j=1}^{N_{\text{voxels}} \in Vd_{5\%}} C_I(j)$$

Eq. 109

Avec C_I définit en $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ et donc m_I définit en mg . Cette masse calculée pour chaque distribution d'iode CED est ensuite comparée avec la masse connue expérimentalement d'après la concentration d'injection et le volume injecté, en l'occurrence ici $m_I(t = T_{inj}) = C_0 \cdot V_i(T_{inj}) = 100 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1} \times 20 \mu L = 2 \text{ mg}$.

3.4.2 Résultats du groupe « rats sains »

Les volumes de distribution à 5 % de C_0 et les concentrations moyennes des trois rats sains environ 10 minutes après fin d'injection des $20 \mu L$ d'iode seule dans l'hémisphère droit sont résumés dans le Tableau 23 ci-dessous.

	S4	S5	S6	Moyenne $\pm$ Ecart-type
$Vd_{5\%}(\text{mm}^3)$	83.48	72.97	80.47	78.97 ± 5.41
$[I](\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1})$	13.3	14.8	15.4	14.5 ± 1.1
$m_I(\text{mg})$	1.11	1.08	1.24	1.14 ± 0.09

Tableau 23: Volumes de distribution à 5 % de C_0 , concentrations moyennes d'iode et masses d'iode calculées des rats sains ayant reçu l'injection CED d'iode seule dans l'hémisphère droit.

On déduit du volume de distribution moyen pour ce groupe un rapport volume de distribution sur volume d'injection valant $Vd_{5\%}/V_i = 3.95 \pm 0.27$.

L'exemple de S4 en termes de coupes tomographiques, de volume de distribution à 5 % et de profils de concentration en iode est présenté sur la Figure 85 ci-dessous.

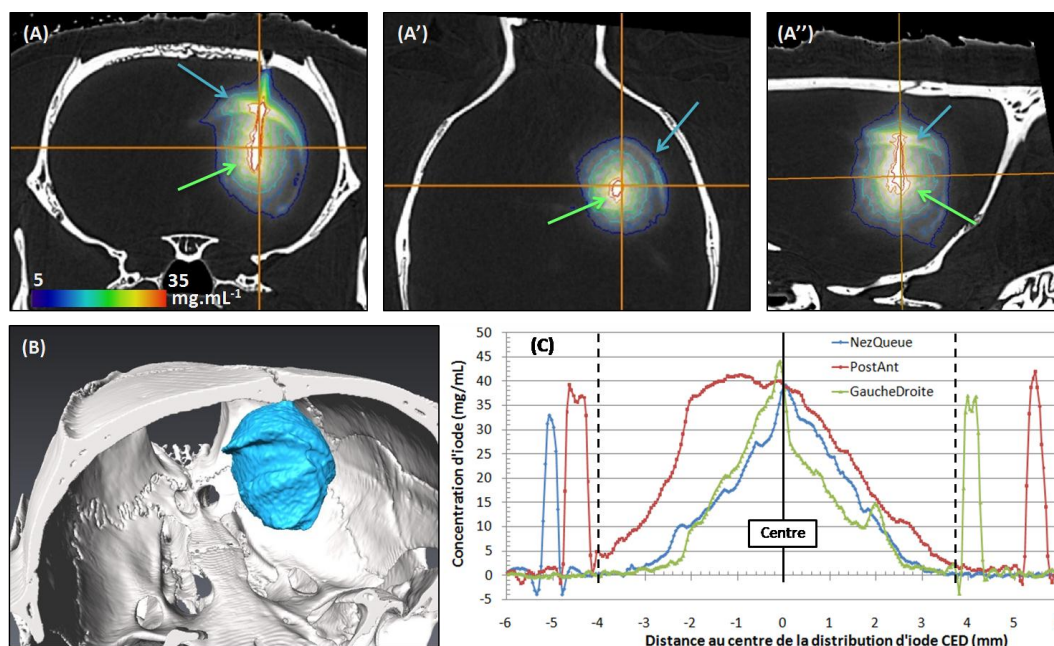


Figure 85 : Illustration de l'injection de 20 μL d'iode seul dans l'hémisphère droit du rat sain S4. (A, A', A'') représentent les coupes tomographiques résolues en $\mu\text{mél,E}$ (cm^{-1}) superposées avec les isocontours appliqués sur la concentration d'iode par 8 couleurs distribuées entre 5 et 35 mg.mL^{-1} , respectivement selon les vues coronale, axiale et sagittale. Les deux lignes oranges s'intersectent au centre géométrique de la distribution d'iode. Les flèches verte et bleu indiquent respectivement le tissu cible (striatum) et le corps calleux. (B) Volume de distribution à 5 % de 100 mg.mL^{-1} , représenté en bleu, ainsi que la surface de la boîte crânienne représenté en blanc – vue par l'arrière gauche. (C) Profils de concentration en iode dans les trois directions tracés et centrés au centre du volume de distribution d'iode à 5 %. Le trait plein gras indique le centre, tandis que les traits pointillés gras indiquent la frontière avec le reste du tissu et l'os avoisinants.

On observe à partir des coupes tomographiques orthogonales ci-dessus une distribution d'iode relativement homogène dans le tissu cible – striatum, autour de l'extrémité de l'aiguille. Des concentrations plus élevées sur le trajet de l'aiguille sont observées pour 2/3 rats, avec dans le cas de S4 (cf. Figure 85 (C)), des concentrations d'environ 40 mg.mL^{-1} sur le profil postérieur – antérieur. Dans le cas de S4 toujours, cette trace d'iode le long de l'aiguille apparaît également sur la partie supérieure de la distribution, jusqu'au niveau du trou de l'os. Cette trace est légèrement moins marquée pour les deux autres rats du groupe. On note par ailleurs la présence d'iode au niveau du corps calleux et de son prolongement, par exemple Figure 85 (A) où l'on voit un effet de couronne hyperintense sur la partie supérieure de la distribution. Cela est observé pour 3/3 rats, et selon nous est lié au volume injecté (20 μL) qui serait supérieur au volume interstitiel de tissu « disponible » dans le striatum, structure anatomique cible, impliquant la distribution d'une partie du volume injecté dans une structure adjacente au tissu cible. Une évaluation de ce volume disponible a été faite à partir de l'atlas de Watson et Paxinos [156] sur la base d'une labellisation coupe par coupe sous ImageJ du noyau caudé (Caudate Putamen, CPu) – région cible. Nous trouvons ainsi un volume total de tissu disponible de 41.7 mm^3 dans cette structure. Soit si l'on considère une fraction volumique extracellulaire d'environ 20 % (Nicholson *et al.* 1998 [54]) un volume interstitiel disponible d'environ 8.3 mm^3 , ce qui est effectivement inférieur aux 20 μL administrés dans notre étude par un facteur 2.4.

3.4.2.1 Histogrammes de concentration d'iode

Ces histogrammes, extraits dans le volume distribution à 5 % de C_0 , sont évalués sur les données d'iode seul dans l'hémisphère droit avec le premier scan d'imagerie. On représente Figure 86 les histogrammes simples et cumulatifs normalisés des trois rats sains.

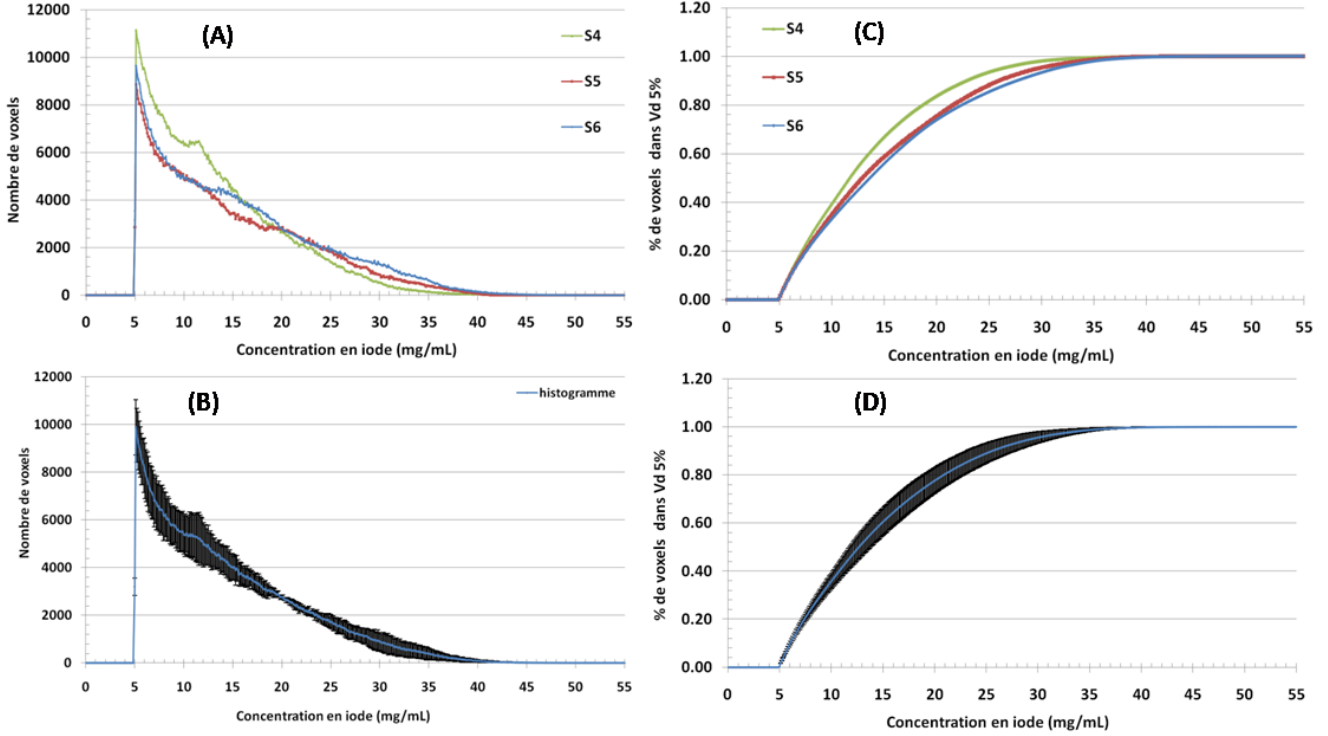


Figure 86: (A) Histogrammes de concentration d'iode dans $Vd_{5\%}$ pour les trois rats sains de l'étude (B) Moyennes et écart-types des histogrammes des rats figurés en (A). (C) Histogramme cumulatif normalisé de concentration d'iode dans $Vd_{5\%}$ pour les trois mêmes rats. (D) Moyennes et écart-types des histogrammes cumulatifs normalisés des histogrammes rats figurés en (C). Les histogrammes cumulatifs normalisés indiquent à une concentration donnée le pourcentage de voxels dans le volume $Vd_{5\%}$ ayant une concentration inférieure ou égale à cette concentration.

Le seuil de calcul du volume de distribution utilisé pour extraire ces histogrammes a été fixé à 5 mg.mL^{-1} . On constate en moyenne d'après la Figure 86 (D) que 36, 78 et 96 % des voxels du volume de distribution à 5 % occupent des concentrations d'iode inférieures à 10, 20 et 30 mg.mL^{-1} respectivement. On note également qu'en moyenne, 50 % des voxels de $Vd_{5\%}$ sont au-delà d'une concentration en iode de 12.7 mg.mL^{-1} . Autrement dit, la moitié du volume de distribution d'iode à 5 % comporte des concentrations en iode allant de 13 à 46 mg.mL^{-1} . A titre informatif, on peut aussi dire d'après les histogrammes Figure 86 (A) qu'en sommant le nombre de voxels de l'histogramme, on obtient le nombre total de voxels présents dans le volume de distribution à 5 %. Autrement dit, l'aire sous la courbe des histogrammes tracés Figure 86 (A) est proportionnel au volume de distribution :

$$Vd_{5\%} = dV \times \frac{1}{d[I]} \int_5^{[I]_{\max}} N([I]) d[I] = dV \times N_{\text{tot}}$$

Eq. 110

Avec $N([I])$ le nombre de voxels pour chaque point de concentration $d[I]$, $d[I]$ étant le facteur d'échantillonnage de l'histogramme, ici $60 \text{ mg.mL}^{-1}/512 = 0.117188 \text{ mg.mL}^{-1}.\text{point}^{-1}$. dV

est ici le volume d'un voxel, en mm^3 . Visuellement sur la Figure 86 (A), on peut ainsi retrouver que $Vd_{5\%}(S4) > Vd_{5\%}(S6) > Vd_{5\%}(S5)$.

3.4.2.2 Suivi temporel post-injection

La concentration moyenne et maximale d'iode ont été évaluées dans un ROI constitué d'environ 1700 voxels situé dans le striatum en fonction du temps de post-injection dans les deux hémisphères droit et gauche associés aux injections d'iode et iode + épinéphrine respectivement.

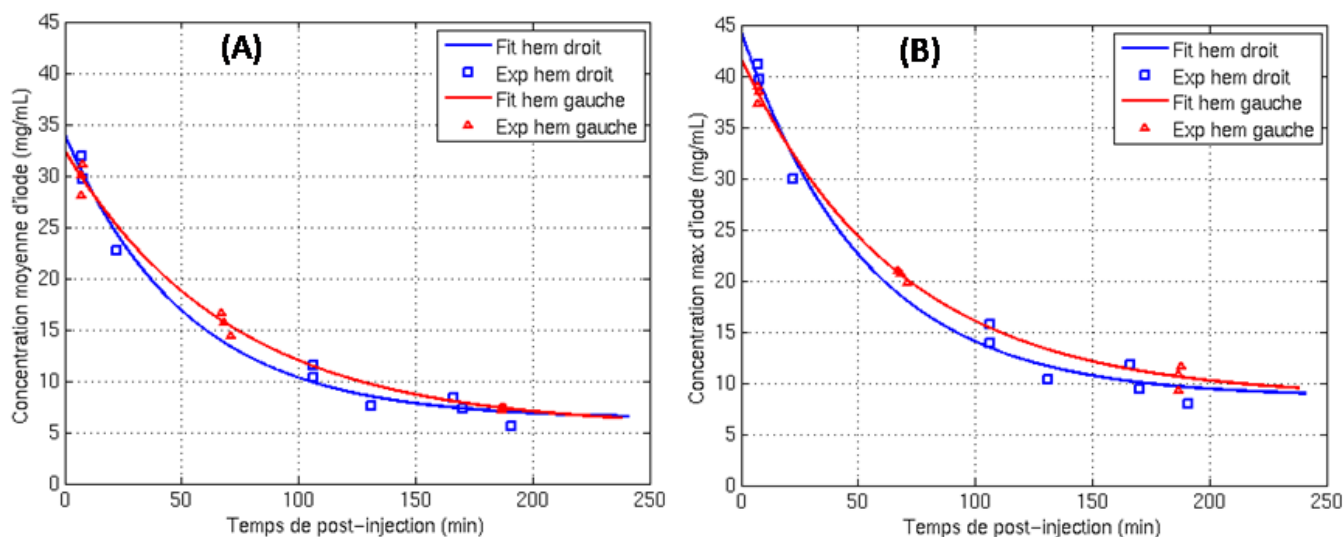


Figure 87 : Evolution en fonction du temps de post-injection de la concentration d'iode moyenne (A) et maximale (B) dans un ROI de 1700 voxels dans le striatum des rats sains dans l'hémisphère droit et gauche contenant respectivement l'iode et l'iode + épinéphrine tous deux injectés dans $20 \mu L$ à $0.5 \mu L \cdot min^{-1}$. Les données fittées avec l'ensemble des points sont résumées dans le Tableau 24.

La décroissance temporelle de la concentration d'iode est fittée pour chaque hémisphère et pour l'ensemble des rats avec une fonction exponentielle (Matlab, minimisation en moindres carrés):

$$[I](t) = y_0 + (A - y_0)e^{-t/T}$$

Eq. 111

Où $T (min)$ est le temps caractéristique de décroissance de la concentration, $y_0 (mg \cdot mL^{-1})$ la concentration résiduelle quand $t \rightarrow \infty$ et $A (mg \cdot mL^{-1})$ la concentration à l'origine.

	Paramètres de fit	Hém. Gauche (iode + épi)	Hém. Droit (iode)
Valeurs de fit avec $[I]_{moy}$	$T (min)$	70.31	51.71
	$A (mg.mL^{-1})$	32.45	34.03
	$y_0 (mg.mL^{-1})$	5.48	6.29
	R_{corr}^2	0.9908	0.9863
Valeurs de fit avec $[I]_{max}$	$T (min)$	67.16	53.06
	$A (mg.mL^{-1})$	41.68	44.38
	$y_0 (mg.mL^{-1})$	8.56	8.61
	R_{corr}^2	0.9960	0.9859

Tableau 24: Valeurs des paramètres de fits obtenus pour chaque hémisphère avec les données des trois rats. Les données fittées sont les concentrations moyennes et maximales d'iode telles que mesurées dans la région d'intérêt.

On trouve ainsi avec les valeurs moyennes de concentration d'iode un temps caractéristique de décroissance de 51.7 min pour l'iode seul (hémisphère droit) contre 70.3 min pour l'iode + épinéphrine (hémisphère gauche), et respectivement avec les valeurs maximales de concentration d'iode on trouve 53.1 min contre 67.2 min. La concentration à l'origine et la concentration résiduelle ont des valeurs similaires. A titre de complément, une étude précédente dans l'équipe basée sur les valeurs maximales avait amené à trouver un temps caractéristique de décroissance fitté de 55.6 min pour le même agent de contraste avec des rats sains ayant reçu 20 μL d'iode à 0.5 $\mu L.min^{-1}$ suivi jusqu'à des temps de post-injection allant jusqu'à 350 min (détecteur Germanium, 350 $\mu m \times 350 \mu m \times 1 mm$) (Rousseau *et al.* 2007 [112]).

3.4.3 Résultats du groupe « rats porteurs de tumeurs »

3.4.3.1 Analyse des données CED

Nous présentons sur la Figure 88 ci-dessous les images tomographiques de la distribution d'iode CED obtenu pour un rat représentatif de chaque groupe de rats porteurs de tumeurs F98 au stade J19.

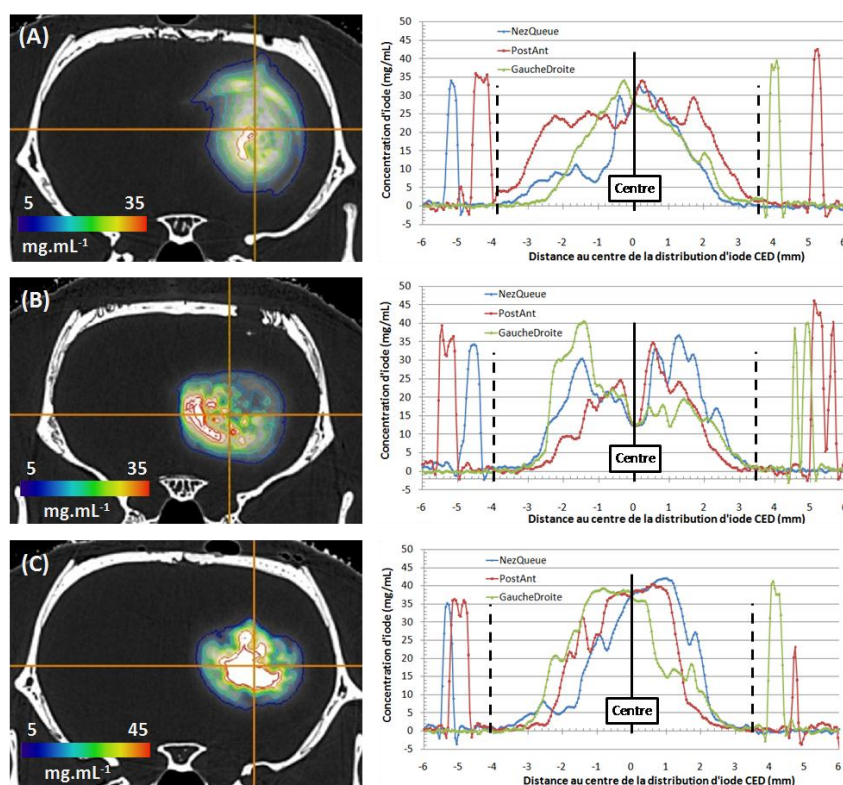


Figure 88: (A,B,C) Coupes tomographiques coronales et profils de concentration d'iode centrés sur la distribution CED d'iode pour les groupes « tumeurs J19, $0.5 \mu\text{L} \cdot \text{min}^{-1}$ iode », « tumeurs J19, $0.5 \mu\text{L} \cdot \text{min}^{-1}$ iode + épi » et « tumeurs J19, $2.5 \mu\text{L} \cdot \text{min}^{-1}$ iode ». Les données (S8, S18, S7) sont celles d'un rat représentatif de chaque groupe. Les coupes tomographiques sont résolues en $\mu\text{mél},E(\text{cm}^{-1})$ – affichage linéaire de 0 à 2 cm^{-1} - superposées avec les isocontours appliqués sur la concentration d'iode par 8 contours distribués entre 5 et $35 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ pour (A) et (B), et 10 contours entre 5 et $45 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ pour (C). Les deux lignes oranges s'intersectent au centre géométrique de la distribution d'iode. Pour les profils, le trait plein gras indique le centre géométrique de la distribution CED, tandis que les traits pointillés gras indiquent la frontière avec le reste du tissu et l'os avoisinants.

On observe d'après la Figure 88 que la distribution CED d'iode dans le tissu tumoral se révèle hétérogène en comparaison avec la distribution CED d'iode observée dans le tissu sain, cf. Figure 85, p. 157. Les coupes tomographiques indiquent en effet des régions apparaissant comme hypo-intenses, dont l'analyse des données systémiques plus loin, cf. partie 3.4.3.4 p. 165, a montré qu'elles correspondaient spatialement avec le volume tumoral estimé. Ces mêmes régions qui ne sont d'ailleurs pas pour autant en dessous du seuil de segmentation du volume de distribution ($5 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$) puisque l'analyse des profils de concentration d'iode par exemple pour le rat S18, cf. Figure 88 (B), indique des concentrations de l'ordre de 10 à $15 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ dans les « creux ». L'interprétation de la présence de ces régions est abordée dans la partie 3.5, p. 177. On note par la suite que pour l'ensemble des rats porteurs de tumeurs F98 au stade J19 dans cette étude, les concentrations maximales d'iode CED atteintes sont de $43.5 \pm 7.1 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$, ce qui est cohérent avec les valeurs maximales trouvées chez les rats sains. En termes de profils de concentration, bien que les données iode CED soit recalées entre elles, ce qui donnent un sens à une comparaison entre rats de chaque groupe, il reste délicat de faire un moyennage des profils entre eux, vu l'hétérogénéité des tissus et la variabilité des tumeurs d'un rat à l'autre. La comparaison des données par groupe en termes de profils n'a donc pas été suivie, mais ces courbes complètent avec

intérêt les images présentées. Les volumes de distributions à 5 % de C_0 des rats porteurs de tumeurs F98 au stade J19 sont résumés dans le tableau ci-dessous :

Catégorie d'injection CED Rats tumeurs, stade J19	Nombre de rats	$Vd_{5\%}(mm^3)$ (moyenne $\pm$ écart-type)	$[I] (mg.mL^{-1})$ (moyenne $\pm$ écart-type)	$m_I (mg)$ (moyenne $\pm$ écart-type)
$0.5 \mu L.min^{-1}$ iode	4	88.43 ± 7.41	12.34 ± 2.01	1.09 ± 0.20
$0.5 \mu L.min^{-1}$ iode + épi	5	85.06 ± 19.46	14.50 ± 0.96	1.23 ± 0.27
$2.5 \mu L.min^{-1}$ iode	3	68.80 ± 11.69	18.20 ± 1.73	1.26 ± 0.29

Tableau 25: Résumé des valeurs de volume de distribution à 5 % de C_0 , des valeurs de concentrations d'iode moyennes et de masses d'iode calculées dans ce volume pour les trois groupes de rats porteurs de tumeurs F98 au stade J19.

Ces valeurs sont représentées sur la Figure 89 ci-dessous.

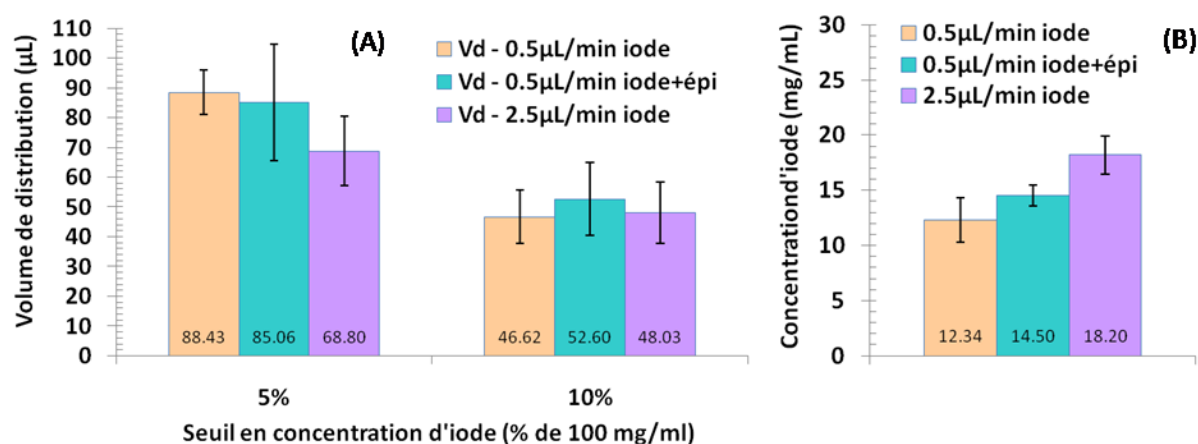


Figure 89: Valeurs des volumes de distribution à 5 et 10 % de C_0 (A) et des concentrations d'iode (B) par groupe d'étude des rats porteurs de tumeurs F98 au stade J19.

Il n'y a pas de différences statistiques significatives (définie à $p < 0.05$) entre les volumes de distributions de chaque groupe comme l'indique les valeurs de p du test t de Student, cf. Tableau 26 ci-dessous.

Groupes rats tumeurs J19	$p (Vd_{5\%})$	$p (Vd_{10\%})$	$p ([I])$
0.5 I et 0.5 I+E	0.74	0.43	0.12
0.5 I+E et 2.5 I	0.19	0.60	0.05
0.5 I et 2.5 I	0.08	0.86	0.01

Tableau 26: Tests statistiques (Excel 2007, t-test de Student, bilatéral, variances inégales) sur les volumes de distributions à 5 et 10 % de C_0 et sur la concentration d'iode. Le résultat du test indique un écart statistiquement significatif entre les groupes lorsque $p < 0.05$. « I » indique iode et « I+E » indique iode + épinéphrine.

Les volumes de distribution d'iode évalués à 5 et 10 % de C_0 ne sont pas significativement différents entre les trois groupes de rats porteurs de tumeurs F98 à J19 ($p > 0.05$). L'analyse selon la concentration d'iode indique qu'il n'y a pas non plus de différence statistique significative entre le groupe « $0.5 \mu L.min^{-1}$ iode » et le groupe « $0.5 \mu L.min^{-1}$ iode + épinéphrine » ($p = 0.12$). Le groupe « $0.5 \mu L.min^{-1}$ iode » et le groupe « $0.5 \mu L.min^{-1}$ iode + épinéphrine » sont cela dit tous les deux significativement différents du groupe « $2.5 \mu L.min^{-1}$ » ($p = 0.05$ et 0.01 respectivement) avec des concentrations moyennes respectives de 12.3 , 14.5 et

18.2 mg.mL⁻¹ pour les trois groupes. Les tests de comparaison de $Vd_{5\%}$ et des concentrations d'iode pour les injections d'iode seule entre les rats sains et les rats tumeurs F98 à J19 sont présentés ci-dessous dans le Tableau 27.

Groupes iode seul	$p(Vd_{5\%})$	$p(Vd_{10\%})$	$p([I])$
sain 0.5 I et tumeur J19 0.5 I	0.11	0.43	0.13
sain 0.5 I et tumeur J19 2.5 I	0.27	0.68	0.04

Tableau 27: Tests statistiques (Excel 2007, t-test de Student, bilatéral, variances inégales) sur les volumes de distributions à 5 et 10 % de C_0 et sur la concentration moyenne d'iode. Le résultat du test indique un écart statistiquement significatif entre deux groupes lorsque $p < 0.05$. « I » indique iode et « I+E » indique iode + épinéphrine.

Il n'y a pas non plus de différence significative entre les volumes de distribution à 5 et 10 % entre les groupes « sain 0.5 $\mu\text{L}.\text{min}^{-1}$ iode » et « tumeur J19 0.5 $\mu\text{L}.\text{min}^{-1}$ iode », ni entre « sain 0.5 $\mu\text{L}.\text{min}^{-1}$ iode » et « tumeur J19 2.5 $\mu\text{L}.\text{min}^{-1}$ iode ». En termes de concentration d'iode, le groupe « tumeur J19 2.5 $\mu\text{L}.\text{min}^{-1}$ iode » se montre également statistiquement différent du groupe « sain 0.5 $\mu\text{L}.\text{min}^{-1}$ iode » ($p = 0.04$). Les valeurs de masse d'iode calculées dans le volume de distribution à 5 % de C_0 , moyennées par groupe, n'ont pas montré de différence statistique significative, trouvant 1.09 ± 0.20 , 1.23 ± 0.27 et 1.26 ± 0.29 pour les trois groupes « tumeur J19 0.5 $\mu\text{L}.\text{min}^{-1}$ iode », « tumeur J19 0.5 $\mu\text{L}.\text{min}^{-1}$ iode + épi » et « tumeur J19 2.5 $\mu\text{L}.\text{min}^{-1}$ iode ». Du point de vue théorique, on s'attend ici à davantage de masse d'iode présente dans $Vd_{5\%}$ pour les groupes « 0.5 $\mu\text{L}.\text{min}^{-1}$ iode + épi » et « 2.5 $\mu\text{L}.\text{min}^{-1}$ iode » pour des raisons que nous discutons p. 177, mais cela n'apparaît pas dans nos données expérimentales en raison des barres d'erreur.

3.4.3.1.1 Histogrammes de concentration d'iode dans $Vd_{5\%}$

Ces histogrammes sont extraits dans le volume distribution à 5 % de C_0 . La Figure 90 ci-dessous représente les histogrammes simples et cumulatifs normalisés pour les trois groupes d'injection CED (rats tumeurs F98, J19). Ils sont définis la plupart du temps par 512 points répartis de 0 à 60 mg.mL⁻¹.

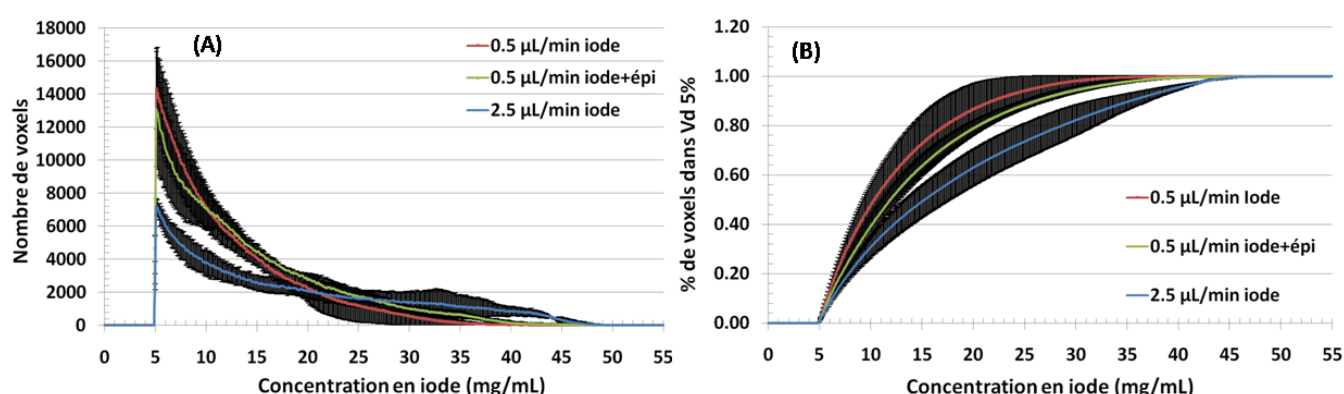


Figure 90 : (A) Histogrammes de concentration d'iode dans $Vd_{5\%}$ moyennés par groupes de rats tumeurs F98 au stade J19. (B) Histogrammes cumulatifs normalisés de concentration d'iode dans $Vd_{5\%}$ également moyennés selon les mêmes groupes. Ces derniers indiquent à une concentration donnée le pourcentage de voxels dans le volume $Vd_{5\%}$ ayant une concentration inférieure ou égale à cette concentration.

On résume quelques pourcentages des histogrammes cumulatifs normalisés à certaines concentrations d'iode dans le Tableau 28 ci-dessous :

Catégorie d'injection CED	Concentration d'iode ($mg.mL^{-1}$)			
	10	20	30	40
Rats tumeurs, stade J19				
0.5 $\mu L.min^{-1}$ iode	47.8	86.8	98.1	99.9
0.5 $\mu L.min^{-1}$ iode + épi	39.4	79.2	94.5	99.5
2.5 $\mu L.min^{-1}$ iode	30.9	63.2	82.3	95.5

Tableau 28: Pour une concentration en iode donnée, pourcentages de voxels dans le volume $Vd_{5\%}$ ayant une concentration inférieure ou égale à cette concentration, pour les trois groupes de rats tumeurs F98 au stade J19.

On note également qu'en moyenne pour les trois groupes « 0.5 $\mu L.min^{-1}$ iode », « 0.5 $\mu L.min^{-1}$ iode + épi » et « 2.5 $\mu L.min^{-1}$ iode », 50 % des voxels de $Vd_{5\%}$ ont une concentration en iode supérieure à 10.4, 11.9 et 15.3 $mg.mL^{-1}$ respectivement. Les concentrations maximales d'iode s'étalent en moyenne de groupe jusqu'à 37.7, 45.0 et 48.8 $mg.mL^{-1}$ respectivement selon ces mêmes groupes. Cela signifie donc qu'en moyenne de groupe, la moitié du volume de distribution à 5 % comporte des concentrations en iode variant respectivement de 10.4, 11.9 et 15.3 $mg.mL^{-1}$ à 37.7, 45.0 et 48.8 $mg.mL^{-1}$ pour les trois groupes « 0.5 $\mu L.min^{-1}$ iode », « 0.5 $\mu L.min^{-1}$ iode + épi » et « 2.5 $\mu L.min^{-1}$ iode ».

3.4.3.2 Analyse des données systémiques et comparaison avec les données CED

Chaque rat porteur de tumeur F98 a été imagé après injection systémique d'iode, comme détaillé à la partie 3.3.3.2, p. 148. Ces données, également acquises avec la caméra FReLoN, nous permettent de mener une analyse selon deux axes. D'une part, nous caractérisons la distribution d'iode systémique de la même façon que nous l'avons fait précédemment pour les injections CED d'iode : calcul de volume, histogrammes de concentration, profils de concentration et centres géométriques. Nous faisons par la suite l'approximation que ce volume d'iode systémique quantifié est une mesure du volume tumoral à l'image des vaisseaux sanguins tumoraux partiellement lésés. On parle alors dans ce qui suit de façon équivalente soit de volume d'iode systémique soit de volume tumoral. D'autre part, nous faisons la comparaison avec les données d'imagerie CED. Plus précisément, après avoir recalé le volume systémique sur le volume CED pour un rat donné, nous sommes en mesure de ré-évaluer la distribution d'iode du volume CED cette fois-ci dans le volume tumoral, et non pas dans le volume de distribution $Vd_{5\%}$. Nous recalculons de cette façon les histogrammes de concentration d'iode CED dans le volume tumoral pour les comparer avec les histogrammes de concentration d'iode systémique. Utilisant les surfaces sur lesquelles s'appuient le volume d'iode CED ($Vd_{5\%}$) et le volume d'iode systémique (Vt), nous estimons également le volume d'intersection, définissant ainsi un pourcentage de recouvrement de l'iode CED dans le volume tumoral. Cette approche originale permise grâce au recalage d'images permet notamment de quantifier le ciblage de l'injection CED par rapport à la localisation tumorale. Nous comparons enfin, en termes de positionnement, la distance entre le centre géométrique du volume d'iode CED avec celui du volume d'iode systémique. Le processus d'analyse complet sous Avizo (hors mis recalage) est présenté sur la Figure 91 ci-dessous :

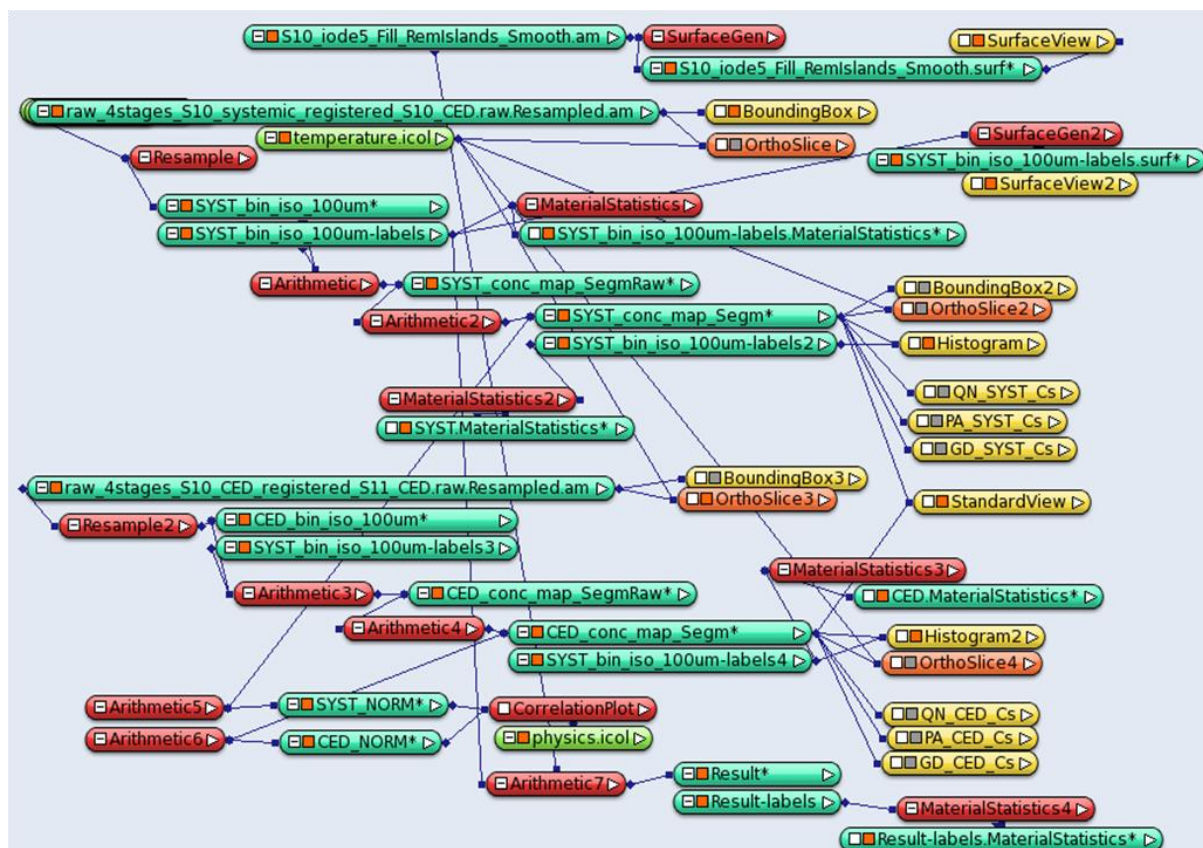


Figure 91: Workflow sous Avizo de l'analyse pour S10 du volume systémique en tant que tel ainsi que de la comparaison avec le volume CED.

3.4.3.3 Recalage des données systémiques sur les données CED

Cette première étape est faite exactement de la même façon que pour le recalage inter-rats que nous avons fait précédemment pour les acquisitions tomographiques CED (cf. partie 3.4.1.1, p. 150). Le recalage est plus précis dans ce cas étant donné qu'il s'agit des mêmes rats.

3.4.3.4 Estimation du volume tumoral à partir des images systémiques

L'ordre de grandeur des concentrations d'iode systémique mesurées sur les images est de 1 mg.mL^{-1} . L'estimation du volume de distribution d'iode systémique est difficile car les concentrations mesurées sont proches de l'amplitude du bruit. Nous avons donc ré-échantillonné les données à une taille de voxel plus élevé, le compromis entre un meilleur rapport signal sur bruit et une taille de voxels suffisamment faible pour limiter le biais du volume partiel étant trouvé à $100 \mu\text{m}$ isotrope contre $45.7 \mu\text{m}$ isotrope initialement (module Resample, Filter Box, résolution $414 \times 349 \times 183$ pour une résolution d'entrée de $907 \times 763 \times 400$). Le volume d'iode systémique est ensuite estimé selon une méthodologie proche de celle développée pour l'analyse de volume CED :

- 1) Une première segmentation de l'iode est faite avec une marge. La segmentation est faite en réalisant une croissance (« Magic Wand », All slices, $\mu \in [0.365 \text{ cm}^{-1} ; +\infty]$) à partir d'un voxel sélectionné dans la région iodée. Cette sélection est ensuite dilatée plusieurs fois avec une opération de morphologie mathématique (Selection, Grow, All slices ou

Volume), de sorte à ce que la sélection englobe avec une marge suffisante toute la région iodée.

- 2) Le label de la distribution d'iode est obtenu en faisant une croissance (« Magic Wand », All slices, $\mu \in [\mu_0 + 6\sigma = 0.3573 \text{ cm}^{-1}; +\infty]$, Same material only) restreinte à la région {iode+marge}. Exceptions pour deux rats où a été pris $\mu \in [\mu_0 + 4\sigma = 0.3497 \text{ cm}^{-1}; +\infty]$.
- 3) Le label final de la distribution d'iode est obtenu *après* les opérations morphologiques suivantes : remplissage (Segmentation, Fill Holes, All Slices), suppression des voxels bruités périphériques (Segmentation, Remove Islands, All Slices - Size 15 – Percentage 0.25) et d'un lissage (Segmentation, Smoothing labels, 3D volume, Kernel size 3).

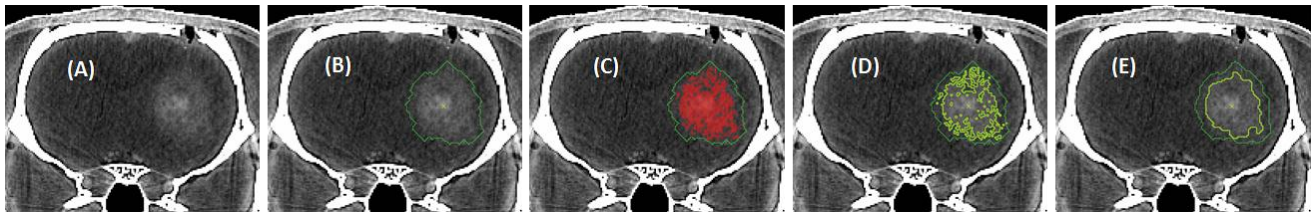


Figure 92: Images sous Avizo des étapes de segmentation de la distribution d'iode systémique. Le rat présenté est porteur de tumeur F98 au stade J19 (S11, groupe « 0.5 $\mu\text{L.min}^{-1}$ iode »). (A) Image coronale brute ré-échantillonnée à 100 μm isotrope. La coupe choisie est en correspondance avec celle présentée sur le volume CED à la Figure 83 (données recalées). Affichage linéaire entre 0.3 et 0.5 cm^{-1} (B) Label « iode + marge » en vert. (C) Sélection des voxels iode de la distribution en rouge par croissance restreinte au label « iode + marge » (D) Label « iode » temporaire suite aux deux étapes précédentes. (E) Labels après les opérations successives de morphologie de « Fill Holes », « Remove Islands » et de « Smoothing labels » tel que décrit dans le paragraphe ci-dessus. Le volume tumoral et les quantifications en concentration sont calculés à partir de ce dernier label « iode ».

Selon cette méthodologie, nous trouvons pour l'ensemble des rats tumeurs F98 au stade J19 un volume tumoral de $20.79 \pm 11.52 \text{ mm}^3$ ainsi qu'une concentration en iode de $1.0 \pm 0.3 \text{ mg.mL}^{-1}$ (S13 et S17 exclus). Ce volume par rat est représenté sur la Figure 93 ci-dessous. Nous avons classé ces tailles de tumeur en définissant l'index suivant :

Index	Rats	Volume tumoral (mm^3)	
		Valeurs	Moyenne $\pm$ écart-type
1	S15, S8, S12	3.56, 8.13, 9.65	7.11 ± 3.17
2	S14, S9, S16	16.65, 20.32, 21.8	19.59 ± 2.65
3	S18, S11, S10, S7	27.29, 27.41, 34.06, 39.03	31.95 ± 5.68

Tableau 29: Index de taille de tumeurs F98 des rats au stade J19. Trois index allant de 1 à 3 décrivent des volumes de tumeurs croissants entre 3.56 et 39.03 mm^3 . On considère ici que le volume d'iode systémique définit une estimation du volume tumoral.

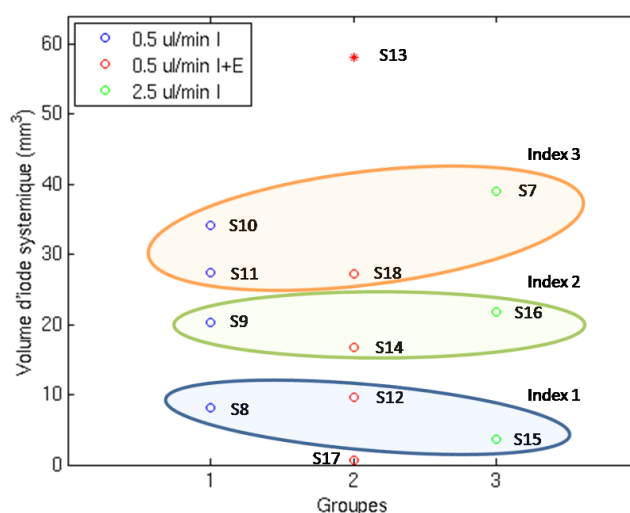


Figure 93: Volumes d'iode systémique pour les différents rats, avec une identification de groupe pour une répartition en index de taille des tumeurs. « I » indique iode et « I+E » indique iode + épinéphrine. Un rat (S13) du groupe « $0.5 \mu\text{L} \cdot \text{min}^{-1}$ iode + épi » a un scan d'imagerie incomplet, il est noté par un astérisque. Le rat S17 ($V_t = 0.62 \text{ mm}^3$) est exclu de l'index 1 pour son faible volume tumoral.

A noter que le rat S17 possédant une tumeur très petite (0.62 mm^3) n'a pas été pris en compte dans l'index 1 de taille de tumeurs et n'est pas présenté dans les courbes suivantes. Pour les dimensions, on retiendra que les extremum des volumes tumoraux, 3.56 et 39.03 mm^3 respectivement, sont associés à des diamètres équivalents sphériques de 1.90 et 4.21 mm . On représente Figure 94 ci-dessous les histogrammes de concentration d'iode systémique dans le volume tumoral tel que segmenté préalablement. Les histogrammes sont superposés pour tous les rats, et colorés selon l'index de taille des tumeurs.

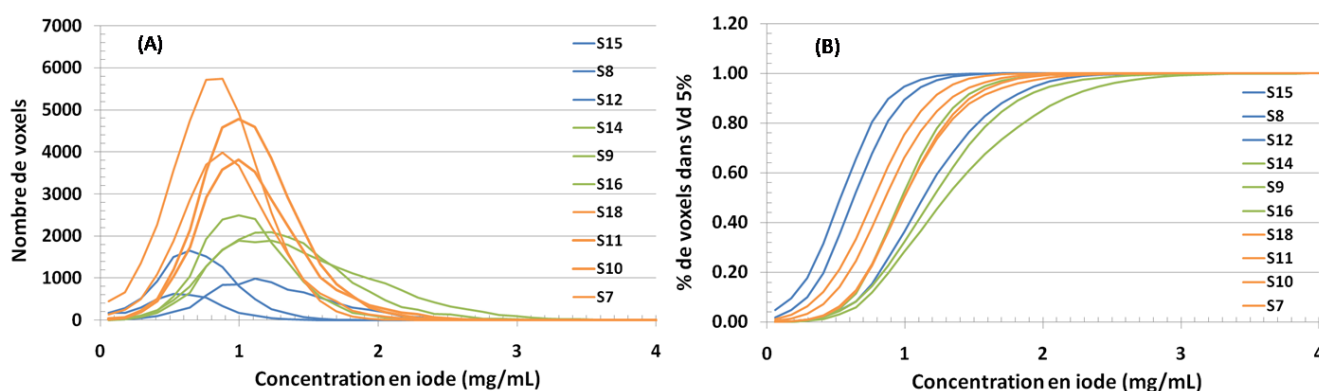
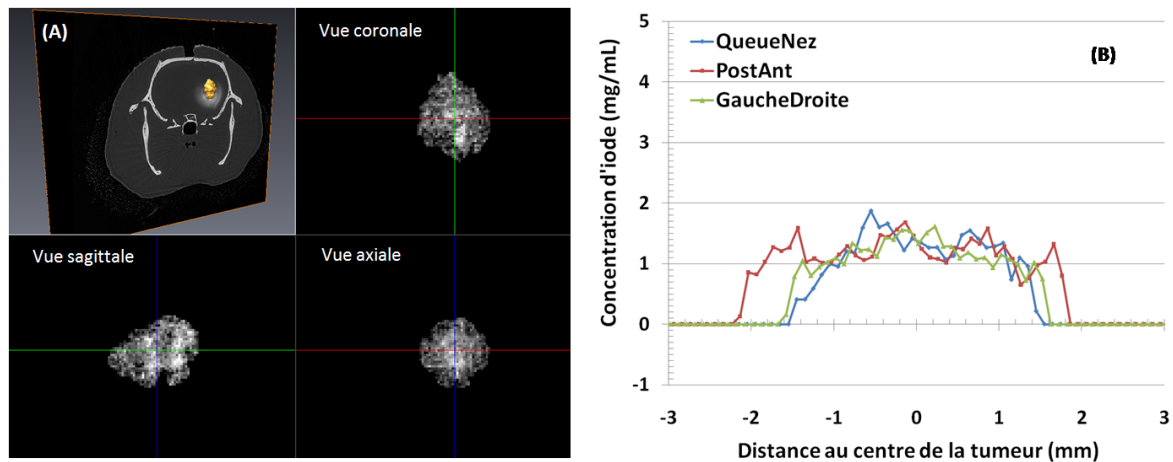


Figure 94: (A) Histogrammes de concentration d'iode systémique dans le volume tumoral estimé des 12 rats tumeurs F98 au stade J19. (B) Histogrammes cumulatifs normalisés en concentration d'iode systémique. Les histogrammes cumulatifs normalisés indiquent à une concentration donnée le pourcentage de voxels dans le volume tumoral ayant une concentration inférieure ou égale à cette concentration.

La distribution d'iode systémique du rat S14 appartenant à l'index 2 de taille des tumeurs est illustrée sur la Figure 95 ci-dessous. La tumeur est relativement compacte. On note des zones plus ou moins concentrées en iode systémique dans son volume.



3.4.3.5 Comparaison données systémiques – données CED :

Dans une logique de comparaison avec les données CED, le volume d'iode CED a également été ré-échantillonné à une taille de voxel de 100 μm isotrope. Les volumes CED et systémique étant recalés, nous ré-évaluons la distribution d'iode du volume CED cette fois-ci dans le volume tumoral par un masque, et non pas dans le volume de distribution $Vd_{5\%}$ tel que nous l'avons fait précédemment. Ceci est fait avec les données ré-échantillonnées à 100 μm isotrope. Nous recalculons de cette façon les histogrammes et profils de concentration d'iode CED dans le volume tumoral pour les comparer avec les histogrammes et profils de concentration d'iode systémique. Puis en utilisant les surfaces sur lesquelles s'appuient le volume d'iode CED ($Vd_{5\%}$) et le volume d'iode systémique (V_t), nous estimons également le volume d'intersection, définissant ainsi un pourcentage de recouvrement de l'iode CED dans le volume tumoral. Nous comparons enfin en termes de positionnement la distance entre le centre géométrique du volume d'iode CED avec celui du volume d'iode systémique. Le processus sous Avizo décrivant la majeure partie de cette analyse est précisé Figure 91, p. 165.

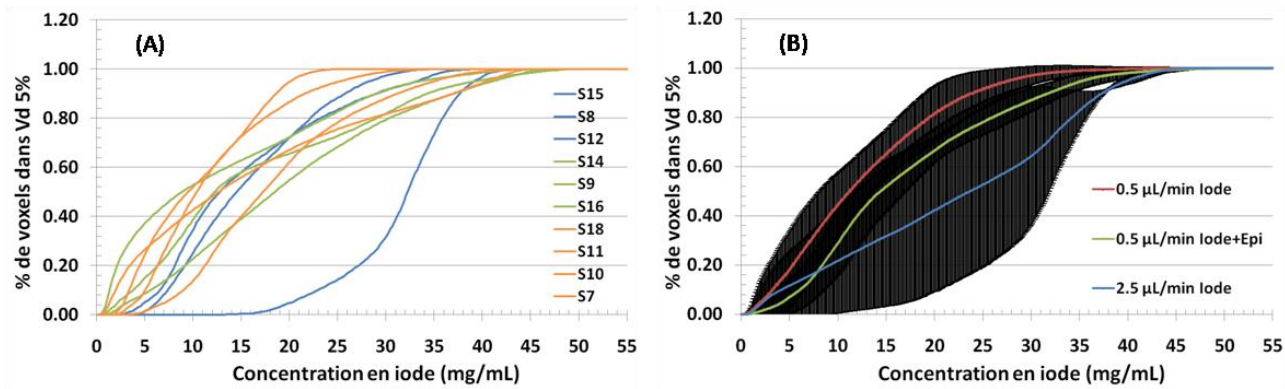


Figure 96: Histogrammes cumulatifs normalisés en concentration d'iode CED dans le volume tumoral (iode systémique) des rats porteurs de tumeurs F98 au stade J19. (A) En termes d'index de taille des tumeurs (de 1 à 3, bleu-vert-orange). (B) En termes de moyenne par groupe d'étude CED. Les histogrammes cumulatifs normalisés indiquent à une concentration donnée le pourcentage de voxels dans le volume tumoral ayant une concentration inférieure ou égale à cette concentration.

Etant donné la variabilité observée que ce soit en menant cette analyse par index de taille des tumeurs (cf. Figure 96 (A)) ou par groupe d'étude CED (cf. Figure 96 (B)), il est difficile de conclure quantitativement sur cette approche de la caractérisation de l'iode CED dans le volume tumoral. La méthode n'en reste pas moins intéressante. La comparaison avec les histogrammes cumulatifs normalisés obtenus dans le volume de distribution CED, $Vd_{5\%}$, cf. Figure 90 (B), indique qu'il y a une différence visible entre les deux types d'histogrammes, avec des barres d'incertitudes par groupe plus importantes pour les données d'iode CED dans le volume tumoral, en raison de la variabilité des volumes tumoraux dans chaque groupe. Nous résumons dans le Tableau 30 ci-dessous les valeurs de concentrations moyennes d'iode mesurées soit dans le volume de distribution CED, $Vd_{5\%}$, soit dans le volume tumoral, Vt , d'après les deux approches et pour les trois groupes d'étude CED.

Catégorie d'injection CED Rats tumeurs, stade J19	$[I]_{CED} (mg.mL^{-1})$ dans $Vd_{5\%}$ (moyenne $\pm$ écart-type)	$[I]_{CED} (mg.mL^{-1})$ dans Vt (moyenne $\pm$ écart-type)
$0.5 \mu L.min^{-1}$ iode	12.3 ± 2.0	12.7 ± 2.2
$0.5 \mu L.min^{-1}$ iode + épi	14.2 ± 0.8	17.0 ± 1.6
$2.5 \mu L.min^{-1}$ iode	18.2 ± 1.7	22.4 ± 8.1

Tableau 30: Résumé des valeurs de concentrations moyennes d'iode CED mesurées pour les trois groupes d'étude CED soit dans le volume de distribution CED, $Vd_{5\%}$, soit dans le volume tumoral, Vt .

La représentation de ces valeurs est faite sur la Figure 97 ci-dessous.

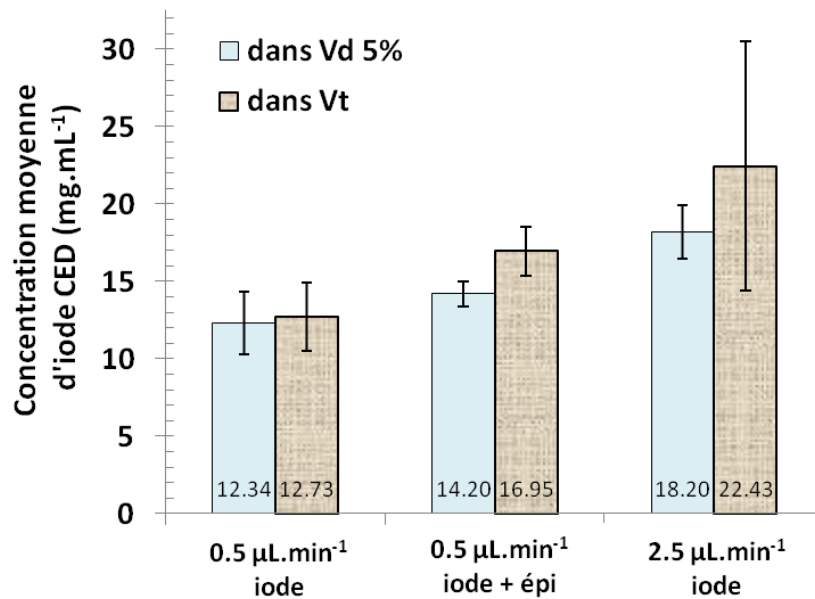


Figure 97: Valeurs des concentrations moyennes d'iode CED calculées dans le volume de distribution $Vd_{5\%}$ ou dans le volume tumoral estimé Vt , par groupe d'étude CED des rats porteurs de tumeurs F98 au stade J19.

Ces quantifications de la distribution d'iode CED restreinte au volume tumoral ne permettent pas de mettre en évidence de différence statistique significative en termes de concentration d'iode moyenne entre les trois groupes de l'étude sur rats tumeurs F98 au stade J19. Cela dit, l'approche développée pour ces quantifications est intéressante et permet de s'affranchir des valeurs de concentrations d'iode distribuées ailleurs que dans la tumeur, notamment dans le corps calleux. Afin de compléter la comparaison systémique – CED, nous avons déterminé qualitativement et quantitativement à quel point la distribution d'iode CED était en correspondance spatiale avec la distribution d'iode systémique. Pour cela, nous avons défini le facteur de recouvrement d'iode CED dans le volume tumoral comme le volume intersecté rapporté au volume tumoral, noté FR et exprimé en pourcent :

$$FR = \frac{V(Vt \cap Vd_{5\%})}{Vt} \times 100$$

Eq. 112

Ce facteur vaut par construction 100 % lorsque le volume CED distribué englobe complètement le volume tumoral – il s'agit du cas idéal que l'on souhaite atteindre expérimentalement de façon reproductible et systématique. FR vaut 0 lorsqu'il n'y a aucune intersection entre le volume CED distribué et le volume tumoral – cas le plus défavorable. Pour cela, la méthode implémentée dans Avizo a été de se baser sur la réunion des deux nuages de points définis par $Vd_{5\%}$ et par Vt puis d'en calculer le volume, cf. Figure 98. Le volume intersecté est alors calculé selon la formule usuelle de la théorie des ensembles : $V(Vt \cap Vd_{5\%}) = Vt + Vd_{5\%} - V(Vt \cup Vd_{5\%})$. Cette méthode s'est révélée plus précise que l'utilisation de masques binaires.

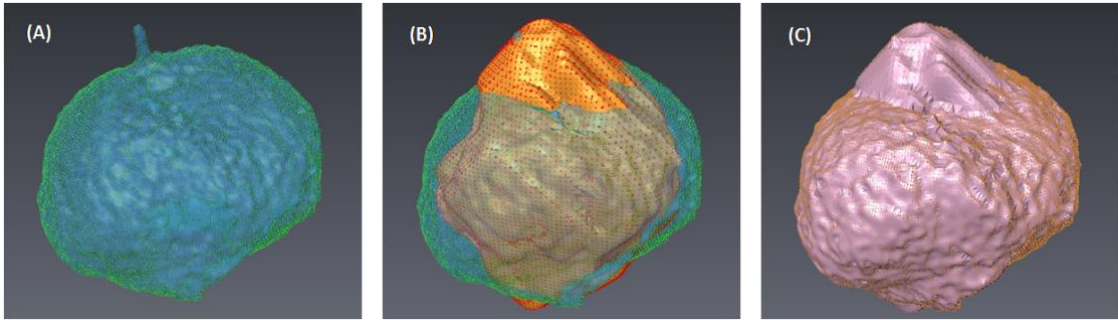


Figure 98: Réunion des surfaces des volumes $Vd_{5\%}$ et Vt du rat S10 (groupe « $0.5 \mu L \cdot min^{-1}$ iode »). (A) Surface du volume de distribution à 5 % (dont est représenté le nuage de points) définie par les vertex des triangles de la surface (points verts). La surface est présentée en bleu transparent. (B) Surface (A) à laquelle est superposée sans transparence la surface du volume tumoral (données recalées) avec son nuage de points associé. La densité surfacique de vertex est plus faible sur la surface tumorale du fait que le volume systémique utilisé pour sa segmentation est résolue spatialement à $100 \mu m$ contre $45.7 \mu m$ pour le volume d'iode CED. (C) Surface issue de la réunion des deux nuages de points suivi d'un wrapping (calcul d'enveloppe) et d'un lissage (paramètres usuels : 2 itérations, $\lambda = 0.6$). Le volume de cette surface fermée est ensuite calculé.

On en déduit pour chaque groupe d'étude des rats porteurs de tumeurs les facteurs de recouvrement suivants (Tableau 31), également représentés sur la Figure 99.

Type de classification	Groupe	Rats	Facteur de recouvrement (%)
Catégorie d'injection CED	$0.5 \mu L \cdot min^{-1}$ iode	S8, S9, S10, S11	100, 61.5, 91.5, 76.2
	$0.5 \mu L \cdot min^{-1}$ iode + épi	S12, S14, S18	92.3, 83.2, 97.9
	$2.5 \mu L \cdot min^{-1}$ iode	S7, S15, S16	73.4, 100, 93.3
Index de taille des tumeurs	Index 1	S15, S8, S12	100, 100, 92.3
	Index 2	S14, S9, S16	83.2, 61.5, 93.3
	Index 3	S18, S11, S10, S7	97.9, 76.2, 91.5, 73.4

Tableau 31: Valeurs du facteur de recouvrement d'iode CED sur le volume tumoral, classifié soit par groupe d'injection CED, soit par index de taille des tumeurs.

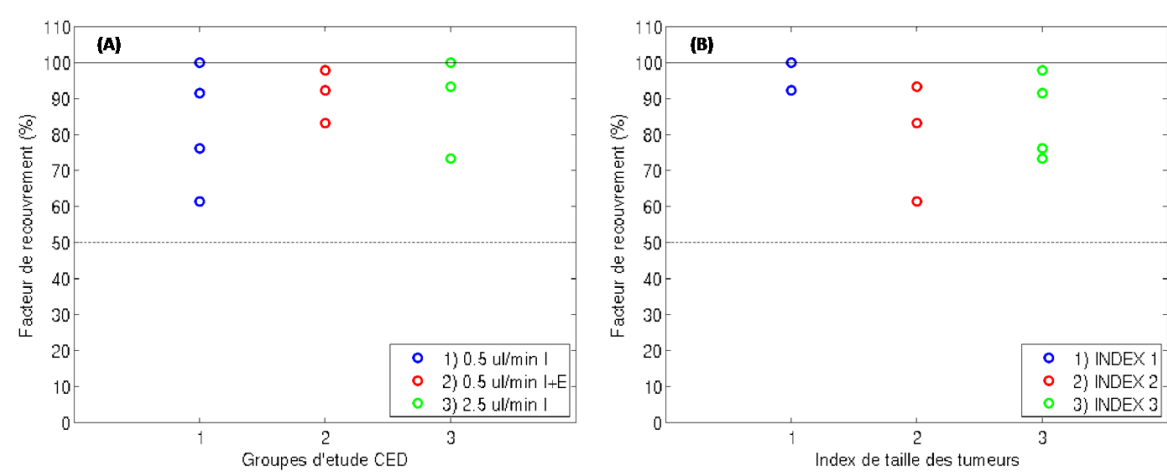


Figure 99: Facteur de recouvrement d'iode CED sur le volume tumoral, classifié soit par groupe d'injection CED (A), soit par index de taille des tumeurs (B). A noter que sur (B), il y a deux points superposés à 100 % qui correspondent aux rats S15 et S8. La ligne noire indique la limite 100 % et la ligne noire pointillée indique la valeur $FR = 50 \%$.

D'après les points Figure 99 ci-dessus, il n'apparaît pas de corrélation triviale du facteur de recouvrement d'iode CED dans le volume tumoral en fonction du type de classification. On peut noter cela dit que selon l'index de taille de tumeurs, les rats ayant un index de 1 présentent un fort facteur de recouvrement avec 2 / 3 rats pour qui $FR = 100 \%$, ce que l'on interprète du fait qu'à injection à volume injecté fixe (ici $20 \mu L$), il est plus probable de couvrir complètement les petites tumeurs que les plus grosses. On note par ailleurs que pour les 10 rats considérés ici, le facteur de recouvrement est systématiquement supérieur à 50% ce qui indique une bonne reproductibilité de notre protocole expérimental d'injection CED en terme de ciblage tumoral, en bon accord avec la reproductibilité de la croissance tumorale de notre modèle F98 pour le protocole d'implantation appliqué ici (cf. Tableau 32, p. 176), les coordonnées stéréotaxiques d'injection étant identiques dans les deux protocoles. Nous présentons sur la Figure 101, p. 174, des représentations 3D pour ces dix rats porteurs de tumeurs F98 au stade J19 en superposant le volume de distribution d'iode à 5% de 100 mg.mL^{-1} – surface bleue en transparence – avec le volume tumoral estimé – surface orange opaque. Les configurations simples d'agencement spatial entre la distribution d'iode CED et d'iode systémique sont représentées sur la Figure 100 (B). Nous avons mentionné plus tôt la possibilité de mener le calcul du facteur de recouvrement par l'utilisation de masques dans Avizo. Cela dit, par recherche de précision, nous avons laissé de côté cette approche en raison d'un biais observé lors de l'application de masques sur des volumes n'étant pas définis à la même taille de voxel. Une troisième méthode permet de retrouver ce facteur de recouvrement avec une précision équivalente en se basant sur l'étude des histogrammes cumulatifs normalisés. Prenons le cas de S9 pour lequel on superpose l'histogramme d'iode CED calculé dans le volume de distribution à 5% avec celui calculé dans le volume tumoral, cf. Figure 100 (A). 37% des voxels de la distribution d'iode CED restreinte au volume tumoral ont une concentration en iode inférieure à 5 mg.mL^{-1} et donc n'appartiennent pas au volume de distribution $Vd_{5\%}$ par définition. On trouve ainsi $1 - 37 \% = 63 \%$ de voxels qui réalisent l'intersection entre $Vd_{5\%}$ et Vt . On trouvait ici 61.5% avec la méthode de wrapping des nuages de points. On observe par cette 3^{ème} approche un écart relatif moyen de $2.1 \pm 1.5 \%$ avec la méthode de wrapping sur les dix rats analysés. *Nota bene*, dans le cas où le volume tumoral est complètement inclus dans $Vd_{5\%}$, i.e. $FR = 100 \%$, alors l'histogramme d'iode CED dans Vt se situe effectivement en dessous de l'histogramme d'iode CED dans $Vd_{5\%}$.

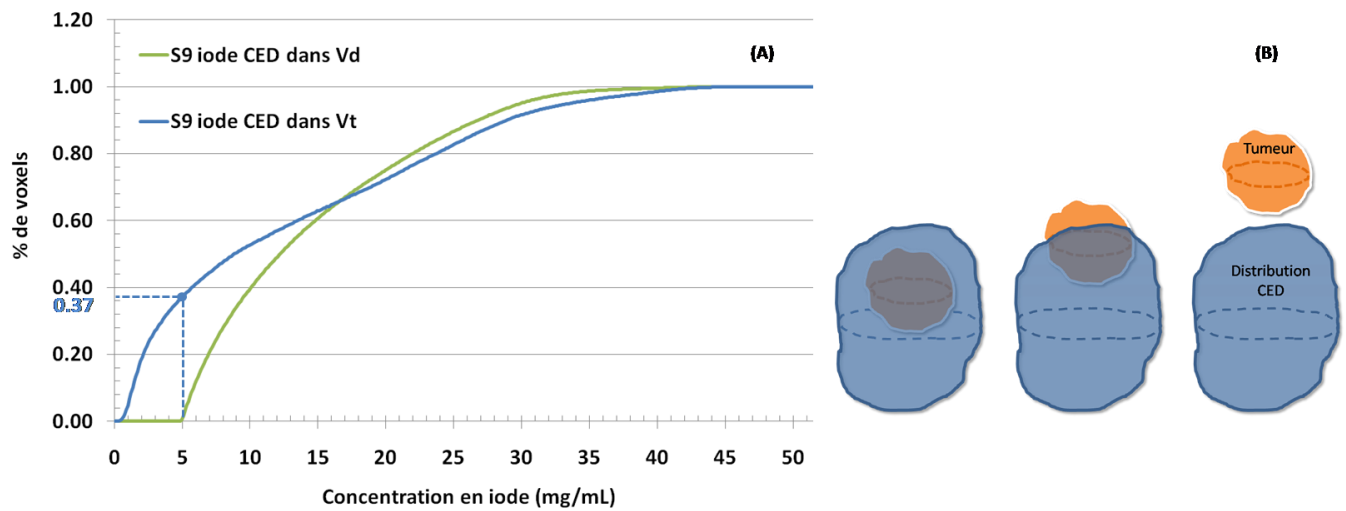


Figure 100: Histogrammes cumulatifs normalisés de la distribution de concentration d'iode CED du rat S9 (groupe « $0.5 \mu\text{L} \cdot \text{min}^{-1}$ iode ») calculés soit dans le volume de distribution à 5 % de la concentration d'injection, soit dans le volume tumoral. (B) Schéma des configurations possibles entre la distribution d'iode CED avec la distribution d'iode systémique, considéré comme le volume tumoral. Ces représentations sont des cas de figure simplifiés en termes de forme et d'agencement.

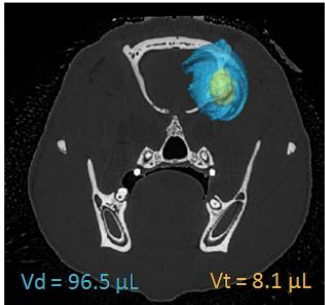
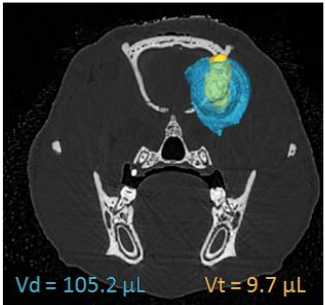
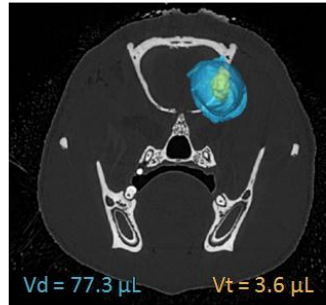
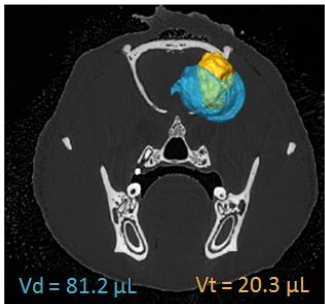
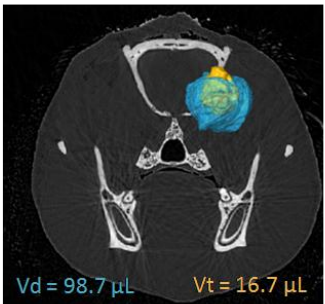
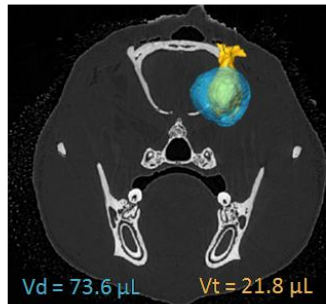
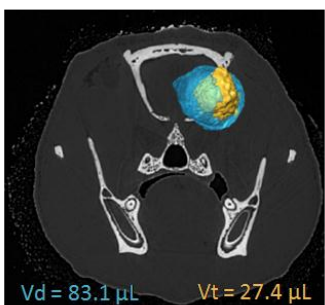
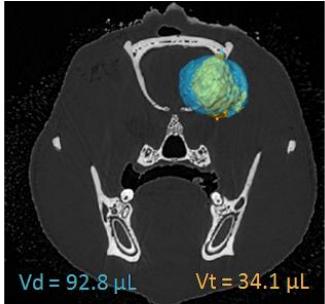
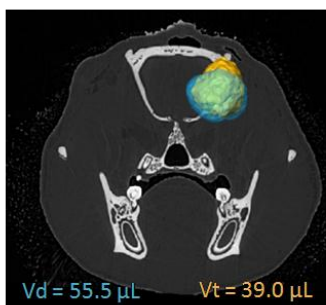
	0.5 $\mu\text{L}.\text{min}^{-1}$ iode	0.5 $\mu\text{L}.\text{min}^{-1}$ iode + épi	2.5 $\mu\text{L}.\text{min}^{-1}$ iode
Index 1	 Vd = 96.5 μL Vt = 8.1 μL S8 FR = 100 %	 Vd = 105.2 μL Vt = 9.7 μL S12 FR = 92.3 %	 Vd = 77.3 μL Vt = 3.6 μL S15 FR = 100 %
Index 2	 Vd = 81.2 μL Vt = 20.3 μL S9 FR = 61.5 %	 Vd = 98.7 μL Vt = 16.7 μL S14 FR = 83.2 %	 Vd = 73.6 μL Vt = 21.8 μL S16 FR = 93.3 %
Index 3	 Vd = 83.1 μL Vt = 27.4 μL S11 FR = 76.2 %  Vd = 92.8 μL Vt = 34.1 μL S10 FR = 91.5 %	 Vd = 82.1 μL Vt = 27.3 μL S18 FR = 97.9 %	 Vd = 55.5 μL Vt = 39.0 μL S7 FR = 73.4 %
Légende : FR (%) : facteur de recouvrement d'iode CED dans le volume tumoral Vd (μL) : volume de distribution d'iode à 5 % de 100 $\text{mg}.\text{mL}^{-1}$ Vt (μL) : volume tumoral estimé			

Figure 101 : Synthèse des rendus 3D avec vue coronale (au sens de Watson *et al.* 1997 [156]) à la fois sur la surface du volume de distribution d'iode - calculée à 5 % de 100 $\text{mg}.\text{mL}^{-1}$ et représentée en bleu transparent – superposée avec la surface du volume tumoral estimé – représentée en orange opaque. Les données sont compartimentées entre les groupes d'étude CED et les index de taille de tumeur de sorte à pouvoir observer une tendance. Tous les paramètres d'affichage de la scène sont identiques entre les rats.

Pour compléter qualitativement les résultats de comparaison CED – systémique présentés ci-dessus, la Figure 102 ci-dessous montre, pour un rat porteur de tumeur au stade J19 par groupe

d'étude CED, les trois coupes tomographiques orthogonales du volume d'iode CED restreint au volume tumoral (noté CED), comparées directement avec les mêmes coupes du volume d'iode systémique (noté SYST).

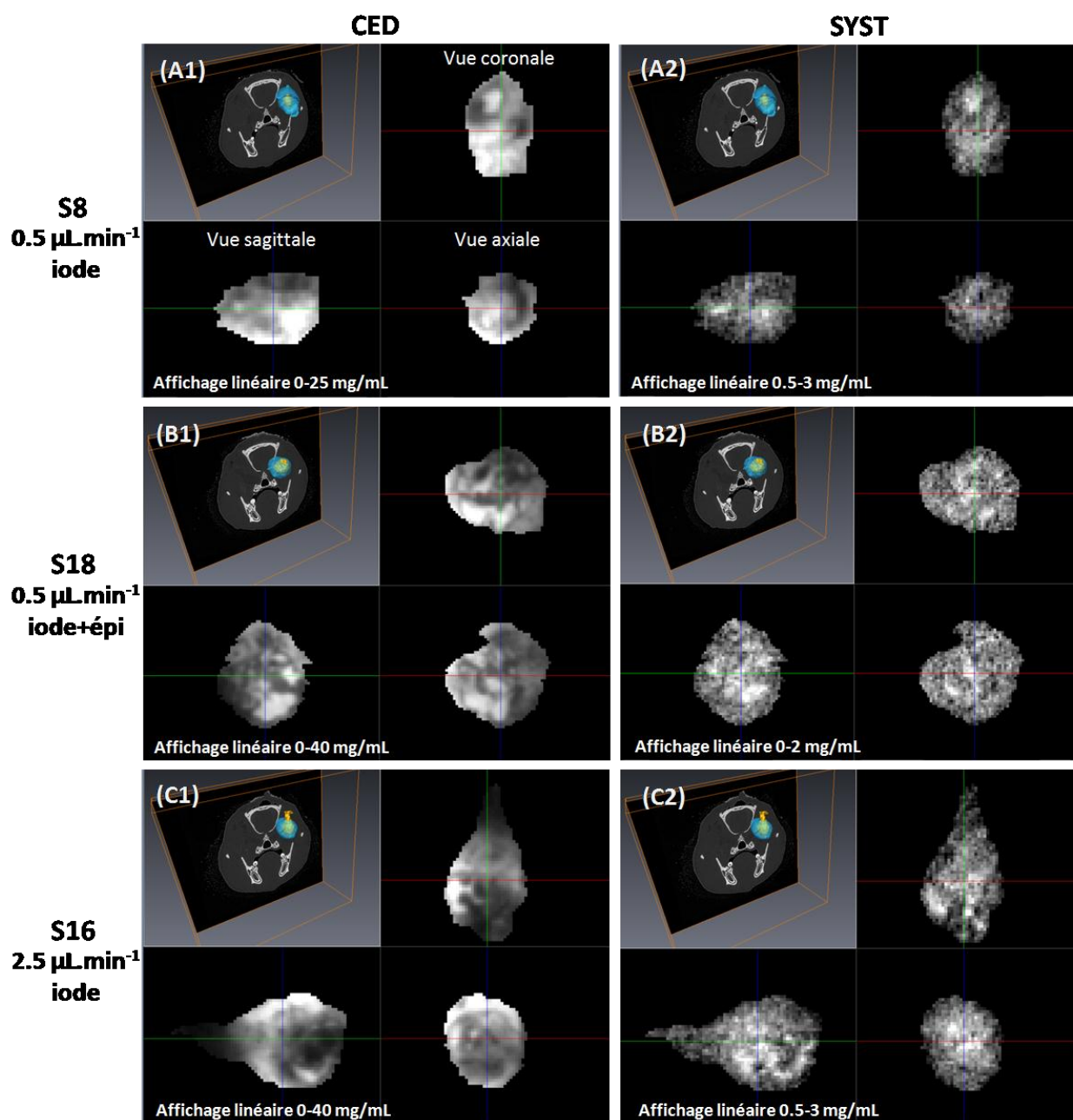


Figure 102 : Pour un rat donné de chaque groupe d'étude CED (S8, S18 et S16 $\leftrightarrow$ A, B et C), les trois coupes tomographiques orthogonales sont représentées soit dans le cas de la distribution d'iode CED restreinte au volume tumoral estimé (indice 1), soit dans le cas de la distribution d'iode systémique (indice 2). Les données systémiques et CED utilisées dans cette analyse sont moyennées toutes les deux à une taille de voxel isotrope de 100 μm . Le zoom des coupes orthogonales n'est pas nécessairement le même d'un rat à l'autre, de même que l'affichage en niveaux de gris. Le zoom reste identique entre volume CED et volume systémique pour un rat donné. En haut à gauche de chaque image est représenté la scène 3D avec les surfaces représentant le volume de distribution d'iode CED à 5 % et le volume d'iode systémique.

Le recalage d'images permet, *cf.* Figure 102, de superposer les données d'iode CED avec les données d'iode systémique, comme nous l'avons vu plus tôt. Ici, on peut faire la comparaison directe des coupes tomographiques entre les deux volumes pour un rat donné. Une des questions

initialement posée était de savoir si les hétérogénéités apparaissant sur le volume d'iode CED et sur le volume d'iode systémique étaient corrélées spatialement ou non. Nous avons alors normalisé les volumes d'iode CED et d'iode systémique respectivement par leurs concentration maximale d'iode, puis appliqués des histogrammes de corrélation bidimensionnel à ces deux volumes normalisés entre 0 et 1 (module Avizo « CorrelationPlot »). Ce type d'histogramme 2D indique aux coordonnées (i, j) – un couple de concentrations normalisées ici – le nombre total de voxels $N_i + N_j$ tel que N_i voxels de la première image appartiennent à l'intervalle de concentration normalisée i et N_j voxels de la seconde image appartiennent à l'intervalle de concentration normalisée j . Les régions hyper-intenses sur ce type d'histogramme devraient donc révéler des tendances dans le cas de corrélations effectives. Ici, nous avons testé cette démarche sur plusieurs rats de l'étude, pour conclure qu'il était difficile de mettre en évidence une telle corrélation ou non corrélation, en raison de la variabilité de ces histogrammes de corrélation d'un rat à l'autre. On retiendra cela dit que cette approche reste intéressante pour effectuer une comparaison de ce type. La Figure 103 ci-dessous illustre le cas d'un rat où l'analyse en histogramme de corrélation 2D révèle des régions spatialement corrélées.

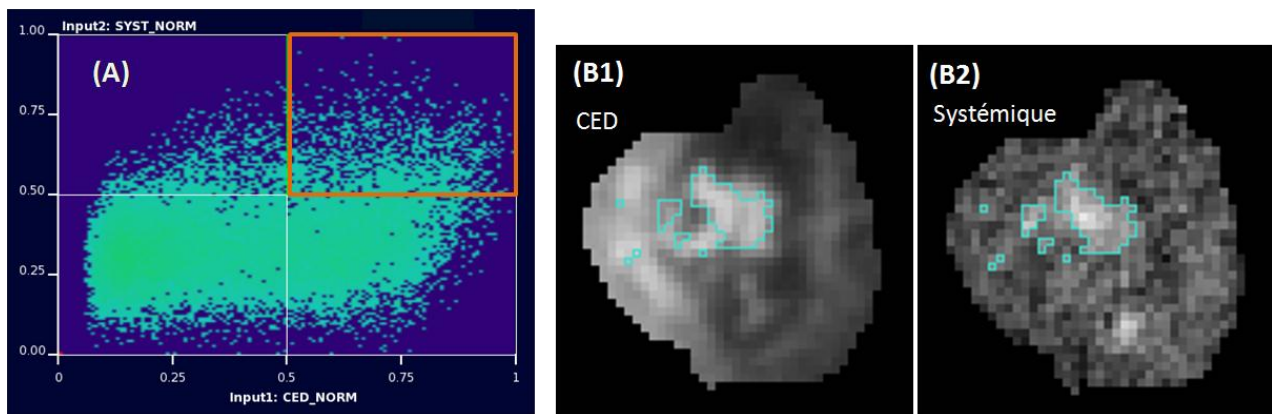


Figure 103: (A) Tracé de l'histogramme de corrélation 2D à partir du volume d'iode CED restreint au domaine tumoral et du volume d'iode systémique, les deux volumes étant initialement normalisés par leur concentration d'iode maximale. (B1 et B2) représentent les coupes coronales de la distribution d'iode CED (restreinte au volume tumoral) et de la distribution d'iode systémique, superposées avec un label turquoise indiquant les voxels appartenant à l'encadré orange de (A), soit associé à des fortes valeurs de concentration d'iode à la fois dans le volume CED et dans le volume systémique. Une correspondance exacte entre les deux volumes serait indiquée par un histogramme de corrélation 2D réduit à la droite $y = x$.

La variabilité parmi les rats des positions des centres géométriques des volumes CED ou systémiques a également été estimée à partir de ces données, cf. Tableau 32.

	CED	Systémique
Plage selon X (mm) (axe Gauche-Droite)	1.38	1.05
Plage selon Y (mm) (axe Postérieur-Antérieur)	1.44	1.33
Plage selon Z (mm) (axe Queue-Nez)	1.67	1.32

Tableau 32 : Variabilité inter-rats des positions des centres géométriques des volumes CED et systémiques d'iode selon la direction considérée. Cette variabilité est déterminée dans une direction donnée comme l'écart maximal de positionnement observé entre les volumes rats considérés - CED ou systémique - dans cette direction.

Ces données géométriques n'ont pas été investiguées davantage, mais il semble que les distributions d'iode systémique aient une variabilité moindre que les distributions d'iode CED, probablement du fait que tout d'abord les volumes tumoraux ($20.79 \pm 11.52 \text{ mm}^3$ parmi tous les rats porteurs de tumeurs au stade J19) sont plus faibles que les volumes CED d'iode ($82.12 \pm 15.63 \text{ mm}^3$ pour tous ces rats). Par ailleurs, les formes des volumes tumoraux sont globalement plus régulières que celles des volumes d'iode CED, et se rapprochent géométriquement d'objets convexes de type ellipsoïde. On rapporte un écart maximal de positionnement des volumes CED selon la direction Queue – Nez, soit 1.67 mm de plage de variation. Nous avons aussi calculé la distance entre le centre géométrique de la distribution CED par rapport à celui de la distribution systémique pour un rat donné ; soit par la distance euclidienne, soit par les écarts de position $\Delta x, \Delta y, \Delta z$ selon les directions $(\vec{x}, \vec{y}, \vec{z})$ de l'espace image de référence. Nous représentons uniquement sur la Figure 104 ci-dessous l'évolution de la distance euclidienne selon les groupes CED ou selon l'index de taille tumoral.

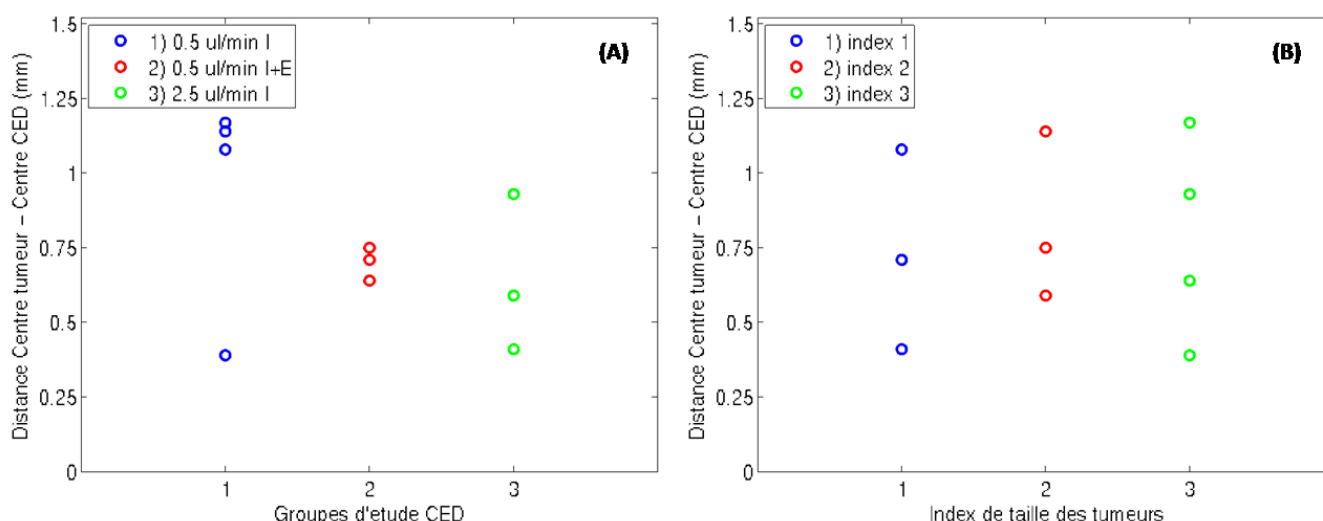


Figure 104: Distance euclidienne par rat entre les centres géométriques respectifs de la distribution d'iode CED et de la distribution d'iode systémique classifiée par groupe d'injection CED (A) ou bien par index de taille des tumeurs (B).

Ces écarts de position sur ces 10 rats porteurs de tumeurs F98 au stade J19 varient entre 0.4 et 1.2 mm, soit $0.8 \pm 0.3 \text{ mm}$. La représentation en fonction de l'index de taille tumorale indique une invariance de ce paramètre à la taille de la tumeur. La sensibilité selon le groupe d'étude CED est plus contrastée, bien qu'il ne soit pas possible d'apporter de conclusion sur l'influence du protocole sur les positionnements relatifs des distributions d'iode CED avec les distributions d'iode systémique.

3.5 Discussion

Nous avons abordé plusieurs points au travers de cette étude. Nous avons étudié dans un premier temps la cinétique de distribution CED de $20 \mu\text{L}$ d'iode avec ou sans épinéphrine administré à $0.5 \mu\text{L} \cdot \text{min}^{-1}$ dans le striatum de rats sains. Nous avons ensuite caractérisé environ 10 minutes après fin d'infusion la distribution CED de $20 \mu\text{L}$ d'iode administré avec ou sans épinéphrine pour des rats porteurs de tumeurs F98 (stade J19 après implantation stéréotaxique de 1000 cellules).

Caractérisant d'abord la distribution CED d'iode dans le volume de distribution à 5 %, nous avons ensuite fait cette caractérisation dans le volume tumoral uniquement, en se basant sur un recalage rigide systématique des données systémiques sur les données CED. Cette approche a permis notamment de définir un facteur de recouvrement volumique de l'iode CED dans le volume tumoral.

Données rats sains

Les données acquises sur rats sains ont permis de caractériser la distribution d'iode et d'iode avec épinéphrine dans le striatum en fin d'injection ainsi qu'avec quatre points de temps en suivi cinétique de post-injection. L'analyse des volumes de distribution en fin d'injection a permis de trouver pour les trois rats sains $Vd_{5\%} = 78.97 \pm 5.41 \text{ mm}^3$, soit un rapport volume de distribution sur volume d'injection de $Vd_{5\%}/Vi = 3.95 \pm 0.27$. D'après les éléments théoriques de transport convectif en milieu poreux rigide, ce rapport fournit une estimation de la fraction volumique extracellulaire du tissu selon $\phi = Vi/Vd_{5\%} \approx 25 \%$, ce qui est cohérent avec les valeurs rapportées de la littérature (Nicholson *et al.* 1981 [161], 1988 [54], Rice *et al.* 1991 [162], Lehmenkuhler *et al.* 1993 [93]) notamment pour le cerveau du rat avec une porosité du tissu cérébral variant typiquement entre 0.18 et 0.26 avec une moyenne de 0.21. Ces résultats sont également en accord avec les données de Rousseau *et al.* 2007 [112]. Nous avons mesuré des concentrations d'iode dans l'hémisphère droit (sans épinéphrine) de $14.5 \pm 1.1 \text{ mg.mL}^{-1}$. Il est remarquable de noter à partir des analyses des histogrammes cumulatifs qu'en moyenne 50 % des voxels occupant le volume de distribution $Vd_{5\%}$ ont une concentration en iode variant entre 12.7 et 46 mg.mL^{-1} . Il ressort de ces données que les injections CED d'iode dans le tissu cérébral sain amènent à des distributions relativement homogènes, avec des profils de concentrations décroissant de façon assez monotone, sauf à l'interface striatum – corps calleux où l'on observe un rehaussement dans le corps calleux.

Nous discutons dans le paragraphe ci-dessous la nature de la mesure de concentration par cette technique d'imagerie et les conséquences en termes d'interprétations de données d'imagerie dans le cas de nos injections d'iode dans l'hémisphère cérébral du rat. Un point important, qui est valable également pour la discussion sur les données « rats porteurs de tumeurs », est que l'on n'observe pas directement la concentration interstitielle de l'agent de contraste dans le tissu, mais une concentration macroscopique (ou encore concentration à l'échelle de Darcy). Celle-ci résulte du moyennage sur l'ensemble des pores contenus dans un voxel d'imagerie de la quantité interstitielle d'iode présente dans le volume total de tissu contenu dans le voxel. Pour fixer les idées, dans un voxel d'environ 45 μm d'arrête, si l'on prend des cellules de dimension caractéristique comprise entre 1 et 10 μm , on peut placer au mieux 5 à 45 cellules le long de l'arrête. Ce moyennage est nécessairement non négligeable.

Si l'on s'attend à avoir une concentration interstitielle d'iode en tant que grandeur continue à l'échelle des pores, y compris à l'interface entre deux tissus de porosités différentes, cela n'est plus vrai si l'on considère la concentration macroscopique étant donné les discontinuités de porosité des tissus. Ici, on observe des concentrations plus élevées dans le corps calleux que dans la partie du

striatum frontière avec ce dernier. Une question est de savoir si le signal hyper-intense observé dans le corps calleux est dû au reflux dans ce dernier pendant l'injection CED, ou s'il s'agit des différences de porosités du corps calleux comparé au striatum. En effet, les travaux de Lehmenkuhler *et al.* 1993 [93] par exemple indiquent chez le rat adulte une fraction volumique extracellulaire dans le corps calleux de 0.26 ± 0.01 , soit légèrement plus élevée que dans les structures de substance grise (0.23 ± 0.02). Pour une injection comme la notre avec une concentration d'entrée de 100 mg.mL^{-1} , on s'attendrait donc à mesurer dans le cas d'un tissu poreux rigide des concentrations macroscopiques maximales de 26 et 23 mg.mL^{-1} dans ces structures respectives, soit un écart de 3 mg.mL^{-1} . Si on observe par exemple le coté droit du profil de concentration d'axe Gauche-Droite de la Figure 85 (C), on note un écart de concentration d'environ 5 mg.mL^{-1} au passage striatum – corps calleux, soit le même ordre de grandeur. L'autre explication est le transport de l'iode lui-même dans le corps calleux pendant l'injection qui serait dû au fait que le volume injecté dans ce protocole ($20 \mu\text{L}$) est supérieur au volume interstitiel disponible du striatum, que nous avons estimé à environ $8.3 \mu\text{L}$ avec des calculs sur l'atlas de Paxinos *et al.* 1997 [156]. L'iode serait alors amenée à se distribuer dans les structures adjacentes, la plus proche étant le corps calleux, situé à environ 1.8 mm de l'extrémité de l'aiguille et présentant à cet endroit une épaisseur d'environ 0.2 mm . Du fait de sa porosité légèrement plus élevée, les propriétés de transport du corps calleux sont également différentes (coefficient de diffusion et perméabilité hydraulique plus élevés) ce qui va dans le sens d'un transport plus efficace dans cette structure que dans le striatum. On peut supposer finalement que cette variation de concentration d'iode observée à l'interface - corps calleux chez ces rats sains résulte de l'effet combiné des deux mécanismes développés ci-dessus.

Par ailleurs, nous avons calculé la masse d'iode présente dans le volume de distribution à 5 % de la concentration d'injection pour ces trois rats sains et trouvé $1.14 \pm 0.09 \text{ mg}$ (masse effectivement administrée: 2 mg). On note une faible variation de ces valeurs sur les trois rats. On peut supposer ici que la différence entre masse injectée et masse calculée dans $Vd_{5\%}$ est due au fait que d'une part la masse d'iode est calculée dans le volume de distribution à 5 %, ce qui signifie par définition que l'iode périphérique à ce volume n'est pas pris en compte. Or géométriquement, plus la région d'intérêt est radialement éloignée de l'extrémité de l'aiguille, plus une coquille d'épaisseur Δr représente un volume important, ce qui implique en termes de masse d'iode que l'ensemble des voxels iodés présents en périphérie de $Vd_{5\%}$ définissent un nombre important de voxels, bien que les concentrations de chacun de ces voxels apportent une contribution inférieure à celle des voxels appartenant à $Vd_{5\%}$. D'autre part, entre le début de l'injection ($0.5 \mu\text{L.min}^{-1}$) et le début de l'imagerie, soit environ 50 minutes, une partie de l'iode injectée est réabsorbée par les capillaires sanguins. Nous ferons une analogie de ces résultats avec les données rats tumeurs où le calcul de masse d'iode a également été mené. De plus, ces résultats sont cohérents avec la décroissance de concentration moyenne d'iode en post-injection. En effet, nous avons mesuré des temps caractéristiques de décroissance de l'iode injecté seul dans l'hémisphère droit, ou avec épinéphrine dans l'hémisphère gauche. Les fits des concentrations *maximales* d'iode indiquent un temps caractéristique de 53.1 et 67.2 min dans les hémisphères droit et gauche, respectivement. Le

temps caractéristique de décroissance de l'iode sans épinéphrine est par ailleurs cohérent avec de précédentes mesures dans notre équipe où il avait été estimé à 55.6 *min* (cf. Rousseau *et al.* 2007). Nous faisons l'hypothèse que les mécanismes de transport sous-jacents dans le striatum de ces rats sains se résument à : premièrement, des pertes microvasculaires pendant l'injection (CED et échanges transvasculaires, voir Morrison *et al.* 1994 [6]) : une partie, faible mais existante, du fluide injecté traverse directement la membrane microvasculaire par convection (résultante du différentiel entre pression interstitielle et pression vasculaire). De plus, le transport de l'iode transvasculaire résulte à la fois de mécanismes convectif et diffusif, la partie diffusive étant dépendante du différentiel de concentration interstitiel – vasculaire et non du différentiel de pression. Deuxièmement, la diffusion moléculaire qui dans le cas de notre calcul ferait chasser en dehors du volume de distribution à 5 % une partie de la quantité d'agent de contraste, et ce d'autant plus que l'injection est longue (*i.e.* à bas débit ici).

Données rats porteurs de tumeur F98

L'analyse des données d'imagerie après injection d'un bolus d'iode (350 mg.mL^{-1}) dans une des veines de la queue a permis de caractériser les volumes tumoraux des rats porteurs de tumeurs au stade J19. Nous avons ainsi trouvé pour 10 rats à ce stade un volume tumoral de $20.79 \pm 11.52 \text{ mm}^3$, avec un diamètre équivalent sphérique variant entre 1.9 à 4.2 *mm*. La concentration moyenne d'iode associée à ces 10 mesures est $1.0 \pm 0.3 \text{ mg.mL}^{-1}$.

L'analyse des données CED d'iode a permis de montrer que la distribution de l'agent de contraste iodé dans le tissu tumoral est plus hétérogène que la distribution dans le tissu sain, ce qui est nettement visible à partir des profils de concentrations tracés aux centres des volumes de distribution respectifs, cf. Figure 88, p. 161. Les régions hypo-intenses contiennent des concentrations en iode variant entre 5 à 15 mg.mL^{-1} , le plus souvent incluses donc dans le volume de distribution à 5 %. Les volumes de distribution d'iode $Vd_{5\%}$ trouvés sont respectivement 88.43 ± 7.41 , 85.06 ± 19.46 et 68.80 ± 11.69 pour les groupes « $0.5 \text{ }\mu\text{L.min}^{-1}$ iode », « $0.5 \text{ }\mu\text{L.min}^{-1}$ iode + épinéphrine » et « $2.5 \text{ }\mu\text{L.min}^{-1}$ iode ». Ils ne sont pas statistiquement différents les uns des autres ($p > 0.05$). Les concentrations en iode dans les volumes de distribution $Vd_{5\%}$ pour les trois groupes sont 12.34 ± 2.01 , 14.50 ± 0.96 et $18.20 \pm 1.73 \text{ mg.mL}^{-1}$. Le groupe « $2.5 \text{ }\mu\text{L.min}^{-1}$ iode » est statistiquement différent du groupe « $0.5 \text{ }\mu\text{L.min}^{-1}$ iode » ($p = 0.01$) et non statistiquement différent du groupe « $0.5 \text{ }\mu\text{L.min}^{-1}$ iode + épinéphrine » ($p = 0.05$). Il n'y a pas de différence statistique significative entre les groupes « $0.5 \text{ }\mu\text{L.min}^{-1}$ iode » et « $0.5 \text{ }\mu\text{L.min}^{-1}$ iode + épinéphrine ». La concentration moyenne d'iode calculée dans $Vd_{5\%}$ ne reflète pas directement la concentration du traceur dans la zone cible puisque ces volumes de distribution dans lesquels est calculée la moyenne de concentration d'iode contiennent à la fois des voxels iodés présents dans le striatum, la structure cible où est sensée être la tumeur, et également dans le corps calleux (cf. descriptif atlas à la Figure 78 (B), p. 145). Du point de vue des masses d'iode mesurées dans le volume de distribution à 5 %, nous trouvons pour les trois groupes (dans le même ordre) 1.09 ± 0.20 , 1.23 ± 0.27 et $1.26 \pm 0.29 \text{ mg}$; sans différence statistique significative entre les groupes ($p > 0.05$). Malgré cela, on peut ajouter ici un

point de vue théorique selon lequel l'on s'attendrait à observer davantage de masse pour les groupes « $0.5 \mu\text{L} \cdot \text{min}^{-1}$ iode + épinéphrine » et « $2.5 \mu\text{L} \cdot \text{min}^{-1}$ iode ». Pour l'iode et épinéphrine, ceci serait vrai si l'effet de l'épinéphrine était significatif sur la durée d'une injection (40 min ici) en resserrant les jonctions des capillaires, réduisant les échanges transvasculaires entre l'interstitium et la microvascularisation, et donc conservant davantage de traceur dans l'interstitium tumoral. A $2.5 \mu\text{L} \cdot \text{min}^{-1}$ comparé à $0.5 \mu\text{L} \cdot \text{min}^{-1}$ en fin d'injection (*i. e.* une injection de 20 μL en 8 min VS 40 min), la théorie avance qualitativement que le débit étant cinq fois plus fort, la distribution de concentration dans le volume de distribution à 5 % devrait être plus concentré, et donc présenter une masse d'iode plus élevée. De plus, la réabsorption vasculaire aurait cinq fois moins le temps d'agir, de même que la diffusion moléculaire pour l'étalement des profils de concentration.

Afin de compléter cette analyse des données CED d'iode sur ces trois groupes de rats porteurs de tumeurs F98 au stade J19, nous avons recalé les volumes d'iode systémique sur les données CED, à une taille de voxel de 100 μm isotrope. De la sorte, nous avons pu calculer, pour un rat donné, les concentrations moyennes d'iode non pas dans tout le volume de distribution CED, $Vd_{5\%}$, mais uniquement dans le volume tumoral, éliminant ainsi le biais du corps calleux que nous avons précédemment. Nous avons mesuré de cette façon des concentrations en iode de 12.7 ± 2.2 , 17.0 ± 1.6 et $22.4 \pm 8.1 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ pour les trois groupes « $0.5 \mu\text{L} \cdot \text{min}^{-1}$ iode », « $0.5 \mu\text{L} \cdot \text{min}^{-1}$ iode + épinéphrine » et « $2.5 \mu\text{L} \cdot \text{min}^{-1}$ iode ». Nous n'observons pas de différence statistique significative entre les groupes avec cette approche, ni pour un groupe donné entre cette approche de calcul et la précédente.

Enfin, nous avons évalué grâce au recalage pour chaque rat des données systémiques sur les données CED à quel point la distribution d'iode CED était en correspondance avec le volume tumoral. Nous avons effectué des comparaisons directes des cartes de concentrations d'iode CED avec les cartes de concentrations d'iode suite à l'injection systémique. Ces comparaisons se révèlent qualitativement pertinentes car permettant de visualiser la répartition spatiale des fortes et faibles valeurs de concentration d'iode pour ces deux voies d'administration. Nous avons quantifié la corrélation spatiale entre les données systémiques et CED avec des histogrammes de corrélation bidimensionnels et ces calculs n'ont pas permis de mettre en évidence de tendances statistiques simples sur ces corrélations. Cependant, nous avons pu observer chez quelques rats des corrélations effectives : les régions hyper-intenses de la distribution d'iode CED étant en relativement bonne correspondance spatiale avec les régions hyper-intenses de la distribution d'iode systémique, *cf.* Figure 103, p. 176.

Nous avons par ailleurs calculé un facteur de recouvrement d'iode CED dans le volume tumoral, indiquant le pourcentage du volume de distribution d'iode CED présent dans le volume tumoral. On notera que dans cette étude les facteurs de recouvrement sont systématiquement supérieurs à 50 % avec un minima à 61.5 % et une moyenne de 86.9 ± 13.0 %. Cela signifie pour ces rats porteurs de tumeurs qu'au pire 38.5 % du volume tumoral « voit » des concentrations d'agents de contraste inférieures à 5 % de la concentration d'injection. Même si rigoureusement les mécanismes de transport pour les drogues sont différents de ceux d'un agent de contraste iodé

(extracellulaire et non fixé), la distribution de ce type de traceur donne typiquement une borne supérieure à la distribution d'un agent thérapeutique (*cf.* Croteau *et al.* 2005 [163], et voir section Chapitre IV, Discussion, p. 205). Nous pouvons donc en déduire une raison d'inefficacité de drogues *in vivo* sur notre modèle de tumeur F98, car un résumé du cahier des charges d'une administration (au sens large) de drogues dans une tumeur serait typiquement : distribuer sur toute la tumeur l'agent à une concentration pertinente thérapeutique sur une durée suffisamment longue. Nous pouvons, à la lumière de ces valeurs de facteur de recouvrement, discuter l'influence du choix du protocole CED par rapport aux tailles des tumeurs. Comme nous l'avons mentionné plus tôt, le volume tumoral pour 10 rats de l'étude a été estimé à $20.79 \pm 11.52 \text{ mm}^3$. Ici, nous avons injecté $20 \mu\text{L}$ de l'agent de contraste qui s'est distribué dans l'espace interstitiel du tissu couvrant ainsi un volume macroscopique de tissu de l'ordre de $80 \mu\text{L}$. L'enjeu est donc de couvrir $20 \mu\text{L}$ de tissu tumoral en moyenne avec $80 \mu\text{L}$ de tissu perfusé par l'iode infusé. On pourrait espérer qu'un facteur 4 entre le volume injecté et le volume interstitiel cible suffise à couvrir l'ensemble de la tumeur de façon quasi-systématique (à noter que ce rapport 4 en volume se traduit en diamètre équivalent sphérique par un rapport de 1.6 seulement). Malgré ce paramétrage expérimental surdimensionné, on trouve un facteur de recouvrement moyen (sur l'ensemble des rats porteurs de tumeurs de l'étude) de seulement $86.9 \pm 13.0 \%$. Nous pouvons avancer plusieurs hypothèses pour expliquer un ciblage spatial incomplet. Tout d'abord, notre protocole d'injection consiste à réaliser l'injection CED à des coordonnées stéréotaxiques fixes, qui sont celles de l'inoculation stéréotaxique des cellules tumorales F98 dans le striatum. Cela dit, bien que le protocole d'implantation des tumeurs soit le même pour chaque rat porteur de tumeur F98 au stade J19, nous avons pu observer une variabilité dans la croissance de ces dernières. Certaines tumeurs sont relativement compactes, pouvant être assimilées à des ellipsoïdes de révolution, et d'autres ont des formes plus variables notamment dans le cas de reflux de ces cellules tumorales selon l'axe de l'aiguille (proximité accrue au trou de l'os). Cette variabilité permet d'expliquer un moins bon taux de succès observé au travers du facteur de recouvrement. On notera que nous avons observé d'après ces données des écarts de positionnement entre le centre géométrique de la distribution d'iode CED avec le centre géométrique du volume tumoral entre 0.4 et 1.2 mm , soit $0.8 \pm 0.3 \text{ mm}$. Ces écarts restent modérés devant les dimensions caractéristiques des tumeurs de l'étude (entre 1.9 et 4.2 mm). La stratégie la plus intéressante expérimentalement serait de définir des coordonnées d'injection spécifiquement pour chaque tumeur après repérage par imagerie. Cela n'a pas été fait dans notre étude par simplicité de mise en œuvre, puis car notre protocole d'implantation des tumeurs est défini de sorte à obtenir un modèle tumoral aussi reproductible que possible. Parmi les autres hypothèses pouvant expliquer des facteurs de recouvrement inférieurs à 100% vient l'existence de gradients de pression interstitiels intratumoraux tel que rapportés dans la littérature (Baxter *et al.* 1989 [2], Boucher *et al.* 1990 [3]). Ces derniers influenceraient la distribution de l'agent de contraste *pendant et après* injection, en induisant des écoulements physiologiques intratumoraux du centre vers la périphérie chassant ainsi l'agent de façon transitoire vers la région péri tumorale. Les deux dernières hypothèses avancées portent sur des comportements hydrodynamiques non reproductibles et difficilement prévisibles pendant l'injection de l'agent de contraste : l'existence ou la création dynamique de chemins de moindre

résistance hydraulique (corps calleux, ventricules), et le reflux le long de l'aiguille. Dans les deux cas, une plus faible quantité d'iode serait délivrée à la sortie de l'aiguille, réduisant les chances de couvrir complètement le volume tumoral. Bien que notre protocole soit relativement optimisé par rapport au reflux avec une petite aiguille (Hamilton 32G ; diamètres externe et interne : 0.24 et 0.11 mm) et des bas débits ($\leq 2.5 \mu L \cdot min^{-1}$), cette hypothèse n'est pas pour autant à négliger.

3.6 Conclusion

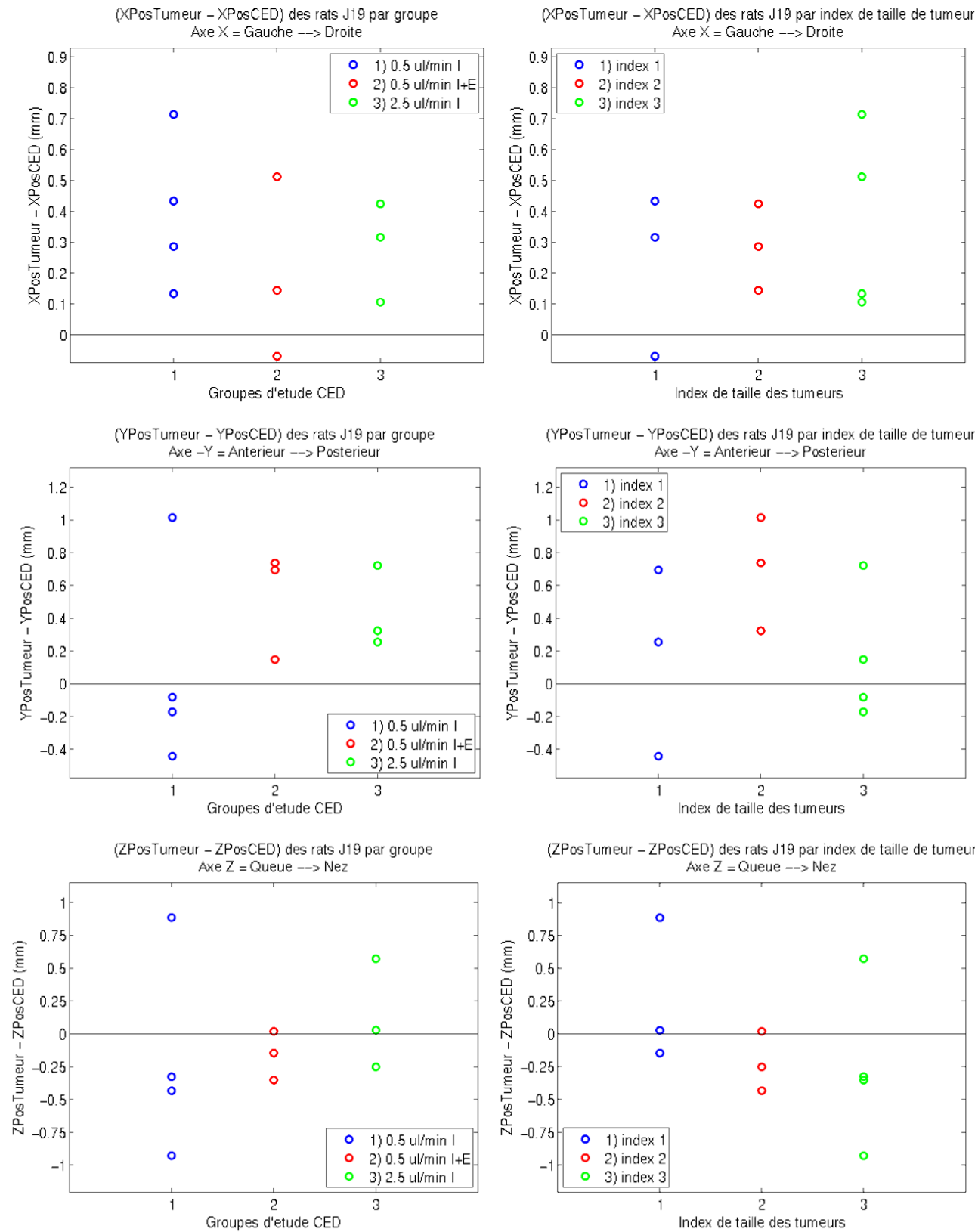
Dans cette étude, nous avons évalué l'influence de trois paramètres : la nature du tissu (sain ou tumoral), le débit d'infusion (0.5 ou $2.5 \mu L \cdot min^{-1}$) et l'éventuelle co-injection d'un vasoconstricteur (épinéphrine) avec le traceur. Nous ne pouvons pas conclure statistiquement quand à l'intérêt de co-injecter de l'épinéphrine à l'iode pour obtenir une meilleure distribution de concentration en fin d'injection CED. De même, nous ne pouvons pas conclure quant à l'intérêt d'administrer l'agent de contraste à $2.5 \mu L \cdot min^{-1}$ plutôt qu'à $0.5 \mu L \cdot min^{-1}$.

Nous avons développé dans cette étude expérimentale une méthodologie d'analyse originale permettant de caractériser la distribution 3D d'un agent de contraste administré localement par CED dans des tissus cérébraux sains et tumoraux (F98) *in vivo* chez le rat. Nous avons mis en évidence l'intérêt de l'imagerie quantitative à haute résolution ($45.7 \mu m$) pour ces études. L'analyse permet de calculer le volume de distribution à un seuil donné (ici 5 % de la concentration d'injection), d'extraire l'histogramme de concentration et la masse d'agent de contraste dans ce volume et de déterminer les profils de concentration orthogonaux au centre de la distribution. Nous avons également montré l'intérêt du recalage d'images pour ces données. Ce recalage pour les données « CED iode » a permis de faire une comparaison quantitative des positions relatives des distributions CED d'iode parmi les différents rats de l'étude. De plus, une approche originale a été développée pour comparer les distributions CED d'iode avec les distributions d'iode après injection systémique (estimation du volume tumoral), permettant entre autres de définir un facteur de recouvrement spatial de l'iode infusé par CED par rapport au volume tumoral.

Lors d'essais thérapeutiques, par exemple de combinaison éléments lourds et radiothérapie synchrotron dans notre groupe, ce type d'approche permettrait de corrélérer la survie des animaux à la biodistribution de l'élément lourd *in vivo* au moment du traitement. Typiquement dans ce type d'étude, nous disposons de données d'imagerie moyenne résolution ($350 \mu m \times 350 \mu m \times 1 mm$, détecteur Germanium) à la fois systémique (iode veine de la queue, vérification de la présence de la tumeur) et éventuellement en post-CED avant radiothérapie (évaluation de la biodistribution ; l'augmentation de dose X déposée dans le tissu dépend de la distribution de concentration de l'élément lourd dans le tissu cible). La question à ce sujet reste de savoir si nous sommes capables de recalcr avec suffisamment de précision spatiale les données systémiques sur les données CED avec ces données moyenne résolution (environ 0.1 mm de précision de recalage pour un rat donné obtenue avec les données haute résolution) afin d'extraire un facteur de recouvrement spatial pertinent entre les deux volumes. Une étude de faisabilité sera menée prochainement à ce sujet.

Enfin, s'il nous est possible d'observer et quantifier *in vivo* pour un rat donné porteur de tumeur la localisation 3D de l'agent de contraste injecté par CED et de la comparer avec précision (0.1 mm) avec le volume tumoral, cela permet d'aborder un des points critiques de la délivrance des drogues *in vivo* : l'agent administré a-t-il bien perfusé la tumeur ? Dans quelles proportions du volume tumoral ? Pour quelles concentrations effectives ? Pour quels temps caractéristiques ? Il n'existe à ce jour dans la littérature aucune modalité d'imagerie ayant permis de mener ce type d'analyse *in vivo*, d'autant plus à cette résolution spatiale. La tomographie quantitative par rayonnement synchrotron s'impose ici comme une modalité d'imagerie permettant la caractérisation *in vivo* à haute résolution spatiale de la distribution de concentration d'agents de contraste administrée par CED sur un modèle préclinique de tumeurs cérébrales. Ces données amènent finalement à la question suivante : quelles stratégies définir pour améliorer la distribution des drogues *in vivo* ? Nous apportons quelques pistes à ce sujet dans le chapitre suivant.

Annexe 3.1 Comparaisons données iode systémique - iode CED



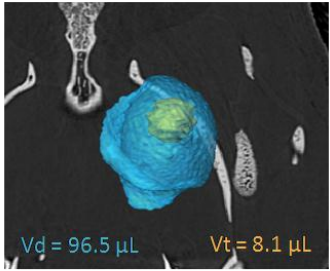
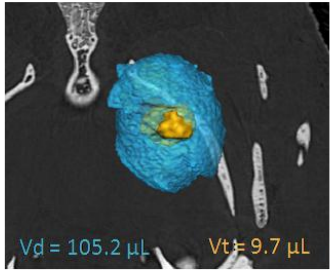
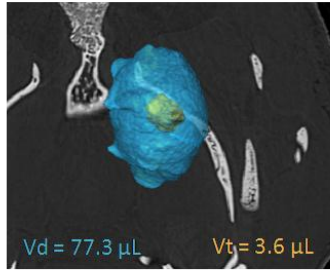
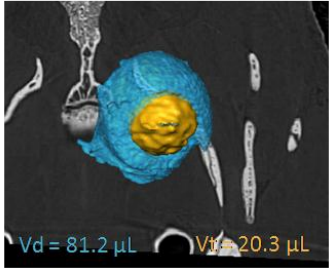
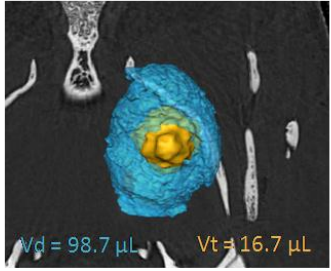
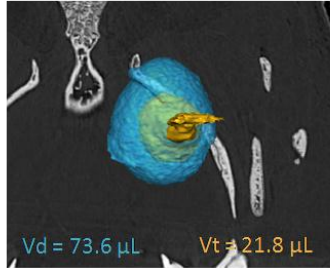
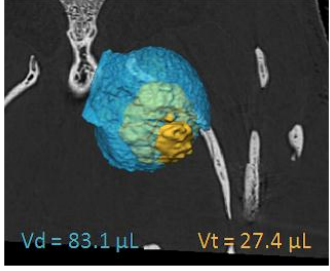
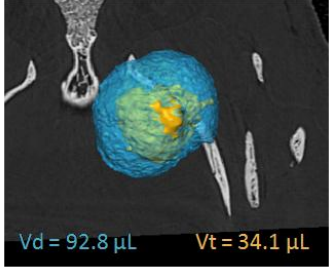
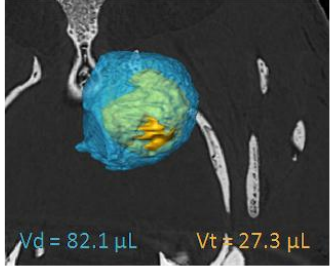
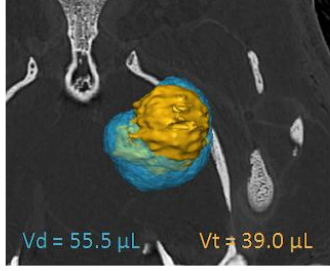
	0.5 $\mu\text{L}.\text{min}^{-1}$ iode	0.5 $\mu\text{L}.\text{min}^{-1}$ iode + épi	2.5 $\mu\text{L}.\text{min}^{-1}$ iode
Index 1	 Vd = 96.5 μL Vt = 8.1 μL S8 FR = 100 %	 Vd = 105.2 μL Vt = 9.7 μL S12 FR = 92.3 %	 Vd = 77.3 μL Vt = 3.6 μL S15 FR = 100 %
Index 2	 Vd = 81.2 μL Vt = 20.3 μL S9 FR = 61.5 %	 Vd = 98.7 μL Vt = 16.7 μL S14 FR = 83.2 %	 Vd = 73.6 μL Vt = 21.8 μL S16 FR = 93.3 %
Index 3	 Vd = 83.1 μL Vt = 27.4 μL S11 FR = 76.2 %  Vd = 92.8 μL Vt = 34.1 μL S10 FR = 91.5 %	 Vd = 82.1 μL Vt = 27.3 μL S18 FR = 97.9 % Légende : FR (%) : facteur de recouvrement d'iode CED dans le volume tumoral Vd (μL) : volume de distribution d'iode à 5 % de 100 $\text{mg}.\text{mL}^{-1}$ Vt (μL) : volume tumoral estimé	 Vd = 55.5 μL Vt = 39.0 μL S7 FR = 73.4 %

Figure 105: Synthèse des rendus 3D avec vue axiale (au sens de Watson *et al.* 1997 [156]) à la fois sur la surface du volume de distribution d'iode - calculée à 5 % de 100 $\text{mg}.\text{mL}^{-1}$ et représentée en bleu transparent – superposée avec la surface du volume tumoral estimé – représentée en orange opaque. Les données sont compartimentées entre les groupes d'étude CED et les index de taille de tumeur de sorte à pouvoir observer une tendance. Tous les paramètres d'affichage de la scène sont identiques entre les rats.

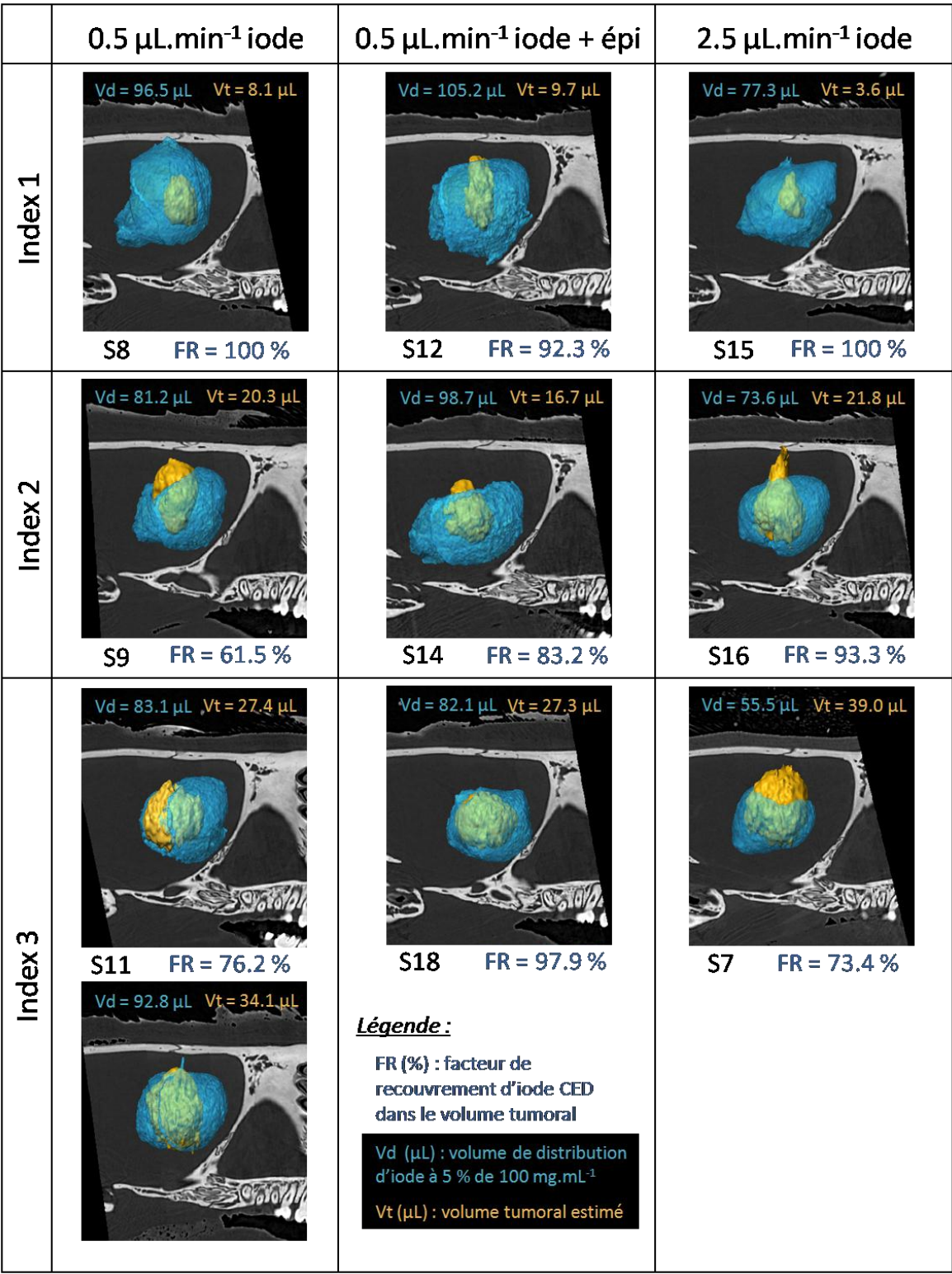
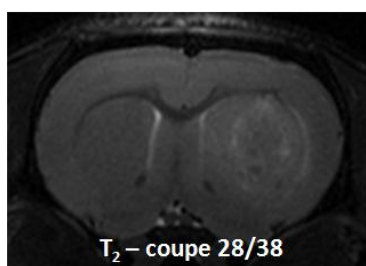


Figure 106: Synthèse des rendus 3D avec vue sagittale (au sens de Watson *et al.* 1997 [156]) à la fois sur la surface du volume de distribution d'iode - calculée à 5 % de 100 $\text{mg}.\text{mL}^{-1}$ et représentée en bleu transparent – superposée avec la surface du volume tumoral estimé – représentée en orange opaque. Les données sont compartimentées entre les groupes d'étude CED et les index de taille de tumeur de sorte à pouvoir observer une tendance. Tous les paramètres d'affichage de la scène sont identiques entre les rats.

Annexe 3.2 Séquences IRM

Séquence anatomique T_2 (2D RARE) :

- 38 coupes d'épaisseur 0.5 mm
- 30 mm / 256 = 117 μ m transverse
- TE/TR = 40 ms / 4000 ms
- Nave = 6, T_{acq} = 10 min



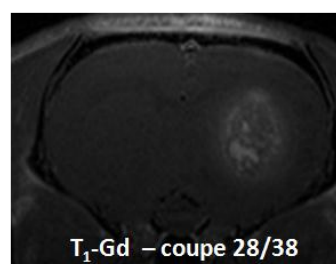
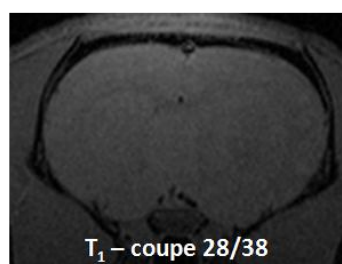
Séquence DTI (2D EPI):

- 10 coupes d'épaisseur 1 mm
- 30 mm / 256 = 117 μ m transverse
- TE/TR = 30 ms / 3000 ms
- 6 directions + b_0
- Nave = 6, T_{acq} = 8 min



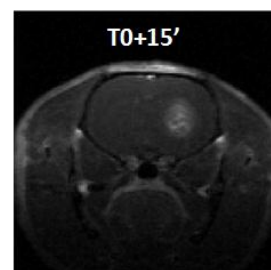
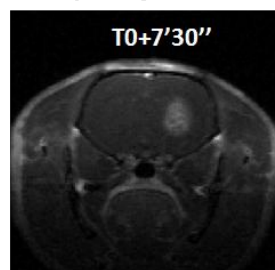
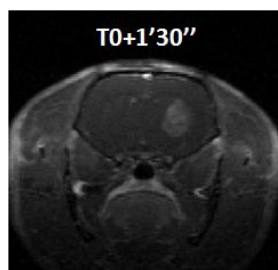
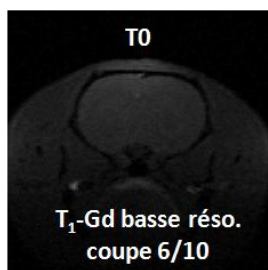
Séquence anatomique T_1 et T_1 -Gd (2D RARE)

- 38 coupes d'épaisseur 0.5 mm
- 30 mm / 256 = 117 μ m transverse
- TE/TR = 5 ms / 800 ms
- Nave = 8, T_{acq} = 10 min



Séquence suivi T_1 basse résolution (2D RARE) :

- 10 coupes d'épaisseur 1 mm
- 30 mm / 128 = 234 μ m transverse
- TE/TR = 4.808 ms / 500 ms
- Nave = 1, 60 pas de temps d'acquisition
- suivi total de 15 min (1 acqui / 15 sec)



4. Etude cinétique de la distribution CED de traceurs *in vivo* par TQRS et modulation tumorale

Résumé

Dans cette étude, nous proposons d'évaluer l'influence de la physiologie tumorale dans différentes conditions sur la qualité des distributions de traceurs (agent de contraste iodé (0.35 nm) et nanoparticules d'or (15 nm)) avec un modèle animal de tumeur F98 implanté en intracérébral dans le striatum de rats. Les distributions *in vivo* sont évaluées par tomographie quantitative par rayonnement synchrotron (TQRS) selon la méthodologie expérimentale et l'analyse développée au chapitre précédent. En complément de la précédente étude, nous avons en particulier quantifié la cinétique de transport interstitiel de post-infusion. De sorte, les cinq groupes (*i.e.* modulations physiologiques) de l'étude sont comparés mutuellement pour les deux traceurs sur la base du volume de distribution estimé à 5 % de la concentration d'injection, des concentrations moyennes et de la masse des traceurs dans ce volume, ainsi que des histogrammes de concentrations. Les cartes d'imagerie quantitative résolues en concentration de traceur sont également présentées à différents temps de post-injection.

4.1 Modèle expérimental de tumeur

Le modèle animal de tumeur (F98) reste ici le même que la précédente étude *in vivo* (cf. section 3.2 p. 142). Le protocole d'inoculation des cellules tumorales aux coordonnées stéréotaxiques du striatum dans l'hémisphère droit est défini de la même façon avec 4 μL injecté à un débit de 0.5 $\mu\text{L} \cdot \text{min}^{-1}$. La seule différence est liée au nombre de cellules délivrées, étant donné la différence de chronologie d'implantation entre les deux études. Cette fois, 4000 cellules dans 4 μL ont été injectées contre 1000 la fois précédente, ce choix ayant été fait de sorte à obtenir le même stade de développement tumoral 15 jours après implantation de 4000 cellules, comparé au développement après 19 jours d'implantation de 1000 cellules F98 (données non représentées).

4.2 Paramètres expérimentaux

Cette étude en comparaison de la précédente considère le suivi des distributions de traceurs dans un modèle de tumeur cérébrale F98 *in vivo* en fonction du temps de post-injection. De plus, les efforts ont été portés sur les stratégies de délivrance de traceurs dans le contexte de pressions interstitielles intratumorales élevées et de barrières physiologiques telles que nous avons pu en parler au Chapitre I. Les questions posées au travers de cette étude sont les suivantes : dans quelle mesure peut-on améliorer la distribution de traceurs (et donc par extension de drogues sous certaines conditions, Croteau *et al.* 2005 [163]) dans les tumeurs *in vivo* en agissant sur les conditions physiologiques de l'animal au moment de l'injection CED ? Les distributions sont-elles différentes immédiatement (environ ~ 10 min) après la fin d'injection ? Les temps caractéristiques de décroissance de la concentration macroscopique de traceur dans le tissu varient-ils selon ces conditions physiologiques ?

Les glucocorticoïdes (hormones) sont couramment utilisés en clinique dans les cas de patients atteints de glioblastome. Ils permettent pour les gliomes une réduction de l'œdème induit par la tumeur (diminution de l'effet de masse), cf. revue de Piette *et al.* 2006 [164]. L'action des corticoïdes impliquerait une réduction de la perméabilité des vaisseaux capillaires tumoraux ou bien une diminution de l'écoulement convectif au-delà des marges tumorales [165]. Les mécanismes associés à ces observations expérimentales restent encore mal compris. Parmi les différents glucocorticoïdes, on retrouve la dexaméthasone (DEX) qui est couramment utilisée dans ce cadre et qui est celle que nous avons employée dans notre protocole expérimental. Certains auteurs ont associé des mesures de pressions interstitielles intratumorales (méthode « wick-in-needle ») au traitement par DEX pour un modèle de xénogreffe tumorale humaine (LS174T) chez la souris [166] et pour un modèle de tumeur (RG2) chez le rat [167]; les deux modèles tumoraux étant sous-cutanés. Kristjansen *et al.* 1993 [166] ont administré la DEX par voie intrapéritonéale (i.p.) pendant 4 jours à cinq doses différentes (0.3, 1.0, 3, 10 et 30 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ de rat), les tumeurs faisant environ 8.5 mm de diamètre au premier jour de traitement. Ils observent une réduction de la pression interstitielle intratumorale au quatrième jour pour les doses 3, 10 et 30 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ de DEX sur la base d'une comparaison avec un groupe contrôle ayant reçu une solution saline, ou bien par rapport à la mesure de pression au premier jour du traitement avant administration de DEX. Les

pressions intratumorales trois jours après la fin du traitement de DEX augmentent de façon significative par rapport à J4, suggérant un mécanisme réversible de régulation de la pression interstitielle intratumorale. Ils ne notent par ailleurs aucun changement de croissance tumorale et de poids corporel pour les groupes traités ou contrôles. Plus tard, Navalitloha *et al.* 2006 [167] observent 24 h après traitement de DEX une réduction de la pression interstitielle intratumorale de $9.1 \pm 2.1 \text{ mmHg}$ pour le groupe contrôle à $2.4 \pm 1.0 \text{ mmHg}$ pour le groupe traité à 3 mg.kg^{-1} ($n = 9$ rats / groupe). En injectant le même jour $5 \mu\text{L}$ de solution de sucrose radioactif en une minute avec euthanasie et histologie à 5, 10 et 15 min après injection, ils en déduisent le temps de demi-vie de la concentration ($C(\tau_{1/2}) = C_0/2$). Ils trouvent de la sorte un temps de demi-vie intratumoral pour le groupe contrôle et le groupe traité de 7.3 min et 15.4 min respectivement. Des approches récentes basées sur des séquences d'imagerie IRM ont aussi permis de quantifier les paramètres vasculaires tumoraux avant et après administration de dexaméthasone. Armitage *et al.* 2007 [168] ont ainsi mesuré simultanément les paramètres de perfusion (constante de transfert K_{trans} , débit sanguin cérébral régional $rCBF$, volume sanguin cérébral $rCBV$), de contenu en eau (fraction volumique extracellulaire et fraction volumique plasmatique) et de diffusion (diffusivité moyenne D_{ave}) chez des patients atteints de glioblastomes, de méningiomes ou de métastases cérébrales. Ils trouvent notamment une réduction significative de la constante K_{trans} après traitement pour les glioblastomes, contrairement aux cas de méningiomes et de métastases. Ils ne trouvent pas de différence significative entre le volume sanguin cérébral et le débit sanguin cérébral régionaux avant et après traitement pour les trois types de tumeurs. Ce type d'investigation pour la DEX a également été réalisé chez des rats porteurs de tumeurs cérébrales (Ewing *et al.* 2008, Gu *et al.* 2009, [169, 170], modèle tumoral 9L, quantifications IRM ; Molnar *et al.* 1995 [165], modèle tumoral RG2, quantifications par autoradiographie) et chez un modèle animal canin (Warnke *et al.* 1995 [171], quantifications par CT). D'autres travaux sans imagerie sont également rapportés quant à l'influence du traitement à la DEX et des mécanismes sous-jacents [166, 167, 172-174] (Kristjansen *et al.* 1993, Straathof *et al.* 1999, Gorman *et al.* 2000, Morris *et al.* 2004, Navalitloha *et al.* 2006 [166, 167, 172-174]).

Les travaux de Hadaczek *et al.* 2006 [175] ont montré l'influence de la vascularisation (contraction cardiaque) sur la délivrance CED de $5 \mu\text{L}$ d'agents de taille importante (de l'albumine de 7.2 nm de diamètre, des liposomes de 65 nm et des virus AAV2 de 25 nm) dans le striatum et le globus pallidus de rats sains. Trois groupes étaient considérés : un avec un fort rythme cardiaque et une forte pression sanguine, un avec un faible rythme cardiaque et une faible pression sanguine et un dernier où les rats étaient euthanasiés juste avant injection supprimant ainsi la contribution vasculaire dans le cerveau. Pour les molécules considérées, leurs résultats suggèrent que les agents injectés par CED à rythme cardiaque faible ou nul (et faible ou nulle pression sanguine) se distribuent localement autour de l'espace périvasculaire. Les agents injectés à fort rythme cardiaque et pression sanguine se distribuent davantage (jusqu'à 16.5 fois plus pour le virus AAV2). Groothuis *et al.* 2007 [176] (rats sains) ont rapporté que l'état physiologique de l'animal, étudié dans leur cas avec différents types d'anesthésiques, a des conséquences sur la constante d'efflux. Dans le cas d'injections CED de sucrose radioactif, ils purent mesurer des concentrations

interstitielles plus élevées pour un taux plasmatique moindre avec anesthésie par injection i.p. de pentobarbital comparé à une anesthésie par kétamine et xylazine. Le taux de demi-vie de concentration était alors de 24 h et de 2 à 3 h pour ces deux types d'anesthésie, respectivement.

Dans notre étude, nous avons évalué prioritairement l'influence des paramètres suivants sur la distribution CED. Tout d'abord, l'anesthésie a été modifiée selon trois protocoles : une anesthésie usuelle (*idem* que pour l'étude précédente, *cf.* protocole section 3.2.2, p. 142) à base d'un mélange kétamine et xylazine (voie intrapéritonéale) ; une anesthésie à base de pentobarbital (voie intrapéritonéale) ; une anesthésie déclinée en euthanasie. Les rats anesthésiés de façon usuelle sont alors divisés en trois groupes :

- 1) les rats reçoivent l'injection CED du traceur uniquement ;
- 2) le soluté est constitué du traceur mélangé à de l'épinéphrine ;
- 3) une injection de dexaméthasone est pratiquée par voie intrapéritonéale 24 h avant l'injection CED.

Les catégories d'anesthésie par pentobarbital et euthanasie reçoivent des injections CED du traceur uniquement. Pour l'ensemble de ces groupes, deux traceurs ont été considérés : l'un iodé et l'autre à base de nanoparticules d'or. Les conditions d'injection CED ont été légèrement modifiées par rapport au protocole de l'étude précédente. Le débit est resté identique ($0.5 \mu\text{L} \cdot \text{min}^{-1}$), minimisant le risque de reflux pour une aiguille 32 G, mais le volume injecté a été réduit à $5 \mu\text{L}$ afin de limiter la distribution du traceur dans le striatum tumoral (volume cible) simplifiant le cas échéant les interprétations des résultats d'imagerie.

Le choix de l'épinéphrine est motivé par les raisons que nous avons exposées dans le chapitre précédent. En résumé, l'épinéphrine agit en tant que vasoconstricteur, et nous espérons améliorer le temps de présence intratumorale du traceur co-administré par CED en réduisant les pertes vasculaires de ce dernier, et éventuellement en réduisant la convection physiologique tumorale (Duvillard *et al.* 1999, Ning *et al.* 1999, Burris *et al.* 1996, Malhotra *et al.* 2001, Molucon-Chabrot *et al.* 2006 [157-159, 177, 178]). Etant donné les effets non significatifs observés lors de la précédente étude cinétique dans le striatum de rats sains (*cf.* section 3.4.2.2, p. 159), la concentration d'épinéphrine (Adrenaline Aguettant $1 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$) a été augmentée ici à $0.34 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ (4 fois plus). D'après les travaux de Navalitloha *et al.* 2006 [167]), nous avons choisi d'administrer la dexaméthasone (Phosphate Sodique de Dexaméthasone Mylan, $4 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$) par voie intrapéritonéale 24 h avant injection CED du traceur, avec une dose de $3 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$. Le pentobarbital a quant à lui été injecté par voie intrapéritonéale à $40 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ de rat, sur la base de l'étude de Groothuis *et al.* 2007 [176]. L'anesthésie prolongée en euthanasie a été pratiquée par induction à l'isoflurane gazeux suivie d'une injection intracardiaque de 0.54 mL de Doléthal. Ce groupe de rats euthanasiés avant injection CED permet d'évaluer l'influence des paramètres vasculaires sur la distribution intratumorale du traceur administré. De plus, l'absence de vascularisation et donc de réabsorption microvasculaire du traceur pendant l'injection devrait permettre d'évaluer l'erreur de calcul de la masse de traceur administré expérimentalement dans le volume de distribution de ce dernier. A titre informatif, les rats une fois anesthésiés (dans les trois

conditions) sont placés immédiatement sur le cadre stéréotaxique (protocole usuel section 3.3.2, p. 145). Enfin dans notre étude, le type de traceur a également été varié. Un agent de contraste iodé (iopamidol, poids moléculaire 777 Da, diamètre approximatif 0.35 nm) a été utilisé par continuité avec l'étude présentée au chapitre précédent. De plus, des injections de nanoparticules d'or (Aurovist 15 nm, Nanoprobes, USA) (Hainfeld *et al.* [179, 180]) de diamètre 15 nm ont été réalisées (propriétés de surface non connues). Ces dernières étant nettement plus proches de la taille de l'espace interstitiel du tissu cérébral sain (environ 50 nm, Thorner *et al.* 2006 [43]), les mécanismes de transport peuvent en être affectés (restriction géométrique, physico-chimie interstitielle) (Chen *et al.* 2005 [46], Neeves *et al.* 2007 [45]). La comparaison du transport de ces deux traceurs à partir des données d'imagerie selon le type de protocole donne ainsi des pistes de compréhension. L'iopamidol est un agent essentiellement extracellulaire (coefficient de partition octanol – eau de l'ordre de 0.0025, Pitré *et al.* 1980 [181]), étant éliminé du tissu cérébral avec un temps caractéristique d'environ 50 minutes lors d'injections à 100 mg.mL⁻¹ dans le striatum de rats sains (*cf.* section 3.4.2.2, p. 159). Les concentrations d'injection d'iode et d'or choisies respectivement sont de 100 et 25 mg.mL⁻¹, les nanoparticules d'or étant toxiques après injection intracérébrale pour des concentrations plus élevées (*cf.* thèse de Laure Bobyk [182]).

Groupes	
Anesthésie	Administrations
Kétamine + Xylasine	Iode ou Or Epinéphrine + (Iode ou Or) Dexaméthasone ⊕ (Iode ou Or)
Pentobarbital	Iode ou Or
Euthanasie	Iode ou Or

+ : coinfusion ; ⊕ : préadministration i.p. de dexaméthasone

Tableau 33 : Résumé des paramètres évalués dans le protocole expérimental. Trois rats porteurs de tumeurs F98 au stade J14-15 après implantation de 4000 cellules tumorales à J0 sont considérés pour chaque groupe. Les concentrations d'infusion sont respectivement 100 et 25 mg.mL⁻¹ pour l'iode et l'or.

4.3 Dispositif d'injection CED

Le dispositif d'injection est identique à celui utilisé lors de la précédente étude, *cf.* section 3.3.2, p. 145 : coordonnées stéréotaxiques d'injection, pompes d'infusion et procédure de préparation du rat (mise sur cadre stéréotaxique).

4.4 Acquisitions TQRS

L'imagerie par Tomographie Quantitative par Rayonnement Synchrotron reste la même dans cette étude que dans le chapitre précédent (énergie du faisceau placée au-dessus du seuil K de l'iode). De la même façon, l'ensemble des rats, tous porteurs de tumeurs F98 au même stade de développement, sont imagés dans un premier temps après injection systémique d'iode par une des veines de la queue afin de vérifier la présence de la tumeur puis d'estimer sa localisation. Plusieurs

heures plus tard, les rats reçoivent l'administration par CED selon le protocole de l'étude. La durée d'une acquisition volumique d'un rat est de huit minutes. Ici, nous avons voulu suivre la cinétique de transport macroscopique du traceur dans les tissus. Nous avons imagé successivement les rats de chaque groupe après injection CED toutes les 8 minutes allant ainsi jusqu'à une durée de post-injection typique de 40 à 50 minutes, soit typiquement cinq scans par rat. Quelques rats ont été ré-imagés plusieurs heures plus tard, ou le lendemain.

4.5 Analyse des données

Les distributions de traceurs (iode ou or) imagées dans le cadre de cette étude ont été analysées avec les mêmes outils que pour l'étude précédente : conversion des cartes 2D d'atténuation linéique en cartes de concentration de traceur ; segmentation du volume de distribution à 5 % de la concentration d'injection (5 mg.mL^{-1} pour l'iode et 1.25 mg.mL^{-1} pour l'or) ; extraction des histogrammes de concentration. Toutefois, le suivi cinétique post-injection a alourdi la tâche d'analyse puisqu'il s'agit de traiter pour un rat donné typiquement cinq scans au lieu d'un seul en comparaison avec l'étude précédente. Nous avons donc limité les informations à extraire afin de minimiser la durée d'analyse. En particulier, le recalage entre les données d'iode injecté par voie systémique et les données d'iode CED n'a pas été effectué. L'analyse s'est ainsi concentrée sur le suivi cinétique de post-injection. Pour un rat donné, une première segmentation du volume de distribution a été réalisée à partir du premier scan de post-injection (~ 10 min typiquement). Puis les scans suivants (qui ne nécessitaient pas de recalages d'images, le rat anesthésié restant positionné sur le cadre en plexiglas pendant la durée totale d'imagerie) ont été analysés de la façon suivante : le volume de distribution calculé au premier scan a été utilisé comme région d'intérêt dans laquelle nous avons extrait ensuite les histogrammes de concentration, les concentrations moyennes et maximales de traceur, puis la masse de traceur présente dans le volume de distribution. Les constantes de calcul des cartes de concentrations de traceur sont à l'énergie $E = 35 \text{ keV}$: $\mu_{T,E} = 0.3320 \pm 0.0023 \text{ cm}^{-1}$ (mesures dans le striatum controlatéral sain de trois rats) ; $(\mu/\rho)_{I,E} = 31.23 \text{ cm}^2.\text{g}^{-1}$ et $(\mu/\rho)_{Au,E} = 18.4 \text{ cm}^2.\text{g}^{-1}$ [139].

4.6 Résultats

4.6.1 Quantifications

Nous représentons sur la Figure 107 ci-dessous l'évolution de la concentration moyenne de traceur dans le volume de distribution défini à 5 % de la concentration d'injection en fonction du temps de post-injection, pour les injections d'iode (A) et d'or (B). Pour l'iode, on constate que la concentration moyenne décroît en fonction du temps de post-injection, avec des pentes similaires pour les cinq groupes de l'étude. Les valeurs des groupes « iode + épi », « iode + pento » se confondent statistiquement. Le groupe « iode + dexta » est réduit aux données d'un seul rat sur trois pour raison de scans incomplets pour les deux autres rats. Ces valeurs de concentration moyenne en fin d'injection sont proches de 10 mg.mL^{-1} , variant entre 6.3 et 20.0 mg.mL^{-1} . La concentration moyenne d'iode du groupe « iode + euth » vaut $18.2 \pm 2.6 \text{ mg.mL}^{-1}$ avec une

variation entre 11.3 et 20.0 $mg.mL^{-1}$. Les concentrations maximales d'iode associées (données non présentées) à ces mêmes groupes sont plus élevées, logiquement, avec des concentrations allant jusqu'à environ 40 $mg.mL^{-1}$ pour les groupes autres que « iode + euth » ; ce dernier approchant 60 $mg.mL^{-1}$.

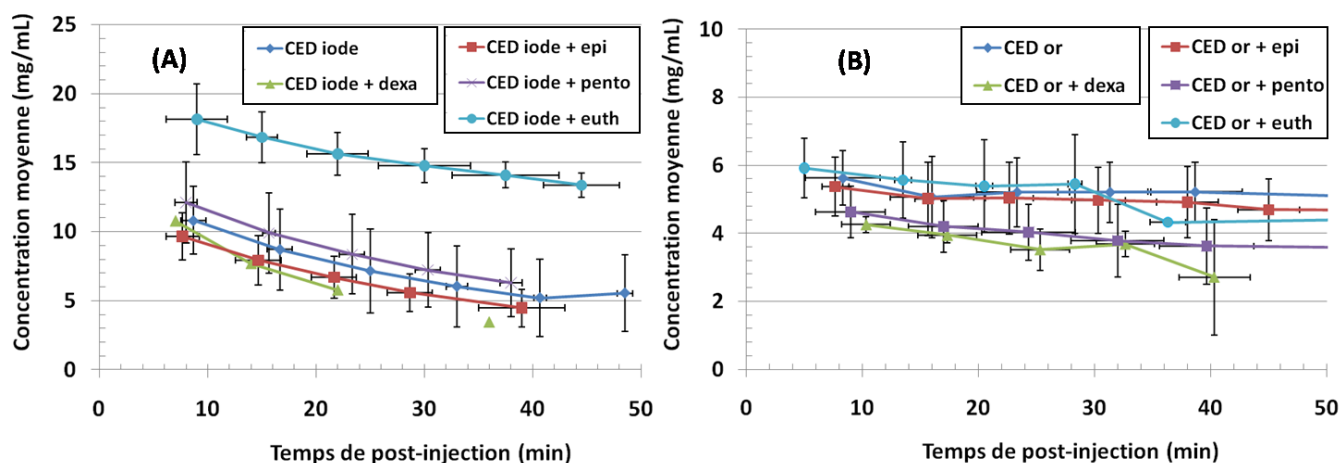


Figure 107 : Courbes de concentration de traceurs en fonction du temps de post-injection, suite à l'injection de 5 μL à 0.5 $\mu L.min^{-1}$ pendant 10 min. Le traceur est soit de l'iode (A) soit de l'or (B). Les concentrations moyennes sont calculées avec comme région d'intérêt le volume de distribution à 5 % de la concentration d'injection, déterminé à partir du premier scan de post-injection.

Nous avons ajusté les courbes de concentrations moyennes $\langle C \rangle(t)$ (plus représentatives que les concentrations maximales) en fonction du temps avec une fonction monoexponentielle de la même forme qu'à la section 3.4.2.2, p. 159 afin d'estimer les temps caractéristiques de décroissance. Ces valeurs sont résumées dans le Tableau 34 ci-dessous. La formule de fit est la suivante :

$$\langle C \rangle(t) = y_0 + (A - y_0)e^{-t/T}$$

Eq. 113

Où $T (min)$ est le temps caractéristique de décroissance de la concentration, $y_0 (mg.mL^{-1})$ la concentration résiduelle quand $t \rightarrow \infty$ et $A (mg.mL^{-1})$ la concentration à l'origine.

	Paramètres de fit	AC	AC $\oplus$ DEX **	AC+EPI	AC $\oplus$ PENTO	AC $\oplus$ EUTH
Iode Valeurs de fit avec $[I]_{moy}$	$T \text{ (min)}$	17.70 ou 26.93*	18.25	28.85	25.75	28.78
	$A \text{ (mg.mL}^{-1}\text{)}$	14.90 ou 13.87*	15.00	12.03	15.18	20.52
	$y_0 \text{ (mg.mL}^{-1}\text{)}$	4.54 ou 2.75*	1.62	1.82	3.68	11.56
	R^2_{corr}	0.987 ou 0.9999*	0.9985	0.9997	0.9999	0.9979

AC : agent de contraste ; + : co-infusion ; $\oplus$: pré-administration avant CED ; * : en enlevant le dernier point de temps ; ** : données d'un seul rat sur trois.

Tableau 34 : Valeurs des paramètres de fits obtenues pour chaque groupe de l'étude (n = 3). Les données fittées sont les concentrations moyennes d'iode et d'or telles que mesurées dans la région d'intérêt définie par le volume de distribution à 5 % de la concentration d'injection à partir du premier scan d'imagerie post-injection.

L'évolution des concentrations moyennes d'or dans le volume de distribution sont quant à elles stables et communes pour les cinq groupes, à l'exception du groupe « or +dexa » qui a tendance à décroître à 40 minutes. La plage de variation des concentrations moyennes d'or 10 minutes après fin d'injection est 4 à 6 mg.mL^{-1} .

On représente sur la Figure 108 ci-dessous les volumes de distribution environ 10 minutes après fin d'injection CED du traceur, selon les différents groupes de l'étude. Le groupe « iode + dexamethasone » n'a pas de barre d'erreur car les scans de deux rats sur trois sont incomplets ; le scan du seul rat restant est représenté. Les volumes de distribution ne sont pas statistiquement différents entre les cinq groupes. Avec une injection systématique de 5 μL , le rapport volume de distribution sur volume d'injection est assez homogène, $V_d/V_i \in [4 ; 6]$, étant cohérent avec une fraction volumique extracellulaire d'environ 20 %, cf. section 1.3.2.6, p. 25.

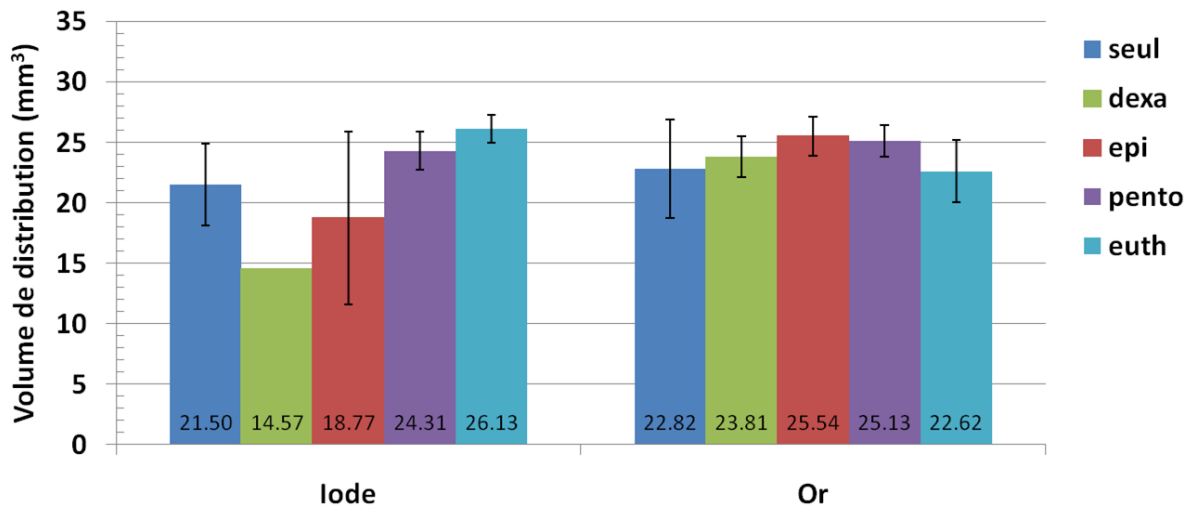


Figure 108 : Volumes de distribution à 5 % de la concentration d'injection dans le cas de l'iode ou de l'or comme agent de contraste. Les cinq groupes de l'étude sont représentés.

Si l'on considère, cette fois, la masse de traceur présent dans le volume de distribution à 5 % de la concentration d'injection en fonction du temps de post-injection, on obtient les courbes Figure 109. On rappelle à titre informatif que ce calcul de masse (mg) est fait selon :

$$m^{Vd_{5\%}} = \iiint_{Vd_{5\%}} C(\vec{r}) dV = dV_{voxel} \times \sum_{j=1}^{N_{voxels} \in Vd_{5\%}} C(j)$$

Eq. 114

Avec C ($mg.mL^{-1}$) la concentration macroscopique de traceur dans le tissu et dV_{voxel} (cm^3) le volume d'un voxel d'imagerie. Du point de vue expérimental, d'après le volume injecté de $5 \mu L$ et la concentration de traceur ($5 mg.mL^{-1}$ pour l'iode et $1.25 mg.mL^{-1}$ pour l'or), la masse délivrée de traceur est 0.5 et $0.125 mg$ pour l'iode et l'or, respectivement.

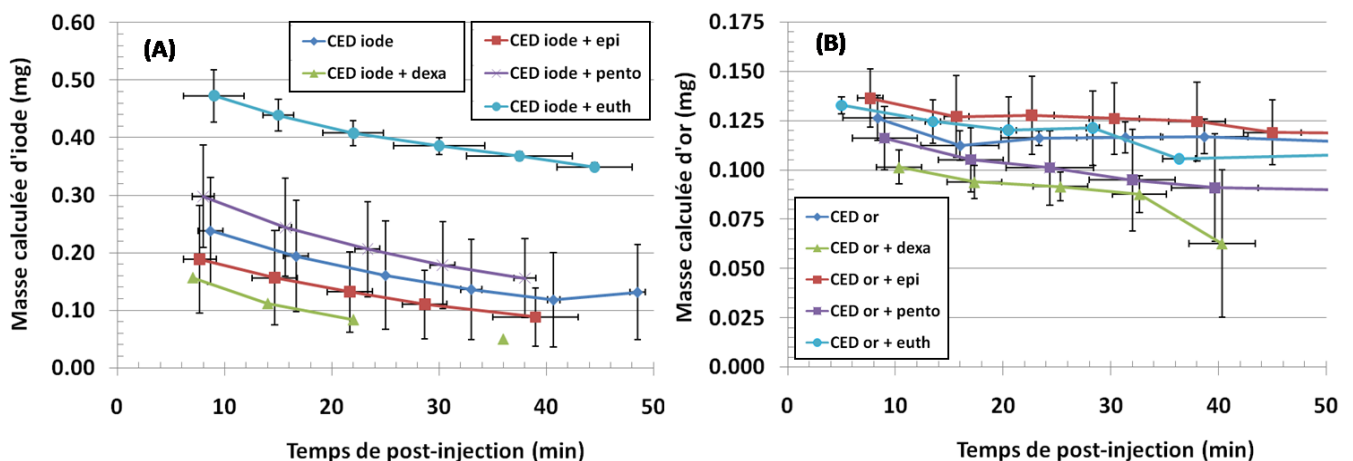


Figure 109 : Courbes de masse de traceur dans $Vd_{5\%}$ en fonction du temps de post-injection, suite à l'injection de $5 \mu L$ à $0.5 \mu L.min^{-1}$ pendant 10 min. Le traceur est soit de l'iode (A) soit de l'or (B). La masse de traceur est calculée avec comme région d'intérêt le volume de distribution à 5 % de la concentration d'injection, déterminé à partir du premier scan de post-injection.

La masse de traceur, grandeur intégrée de la concentration sur tout le volume de distribution, se comporte en moyenne par groupe de la même façon que les courbes de concentration moyenne, cf.

Figure 107. Pour l'iode, les masses ne sont pas statistiquement différentes pour les groupes autres que « iode + euth ». Il est intéressant de noter (toujours pour l'iode) que tous les groupes sauf « iode + euth » présentent une masse d'iode à 10 minutes après fin d'injection qui est nettement inférieure à 0.5 mg (moyenne par groupes entre 0.16 et 0.30 mg, soit un facteur 2 environ, ce qui est cohérent avec les écarts observés dans le chapitre III (*cf.* rats sains section 3.4.2, p. 156, rats porteurs de tumeurs section 3.4.3.1, p. 160). Le groupe « iode + euth » présente quant à lui une masse d'iode de 0.47 ± 0.05 mg ce qui correspond à la masse effectivement administrée à 6 % près. Ce résultat semble indiquer que l'absence de vascularisation fonctionnelle chez les rats euthanasiés double la quantité d'iode dans le volume de distribution à 5 % en permettant de retrouver la masse effectivement administrée avec une bonne précision ici. L'observation transitoire de la masse d'iode en post-infusion indique une décroissance pour les cinq groupes, mais aucune information statistique significative ne nous permet de dire si la décroissance du groupe « iode + euth » est plus lente que pour les quatre autres groupes. Toutefois, cette dernière décroissance nous fait formuler l'hypothèse que la distribution d'iode *in vivo* après euthanasie s'étale par diffusion moléculaire pure dans l'interstitium, en supposant les mécanismes de fixation à la matrice extracellulaire et d'internalisation cellulaire ainsi que les échanges trans- et intra-vasculaires par diffusion négligeables.

Concernant l'or, on constate en comparaison avec l'iode que les masses d'or moyennes par groupe sont plus proches de la masse effectivement administrée (0.125 mg) pour les cinq groupes, avec une variation des moyennes entre 0.101 et 0.136 mg. De plus, cette masse décroît très lentement chez tous les groupes (un peu moins toutefois pour le groupe « or + dexta » à 40 min) et il n'y a pas de différence significative entre les groupes à 40 minutes de post-injection. En comparaison avec les décroissances de masses d'iode en tenant compte du cas « traceur + euth », il semble raisonnable de conclure que les mécanismes de transport dans le tissu sont différents entre les nanoparticules d'or et l'iode.

4.6.2 Cartes 2D des distributions d'iode et d'or

Nous présentons ici les cartes d'imagerie pour les différents groupes de l'étude de deux façons différentes en comparant :

- 1) les distributions de traceur pour les cinq groupes, sur le premier scan de post-injection;
- 2) les distributions d'iode et d'or seuls pendant le suivi cinétique de post-infusion.

Le 1^{er} cas est représenté sur les Figure 110 et Figure 111 et le second cas sur les Figure 112 et Figure 113 ci-dessous. Sur ces figures, les distributions de traceurs pour un rat représentatif de chaque groupe sont illustrées.

Avant de détailler les allures de ces images, on peut d'ores et déjà préciser que les distributions de traceurs dans ces tumeurs F98 sont par nature hétérogènes (*cf.* section 1.3.2.8, p. 28), même entre les rats d'un même groupe, ce qui nécessite de prendre des précautions quant à leurs interprétations.

1) Pour les rats ayant reçu des infusions CED d'iode (*cf.* Figure 110), globalement les distributions d'iode sont souvent réparties dans le tissu de la façon suivante (description de type radiale en géométrie sphérique) : on trouve de l'iode (région hyper-intense) au centre de la tumeur, puis une couronne avec une concentration en iode moindre (hypo-intense), et enfin une région périphérique hyper-intense d'un côté ou tout autour de ce qui paraît être le volume tumoral. Bien que ces données ne nous permettent pas de localiser précisément la tumeur (le recalage systémique – CED n'ayant pas été fait), on peut toutefois y spéculer le schéma de physiologie typique d'une tumeur [2, 3], avec une région faiblement vascularisée à l'intérieur, une région fortement vascularisée au niveau de l'interface (théorique) entre tissu tumoral et tissu sain et des écoulements interstitiels convectifs chassant tout agent de l'interstitium tumoral vers l'interstitium puis l'espace vasculaire du tissu sain périphérique. Nous y reviendrons en discussion. Il est difficile d'observer ici des différences entre les cinq groupes iode, sur la base du précédent constat. Concernant les rats ayant reçu des injections CED d'or seul, le traceur semble se distribuer de façon assez homogène dans le striatum tumoral (*cf.* Figure 111, coupes coronales), avec quelques hétérogénéités apparaissant selon les trois rats observés. La coupe coronale permet en effet de visualiser typiquement la distance à la surface du crâne et donc l'endroit d'implantation de la tumeur. Par conséquent, nous avons, malgré l'absence de recalage avec le volume tumoral, une idée qualitative de la nature de la distribution dans la tumeur. Nous observons avec plus de contraste des distributions d'or plus hétérogènes sur les coupes coronales des rats appartenant aux quatre autres groupes de l'étude, avec une ressemblance avec les distributions d'iode observées Figure 110.

A noter qu'un rat du groupe « iode + euth » a été exclu de l'étude en raison d'un reflux très important le long du trajet de l'aiguille (le seul de toute l'étude). Enfin, nous ne disposons pas de données d'imagerie exploitables pour un rat des trois rats du groupe « or + euth ».

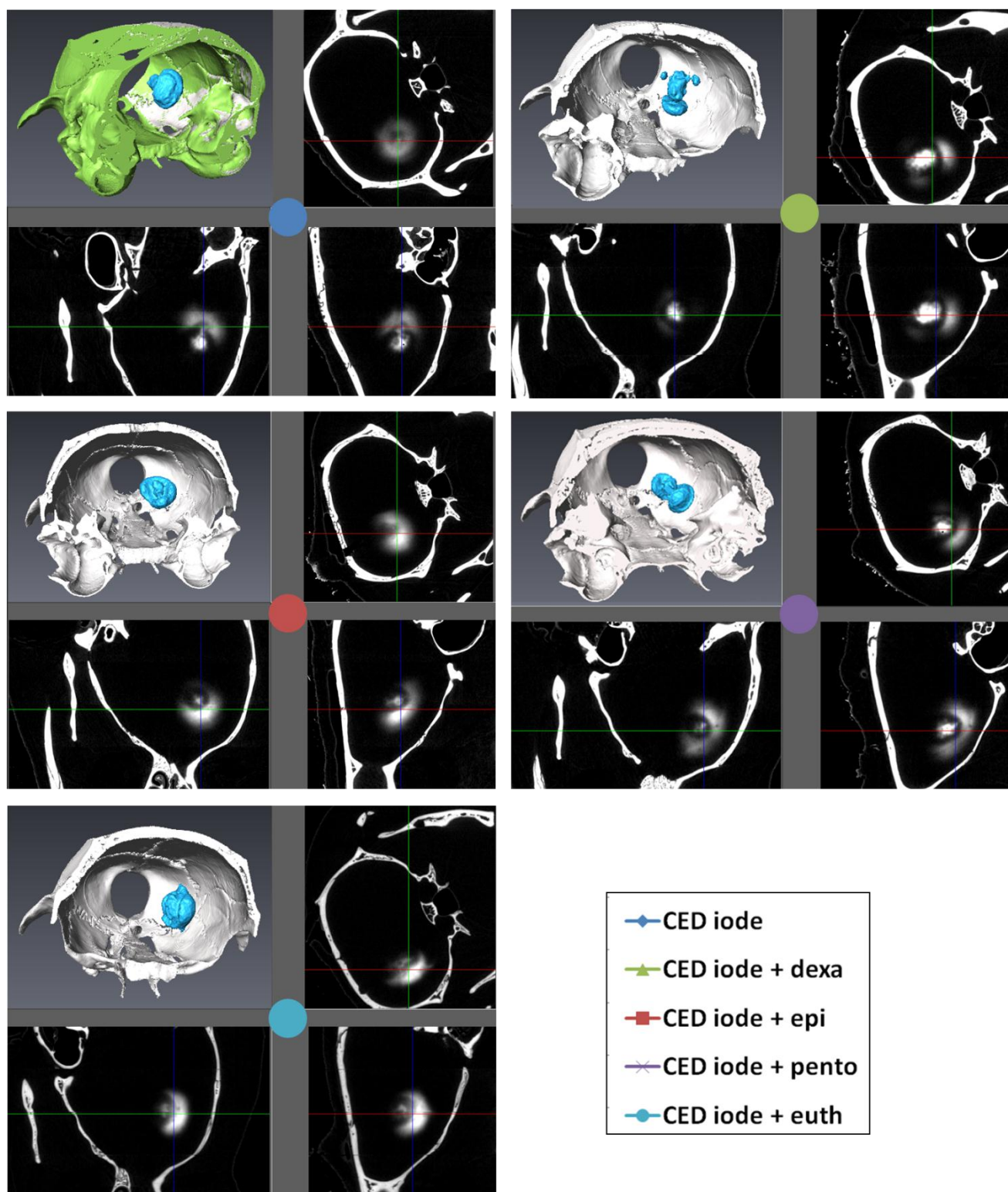


Figure 110 : Comparaison des distributions d'iode au premier scan après fin d'injection (~10 min) pour les cinq groupes de l'étude. Les coupes coronales, pseudo-axiale et pseudo-sagittale d'imagerie sont représentées (codage en concentration de traceur, affichage linéaire entre 0 et 20 $mg \cdot mL^{-1}$), ainsi que la visualisation 3D de la boîte crânienne et du volume de distribution à 5 % en bleu.

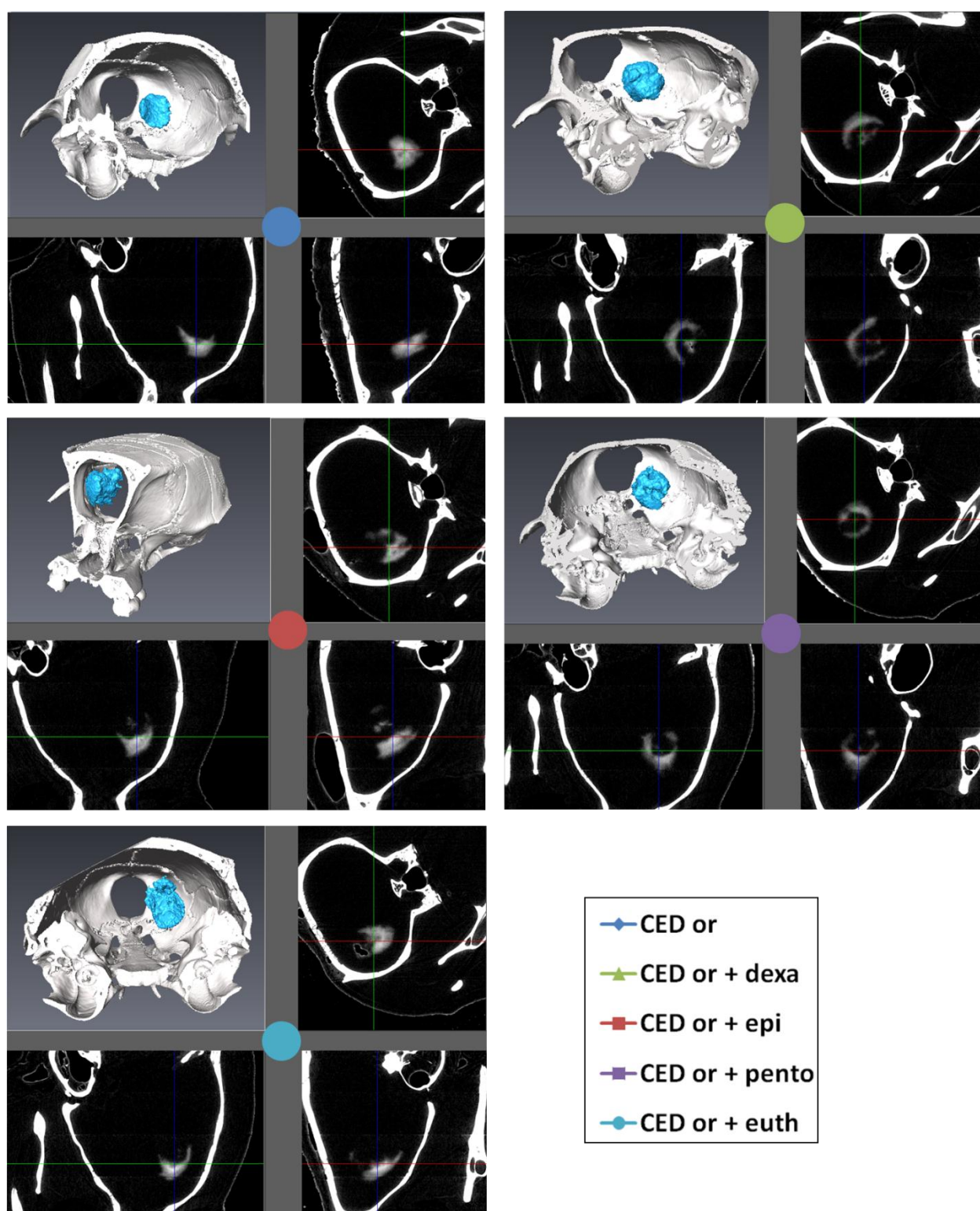


Figure 111 : Comparaison des distributions d'or au premier scan après fin d'injection (~ 10 min) pour les cinq groupes de l'étude. Les coupes coronales, pseudo-axiale et pseudo-sagittale d'imagerie sont représentées (codage en concentration de traceur, affichage linéaire entre 0 et 20 mg. mL^{-1}), ainsi que la visualisation 3D de la boîte crânienne et du volume de distribution à 5 % en bleu.

2) Le suivi cinétique en post-infusion qui a été réalisé pour chaque groupe de rats est illustré ici uniquement pour les groupes « iode seul » et « or seul », cf. Figure 112 et Figure 113.

Concernant les infusions d'iode d'après ces deux figures, on comprend pourquoi à la Figure 107 (A) et Figure 108 (B) la concentration moyenne et la masse d'iode diminuent en fonction du temps de post-injection : la distribution d'iode s'étale de façon radiale. En conséquence, entre deux scans, une partie de l'iode a été transportée au-delà de la frontière 5 mg.mL^{-1} qui définit le volume de distribution d'iode à 5 % en raison au moins des gradients de concentrations dans cette région (diffusion moléculaire). On peut noter de plus que sur la coupe coronale de la Figure 112, la tache hypo-intense (probablement une région tumorale fortement vascularisée, cf. curseur qui coïncide les trois coupes tomographiques orthogonales) grandit légèrement de 10 à 40 minutes de post-infusion. Cela est contradictoire avec une théorie de transport d'espèces basée uniquement sur le mécanisme de diffusion moléculaire, car alors la coquille de concentration d'iode distribuée autour de cette région hypo-intense devrait diffuser vers la périphérie de la coquille mais également vers le centre. Or ce n'est pas le cas pour la diffusion vers le centre, alors qu'on peut observer un léger étalement périphérique avec diminution de la concentration d'iode traduisant probablement l'effet combiné de la diffusion moléculaire et de la réabsorption capillaire.

L'observation des distributions CED d'or est plus simple : l'or une fois administré (~ 10 min post-injection) semble bien stabilisé dans le tissu, ce qui se traduit par des concentrations moyennes et des masses d'or quasiment constantes dans le temps.

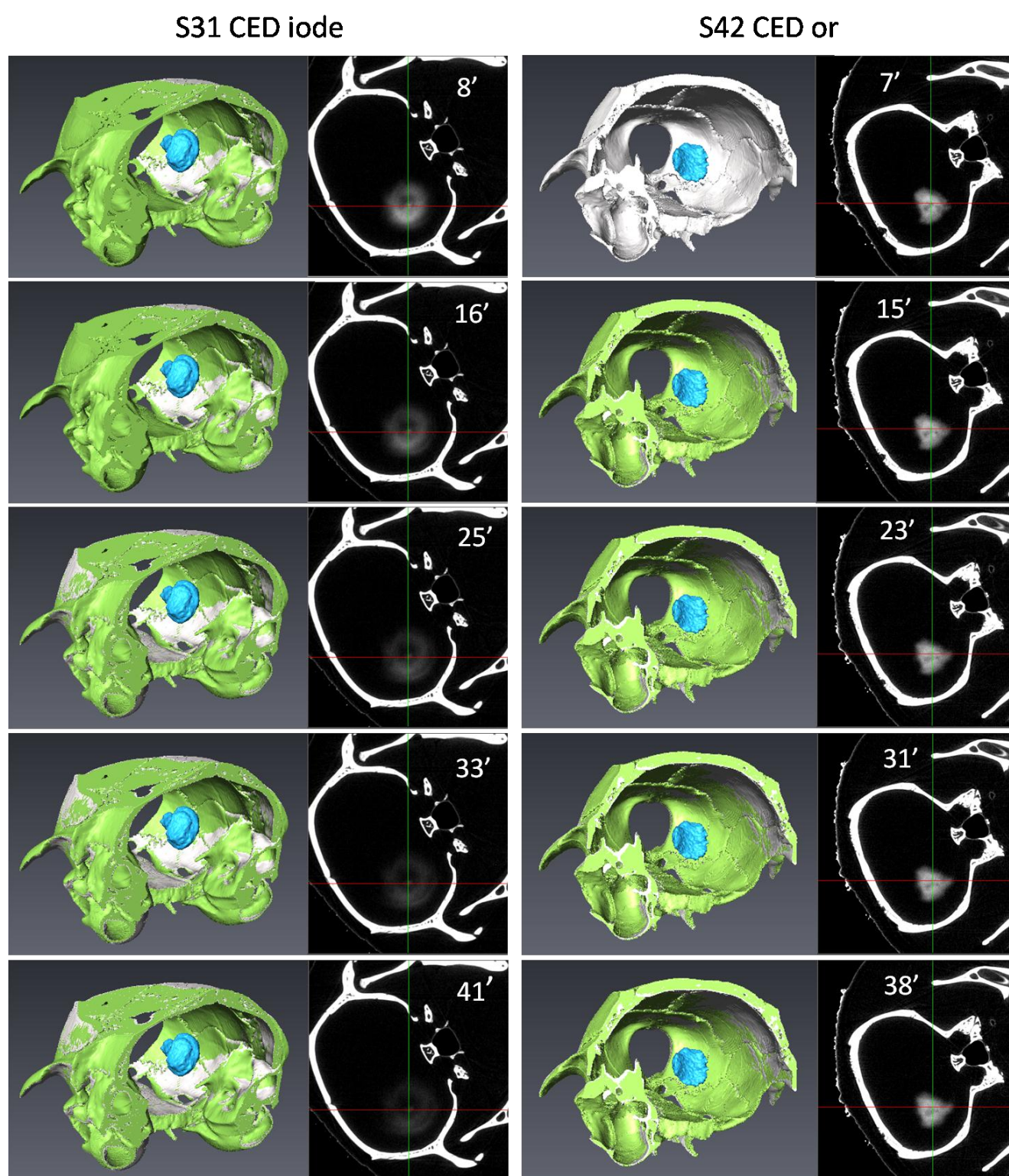


Figure 112 : Comparaison des distributions transitoires d'iode (à gauche) et d'or (à droite) en fonction du temps de post-injection, indiqué en minutes, de haut en bas. Les coupes coronales d'imagerie sont représentées (codage en concentration de traceur, affichage linéaire entre 0 et 20 $mg.mL^{-1}$), ainsi que la visualisation 3D de la boîte crânienne et du volume de distribution à 5 % en bleu ; la boîte crânienne du premier scan est représentée en blanc, et en vert pour le scan suivant : l'exactitude du positionnement virtuel du cerveau entre le premier scan et le scan en cours est ainsi vérifiée et les coupes orthogonales sont en correspondance spatiale.

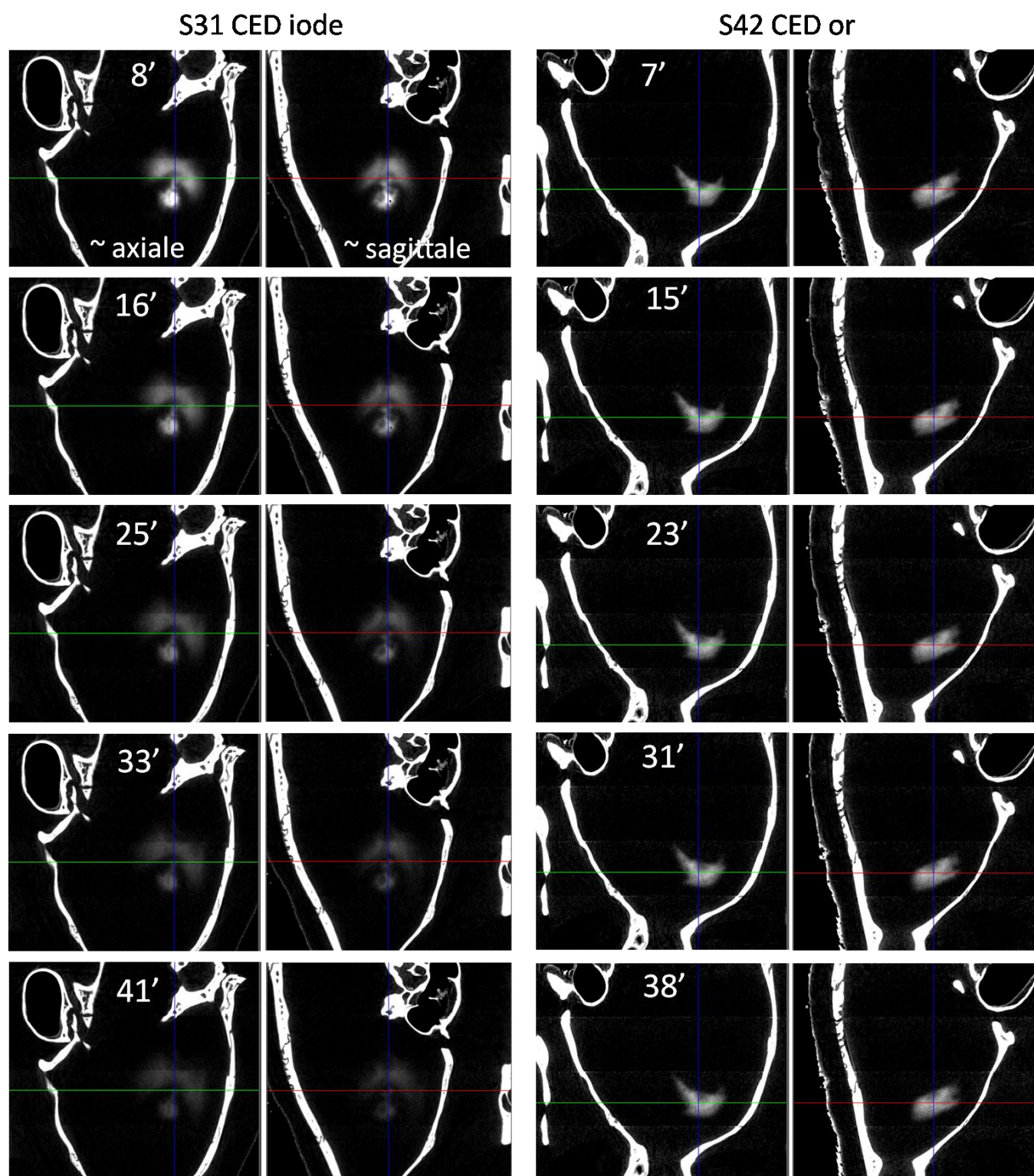


Figure 113 : Comparaison des distributions transitoires d'iode (à gauche) et d'or (à droite) en fonction du temps de post-injection, indiqué en minutes, de haut en bas. Les coupes d'imagerie pseudo-axiale et pseudo-sagittale sont représentées (codage en concentration de traceur, affichage linéaire entre 0 et 20 mg.mL^{-1}). Les scans successifs sont en correspondance spatiale (cf. Figure 112).

Nous pouvons également comparer les distributions transitoires d'iode et d'or en post-infusion à partir de l'analyse des histogrammes de concentration de traceurs dans le volume de distribution à 5 % de la concentration d'injection. Ces données sont présentées à la Figure 114 ci-dessous. Ces données indiquent clairement l'étalement de la distribution des traceurs. Pour l'iode, il y a un déplacement vers les basses concentrations au fur et à mesure que le temps de post-infusion s'écoule. Pour l'or, on observe une distribution de voxels qui varie beaucoup moins en fonction du temps. Sur ce rat, un scan supplémentaire à 176 minutes de post-injection (environ 3 heures) avait également été réalisé, puis recalé virtuellement sur les scans précédents. On peut voir que la distribution de voxels dans le volume de distribution commence à se déplacer vers une plus faible plage de concentrations d'or. Ces résultats sont cohérents avec l'analyse précédente des courbes et des cartes transitoires de concentrations des traceurs.

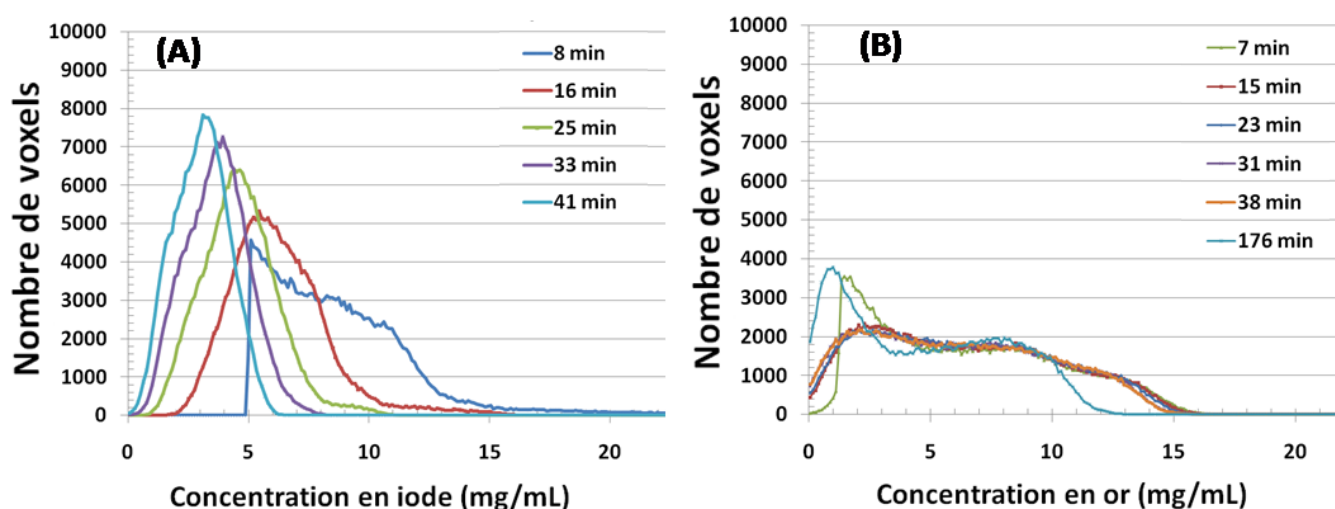


Figure 114 : Histogramme de concentration de traceurs aux différents temps d'imagerie en post-infusion CED : iode en (A) et or en (B). Les deux rats utilisés pour ces données sont les mêmes que ceux des Figure 112 et Figure 114 (S31 et S42).

4.7 Discussion

Nous avons abordé ici la question du transport cérébral interstitiel de deux traceurs, iode et nanoparticules d'or, dans un modèle de tumeur cérébrale F98 chez le rat après injection par voie intratumorale (CED) de 5 μL de solution contenant le traceur à un débit de 0.5 $\mu\text{L} \cdot \text{min}^{-1}$ (soit une durée d'administration de 10 minutes). Ces deux traceurs qui présentent chacun un fort coefficient d'atténuation linéique en comparaison avec les tissus sains à l'énergie du faisceau utilisée (35 keV, au-dessus du seuil K de l'iode) permettent de quantifier de façon précise (45.7 μm de taille de voxel isotrope) les distributions de ces traceurs *in vivo*. Nous avons testé l'influence de différents paramètres physiologiques de l'animal sur la distribution des traceurs après injection CED : la nature de l'anesthésique (kétamine + xylazine, pentobarbital, ou anesthésie dérivée en euthanasie), la co-injection du traceur avec un vasoconstricteur (épinéphrine) ou encore la pré-administration par voie intrapéritonéale d'un glucocorticoïde (dexaméthasone). Ces choix ont été fait avec l'objectif de modifier la physiologie tumorale, que nous pensons être en partie responsable de l'hétérogénéité de distribution des drogues dans ces tumeurs *in vivo*.

Nous avons pu mettre en évidence pour les deux traceurs des distributions hétérogènes dans ces tumeurs F98, même entre les rats d'un même groupe, impliquant de prendre des précautions quant à leurs interprétations. L'analyse des courbes de concentrations moyennes et de masse de l'iode dans le volume de distribution à 5 % de la concentration d'injection ont permis de mettre en évidence que :

- 1) la concentration d'iode décroît relativement rapidement dans les tissus tumoraux (plus rapidement que pour l'iode dans le tissu cérébral sain d'un facteur environ 2 (*cf.* section 3.4.2.2, p. 159), et nettement plus rapidement que pour les nanoparticules d'or.
- 2) l'injection CED dans ces tumeurs immédiatement après euthanasie de l'animal conduit à des masses et des concentrations d'iode plus élevées dans le volume de distribution. On note que la masse d'iode trouvée 10 minutes environ après fin d'injection est à 6 % près la masse effectivement administrée (0.5 mg). Si la masse d'iode en transitoire de post-infusion décroît pour les cinq groupes, aucune information statistique significative ne nous permet de dire si la décroissance du groupe « iode + euth » est plus lente que pour les quatre autres groupes. Toutefois, cette dernière décroissance nous fait formuler l'hypothèse que la distribution d'iode *in vivo* après euthanasie s'étale par diffusion moléculaire pure dans l'interstitium, en supposant les échanges de liaison à la matrice extracellulaire et d'internalisation cellulaire complètement négligeables, ainsi que des échanges trans- et intra-vasculaires par diffusion mineurs. Les volumes de distribution d'iode à 5 % ne sont pas statistiquement différents entre les cinq groupes de l'étude et sont cohérents avec le volume injecté (5 μL). L'analyse des histogrammes de concentration de traceurs dans le volume de distribution à 5 % a montré que 10 à 40 minutes de temps de post-infusion suffisent à observer le déplacement d'un nombre important de voxels de ce volume vers les basses concentrations ($< 5 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$). Ces données indiquent qu'il existe des mécanismes de transport dans le volume de distribution à 5 % qui amène l'iode à se distribuer en dehors de ce volume. Nous savons que la diffusion moléculaire est en partie responsable de ce transport interstitiel en raison des gradients de concentration tissulaire. Nous émettons l'hypothèse supplémentaire que des mécanismes de convection physiologique interstitielle propres à la tumeur affectent également ce transport. En effet, l'observation des cartes d'imagerie en transitoire pour les coupes orthogonales coronale, axiale et sagittale semblent montrer l'évolution de certaines régions de concentration d'iode vers des directions allant à l'encontre de mécanismes purement diffusifs. Cela dit, ces observations restent spéculatives dans le sens où elles ne sont pas quantifiées, et elles n'ont pas été observées pour tous les rats. Qui plus est, l'identification du volume tumoral après recalage de ce dernier sur les scans d'injection CED seraient pertinents ici, comme nous avons pu le pratiquer au chapitre III. Nous avons volontairement laissé cet aspect de côté par manque de temps. De futures investigations pourraient être faites à ce sujet.

Concernant les injections d'or cette fois, les cinétiques observées sont différentes. En effet, les concentrations moyennes et masses d'or tracées en fonction du temps de post-injection indiquent une cinétique nettement plus lente. De plus, les masses d'or trouvées sont plus proches de la masse effectivement administrée (0.125 mg) en comparaison avec les données d'iode, pour tous les groupes. Par ailleurs, les rapports de volume de distribution à 5 % sur volume injecté pour l'or et

l'iode sont tous deux compris entre 4 et 6, étant cohérents avec une fraction volumique extracellulaire des tissus cibles d'environ 20 %. Deux hypothèses peuvent être émises quant à la cinétique lente de transport des nanoparticules d'or (15 nm de diamètre) dans ces tissus tumoraux :

1) le transport interstitiel convectif lié à l'injection et diffusif est restreint géométriquement dans les pores de l'espace extracellulaire car la taille des nanoparticules se rapproche de la taille typique de cet espace (entre 38 et 64 nm d'après Thorne *et al.* 2006 [43], contre des estimations plus anciennes de l'ordre de 20 nm) ;

2) les nanoparticules ne subissent pas d'effet de restrictions géométriques mais sont soumises à des mécanismes de fixation sur la matrice extracellulaire et sur la surface des cellules, puis éventuellement internalisées. Ce type d'interaction est notamment conditionné par les propriétés de surfaces des nanoparticules (« coating » en anglais) (Chen *et al.* 2005 [46]); ici nous ne connaissons pas ces propriétés et ne pouvons en conséquent les discuter. On peut dire toutefois du point de vue bibliographique que la nature de la surface des nanoparticules, entre autres la charge électrique, conditionne le transport interstitiel (convection à vitesse réduite, fixation). Des charges positives pourraient par exemple se fixer facilement dans l'interstitium car un bon nombre des protéines constitutives de la matrice extracellulaire sont chargées négativement favorisant les mécanismes de fixation. Quittant ces spéculations pour revenir aux données, les distributions spatiales des nanoparticules d'or corrélées avec l'allure des histogrammes de concentration associés permettent le constat d'une très lente variation spatiale et moyenné de la concentration d'or.

4.8 Conclusion

Nous avons pu, au travers de cette étude, réaliser le suivi quantitatif de traceurs (iopamidol et nanoparticules d'or) administrés par CED dans le tissu cérébral tumoral F98 chez le rat pour caractériser *in vivo*, à haute résolution spatiale et de façon non invasive la distribution de ces agents dans les tissus. Différents protocoles modifiant la physiologie tumorale ont été étudiés, dans le but d'améliorer l'adéquation entre le volume tumoral et la distribution d'éléments lourds pour la CT-thérapie. Ces résultats d'imagerie pourraient être transposés à d'autres molécules d'intérêt thérapeutique, si celle-ci possèdent les mêmes propriétés physico-chimiques. On peut spéculer par exemple, que les résultats obtenus dans cette étude avec l'iopamidol donnent une bonne image littérale à l'ordre 1 d'analyse de la distribution de composés antinéoplasiques de faible poids moléculaire comme par exemple des composés platinés (cisplatine et autres), lorsque l'on considère la distribution pendant ou immédiatement après injection CED (voir Rousseau *et al.* 2007a [112] et Rousseau *et al.* 2007b [183]). Il convient toutefois de garder en mémoire que les drogues sont conçues pour agir *in vivo*, le plus souvent dans l'espace intracellulaire (entre autres le noyau cellulaire), ce qui suppose des mécanismes d'internalisation des molécules de l'espace extracellulaire vers l'espace intracellulaire, et éventuellement des mécanismes de fixation sur la matrice extracellulaire et / ou la surface des cellules (avant ou simultanément à l'internalisation). On peut donc avec cette méthode d'imagerie seulement estimer la région initialement couverte par la drogue et non prédire son devenir.

Conclusion

Ce projet de thèse s'est développé au sein d'une équipe dont la thématique centrale est la radiothérapie stéréotaxique par rayonnement synchrotron (SSRT) pour le traitement des tumeurs cérébrales. Deux stratégies ont été développées selon cet axe les dernières années, basées à la fois sur des études expérimentales et des calculs numériques de type Monte-Carlo. La première stratégie consiste en l'administration intratumorale d'un élément lourd afin d'induire une augmentation du dépôt de dose X dans le tissu cible (la tumeur) lors d'une irradiation stéréotaxique avec un faisceau X monochromatique de basse énergie (radiothérapie par photo activation). La seconde stratégie est basée sur la combinaison d'une chimiothérapie intracérébrale (pompes osmotiques, Convection-Enhanced Delivery) suivie d'une radiothérapie (chimio-radiothérapie). Les études précliniques conduites selon ces deux axes de recherche ont donné des résultats encourageants (thèses de Jean-François Adam 2003 [136], Marie-Claude Biston 2004 [184], Julia Rousseau 2007 [137], Laure Bobyk 2010 [182]). Le succès de telles approches thérapeutiques dépend entre autres de la qualité du ciblage spatial de la tumeur par l'élément lourd ou l'agent thérapeutique administré. En effet, la distribution tissulaire de l'agent à l'instant d'irradiation est un paramètre important qui nécessite d'être optimisé. Pour ces deux stratégies, il est souhaitable que l'espèce soit présente dans l'ensemble du tissu tumoral, en tenant compte d'une certaine marge de diffusion des cellules cancéreuses dans le tissu sain environnant et en cherchant à éviter les régions adjacentes non ciblées. C'est dans ce contexte que ce projet de recherche s'est développé, en visant à améliorer la distribution des drogues après leur administration intracérébrale. Considérant une injection intratumorale, le but est non seulement de couvrir correctement l'ensemble de la tumeur à l'instant de fin d'injection, mais également d'obtenir une distribution satisfaisante en fonction du temps de post-injection (facteur concentration $\times$ temps) sur ce même volume. Il est en effet important, par exemple pour l'approche de radiothérapie par photo activation, que la concentration en éléments lourds soit suffisamment stable pendant toute la durée de l'irradiation, qui peut être supérieure à une demi-heure. Il est apparu indispensable de caractériser par imagerie la distribution de traceurs *in vivo* dans le tissu sain et tumoral afin de mettre en évidence les mécanismes de transport interstitiel de ces derniers.

Concernant le volet « modélisation » de ce travail, une étude poussée de la littérature a tout d'abord été réalisée. Les modèles théoriques macroscopiques étudiés dans le chapitre I ont pour la plupart été réalisés en géométrie sphérique avec une description radiale des grandeurs mathématiques. Ils ont mis en évidence trois aspects importants de l'écoulement de fluide et du transport d'espèce dans les tissus cérébraux sains et tumoraux. Tout d'abord, les infusions à débit imposé dans un tissu sans mécanismes de clairance conduisent à une distribution radiale de pression ($\sim 1/r$) et de vitesse ($\sim 1/r^2$) interstitielle du fluide (Basser *et al.* 1992 [99]). La prise en compte d'une réabsorption micro vasculaire homogène du fluide et du soluté injectés dans le tissu cérébral sain a été décrite par Morrison *et al.* 1994 [6]. Il en résulte une décroissance radiale plus forte de la pression interstitielle dans le tissu ($\sim \exp(-\alpha r)/r$) (et donc de la vitesse), d'autant plus que la conductivité hydraulique vasculaire multipliée par la densité volumique de surface vasculaire d'échanges est grande comparée à la conductivité hydraulique du tissu. Ces échanges restent cela

dit mineurs dans le cas d'infusions de petits volumes sur des courtes durées telles que nous les avons pratiquées *in vivo*. Ces auteurs ont, de plus, détaillé un formalisme mathématique intégrant notamment l'évolution de la concentration en post-injection à partir de la diffusion de sources ponctuelles ainsi que la formulation de métriques pharmacocinétiques (*AUC*, Area Under the Curve). Le second aspect porte sur l'écoulement et le transport physiologique dans les tumeurs, avec comme élément central le modèle macroscopique développé par Baxter et Jain 1989-1990 [2, 80]. Ce modèle prédit dans des conditions très simples (vascularisation homogène, tumeur seule ou entourée de tissu sain) l'existence de gradients de pression intratumoraux chassant toute substance de l'interstitium tumoral vers l'interstitium sain périphérique (transport résolu pour une administration systémique de macromolécules). Smith *et al.* 2007 [92] ont finalement développé des solutions analytiques d'écoulement stationnaire et transitoire lors d'injections à pression imposée dans des tumeurs avec ou sans nécrose.

Dans une deuxième partie de la thèse, nous avons approfondi les quantifications par imagerie des distributions de traceurs pendant et après injection CED. Ces études, dans un premier temps *in vitro* et pendant injection, ont consisté à développer une méthode de suivi par IRM d'un agent de contraste (Gd-DOTA) administré par CED dans des gels d'agarose faiblement concentrés. Des études *in vivo* ont ensuite été réalisées au synchrotron afin de quantifier par tomographie X quantitative les distributions de traceurs (agent de contraste iodé et nanoparticules d'or) dans le cerveau de rats sains ou porteurs de tumeurs F98.

Afin de simplifier dans un premier temps les relations entre paramètres d'injections CED et distributions observées, nous avons étudié des injections CED de Gd-DOTA dans des gels d'agarose homogènes et isotropes, fantôme de tissu cérébral souvent considéré dans la littérature CED. Nous avons développé, en collaboration avec Hanah Larech et Franck Mauconduit (Institut des Neurosciences, équipe 5), une méthode de suivi par IRM permettant l'acquisition de données volumiques pendant l'injection du produit de contraste. Ces développements méthodologiques ont été validés expérimentalement. La distribution de Gd-DOTA ($20 \mu\text{L}$) a été évaluée en considérant différents protocoles d'injection avec trois débits d'injection (0.3 , 0.5 et $2.5 \mu\text{L} \cdot \text{min}^{-1}$) pour un cathéter plastique ($OD = 0.8 \text{ mm}$, $ID = 0.5 \text{ mm}$). Nous avons ainsi été capables de quantifier *in vitro* les cartes de concentration d'agents de contraste dans le gel, puis d'en déduire le volume de distribution défini à 5 % de la concentration d'injection, les profils de concentration à la sortie du cathéter, ainsi que la masse d'agent de contraste dans le volume de distribution. La linéarité entre volume injecté et volume de distribution à 5 % a été vérifiée sur cette plage de volumes injectés ($R^2_{\text{corr}} \geq 0.997$), indiquant une porosité effective du gel d'environ 30 %. A la fin de l'injection, la distribution de concentration est plus compacte à fort débit ($2.5 \mu\text{L} \cdot \text{min}^{-1}$) comparé aux bas débits (0.3 et $0.5 \mu\text{L} \cdot \text{min}^{-1}$), résultant du rôle combiné à fort débit de la réduction de l'effet de diffusion moléculaire (plus faible temps d'injection) et d'une augmentation du transport convectif par rapport au transport diffusif (nombre de Peclet plus élevé). En simulant l'écoulement et le transport du Gd-DOTA dans une géométrie réaliste de gels, nous avons pu valider qualitativement les distributions d'agents de contraste observées expérimentalement. La correspondance

quantitative reste à améliorer, notamment par une meilleure estimation des paramètres du gel et des propriétés de transport associées.

Nous avons ensuite réalisé l'infusion d'un agent de contraste iodé dans le cerveau de rats sains ou porteurs de tumeurs (F98) en quantifiant *in vivo* par tomographie X quantitative à haute résolution spatiale ($45.7\ \mu\text{m}$ isotrope) leurs distributions respectives en post-injection (typiquement de dix minutes à une heure). Une méthodologie d'analyse spécifique a été développée permettant de calculer les cartes de concentrations d'agent de contraste, de les visualiser puis de quantifier leurs caractéristiques. Le volume de distribution à 5 % de la concentration d'injection en fin d'injection a ainsi été évalué, ainsi que les histogrammes de concentrations, les masses de traceurs et les profils de concentrations. Nous avons évalué le rôle de l'épinéphrine en tant que vasoconstricteur co-injecté à l'iode et nous n'avons pas observé d'effet statistique significatif. Réalisant les injections d'iode à 0.5 ou $2.5\ \mu\text{L}\cdot\text{min}^{-1}$, nous n'avons pas observé d'écarts significatifs ici non plus entre ces deux groupes. Nous avons par ailleurs effectué par recalage d'images des comparaisons entre le volume de distribution d'iode post-CED avec le volume tumoral estimé après injection d'iode par voie systémique pour chaque rat de l'étude. Cette approche originale a notamment permis d'évaluer un facteur de recouvrement spatial de l'iode administré par CED par rapport au volume tumoral. Nous avons pu également chez des rats sains et porteurs de tumeurs faire un suivi cinétique post-injection. Dans une seconde étude, nous avons quantifié la distribution CED de traceurs (iode et nanoparticules d'or) chez des rats porteurs de tumeurs F98 en suivi cinétique de post-injection pour différentes conditions physiologiques de l'animal. Il a été particulièrement instructif de quantifier la distribution de l'agent de contraste iodé dans le cas de rats euthanasiés avant infusion afin de mettre en évidence le rôle de la vascularisation tumorale dans le transport interstitiel intratumoral de l'agent de contraste. Nous avons pu observer par ailleurs des distributions d'iode et de nanoparticules d'or assez différentes, en particulier pour la cinétique de post-injection, les nanoparticules restant stables dans le tissu sur l'échelle de temps observée ($\sim 1\ \text{h}$).

Notre étude montre que des concentrations élevées sont obtenues immédiatement après injection (e.g. 50 % des voxels du volume de distribution ont une concentration en iode entre 15 et $50\ \text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ chez les rats porteurs de tumeurs pour le groupe $2.5\ \mu\text{L}\cdot\text{min}^{-1}$), et pendant une longue période (temps caractéristique de décroissance : $\sim 50\ \text{min}$ dans le tissu sain, et $\sim 20\ \text{min}$ dans le tissu tumoral), ce qui permettrait de réaliser des études précliniques de radiothérapie par photo activation aussi bien avec un agent de contraste iodé qu'avec les nanoparticules d'or. La méthode d'injection intracérébrale permet d'augmenter considérablement les concentrations en éléments lourds par rapport aux injections systémiques. L'augmentation de dose étant directement liée à la concentration en élément lourds présents autour des cellules tumorales (cf. thèse de Magali Edouard 2010 [185]), ceci pourrait améliorer significativement l'efficacité thérapeutique de ce traitement combiné. Pour compléter cette dernière étude, l'analyse de la superposition des volumes de distribution et des volumes tumoraux reste à faire, car l'adéquation des deux volumes est un élément clef de réussite du traitement.

La transposition de ces résultats au cas d'une tumeur cérébrale chez l'homme nécessite de prendre en considération les points suivants. Le volume cérébral est très différent chez les deux espèces (facteur 2000), ce qui implique des volumes à couvrir plus importants chez l'homme. Par ailleurs, les risques de reflux imposent une limite supérieure aux choix du débit d'injection, avec les cathéters actuellement disponibles. Par conséquent, pour couvrir une région cérébrale significative, il est souvent nécessaire d'utiliser plusieurs cathéters simultanément et les durées d'injections sont nettement supérieures pour l'homme (de l'ordre du jour) que pour le rat (inférieur à l'heure). Les temps caractéristiques pour les mécanismes de transport entrants en jeu sont donc différents. On peut notamment s'attendre sur une injection complète à une contribution plus importante de la réabsorption micro vasculaire cérébrale, ainsi qu'à un effet plus important de la diffusion moléculaire. De plus, les risques de reflux chez l'homme sont nettement plus élevés que chez le rat du fait de la morphologie cérébrale humaine (sillons) qui diffère du cerveau du rat (lissencéphale). Il en résulte que les chemins d'accès pour introduire un cathéter dans une région donnée du cerveau sont réduits chez l'homme.

A ce jour, la compréhension et l'optimisation de la distribution CED de drogues pendant et après infusion restent une étape critique dans le traitement des tumeurs cérébrales et nécessitent davantage d'efforts.

Bibliographie

1. Jain RK, B.L., *Mechanisms of Heterogeneous Distribution of Monoclonal Antibodies and Other Macromolecules in Tumors: Significance of Elevated Interstitial Pressure*. Cancer Research, 1988. **48**(24): p. 7022-7032
2. Baxter LT, J.R., *Transport Of Fluid And Macromolecules In Tumors .1. Role Of Interstitial Pressure And Convection*. Microvascular Research, 1989. **37**(1): p. 77-104.
3. Boucher Y , B.L., Jain RK, *Interstitial Pressure-Gradients in Tissue-Isolated and Subcutaneous Tumors - Implications for Therapy*. Cancer Research, 1990. **50**(15): p. 4478-4484.
4. Groothuis DR, B.H., Allen CV, Wise RM, Dills C, Dobrescu C, Rothholtz V, Levy RM, *Comparison of cytosine arabinoside delivery to rat brain by intravenous, intrathecal, intraventricular and intraparenchymal routes of administration*. Brain Research, 2000. **856**(1-2): p. 281-290
5. Bobo RH, L.D., Akbasak A, Morrison PF, Dedrick RL, Oldfield EH, *Convection-Enhanced Delivery Of Macromolecules In The Brain*. Proceedings Of The National Academy Of Sciences Of The United States Of America, 1994. **91**(6): p. 2076-2080.
6. Morrison PF, L.D., Bobo H, Oldfield EH, Dedrick RL, *High-Flow Microinfusion - Tissue Penetration And Pharmacodynamics*. American Journal Of Physiology, 1994. **266**(1): p. R292-R305.
7. Morrison PF, C.M., Chadwick RS, Lonser RR, Oldfield EH, *Focal delivery during direct infusion to brain: role of flow rate, catheter diameter, and tissue mechanics*. American Journal of Physiology-Regulatory Integrative and Comparative Physiology, 1999. **277**(4): p. R1218-R1229.
8. Vavra M, A.M., Kang EWY, Navalitloha Y, Ebert A, Allen CV, Groothuis DR, *Comparative pharmacokinetics of C-14-sucrose in RG-2 rat gliomas after intravenous and convection-enhanced delivery*. Neuro-Oncology, 2004. **6**(2): p. 104-112.
9. Ali MJ, N.Y., Vavra MW, Kang EWY, Itskovich AC, Molnar P, Levy RM, Groothuis DR, *Isolation of drug delivery from drug effect: Problems of optimizing drug delivery parameters*. Neuro-Oncology, 2006. **8**(2): p. 109-118.
10. Sarntinoranont M, B.R., Lonser RR, Morrison PF, *A computational model of direct interstitial infusion of macromolecules into the spinal cord*. Annals Of Biomedical Engineering, 2003. **31**(4): p. 448-461.
11. Linninger AA, S.M., Erickson T, Guo XD, Penn RD, *Computational methods for predicting drug transport in anisotropic and heterogeneous brain tissue*. Journal Of Biomechanics, 2008. **41**(10): p. 2176-2187.
12. Raghavan R, M.S., Brady M, Chen ZJ, *Fluid infusions from catheters into elastic tissue: I. Azimuthally symmetric backflow in homogeneous media*. Physics In Medicine And Biology, 2010. **55**(1): p. 281-304.
13. Ferlay J, S.H., Bray F, Forman D, Mathers C and Parkin DM., *GLOBOCAN 2008, Cancer Incidence and Mortality Worldwide: IARC CancerBase No. 10 [Internet]*. Lyon, France: International Agency for Research on Cancer; 2010. . 2008.
14. *CBTRUS Statistical Report : Primary Brain and Central Nervous System Tumors Diagnosed in the United States in 2004-2006*. 2010, Central Brain Tumor Registry of the United States: Hinsdale, IL.
15. Louis DN, O.H., Wiestler OD, Cavenee WK, Burger PC, Jouvet A, Scheithauer BW, Kleihues P, *The 2007 WHO classification of tumours of the central nervous system*. Acta Neuropathologica, 2007. **114**(2): p. 97-109.
16. Louis DN, O.H., Wiestler OD, Cavenee WK, Burger PC, Jouvet A, Scheithauer BW, Kleihues P, *The 2007 WHO classification of tumours of the central nervous system (vol 114, pg 97, 2007)*. Acta Neuropathologica, 2007. **114**(5): p. 547-547.
17. Philippon J, *Tumeurs cérébrales - Du diagnostic au traitement*, ed. Masson. 2004.
18. Nguyen T, D.L., *Treatment of brain metastases*. J Support Oncol 2004. **2**(5): p. 405-10.
19. Gladson CL, P.R., Liu WM, *The Pathobiology of Glioma Tumors*. Annual Review of Pathology-Mechanisms of Disease, 2010. **5**: p. 33-50
20. Carpentier AC, *Surgical resection of gliomas in 2008*. Cancer Radiotherapie, 2008. **12**(6-7): p. 676-686.

21. Arko L, K.I., Park GE, Luan WP, Park JK, *Experimental approaches for the treatment of malignant gliomas*. Pharmacology and Therapeutics, 2010. **128**(1): p. 1-36.
22. Pluta RM, B.J., Schatlo B, Johnson DL, Oldfield EH, *Subarachnoid hemorrhage and the distribution of drugs delivered into the cerebrospinal fluid*. Journal Of Neurosurgery, 2009. **111**(5): p. 1001-U128.
23. Glantz MJ, V.H.A., Fisher R, Chamberlain MC, *Route of Intracerebrospinal Fluid Chemotherapy Administration and Efficacy of Therapy in Neoplastic Meningitis*. Cancer, 2010. **116**(8): p. 1947-1952.
24. Baumann MD, K.C., Tator CH, Shoichet MS, *Intrathecal delivery of a polymeric nanocomposite hydrogel after spinal cord injury*. Biomaterials, 2010. **31**(30): p. 7631-9.
25. Shoichet MS, T.C., Poon P, Kang C, Baumann MD, *Intrathecal drug delivery strategy is safe and efficacious for localized delivery to the spinal cord*. Progress in Brain Research, 2007. **161**: p. 385-92.
26. Malkmus SA, Y.T., *Intrathecal catheterization and drug delivery in the rat*. Methods in Molecular Medicine, 2004. **99**: p. 109-21.
27. Chen MY, L.R., Morrison PF, Governale LS, Oldfield EH, *Variables affecting convection-enhanced delivery to the striatum: a systematic examination of rate of infusion, cannula size, infusate concentration, and tissue-cannula sealing time*. Journal Of Neurosurgery, 1999. **90**(2): p. 315-320.
28. Carson BS, W.Q., Tyler B, Sukay L, Raychaudhuri R, DiMeco F, Clatterbuck RE, Olivi A, Guarnieri M, *New approach to tumor therapy for inoperable areas of the brain: chronic intraparenchymal drug delivery*. Journal Of Neuro-Oncology, 2002. **60**(2): p. 151-158.
29. Cunningham MG, A.H., Donalds RA, Benes FM, *Construction and implantation of a microinfusion system for sustained delivery of neuroactive agents*. Journal Of Neuroscience Methods, 2008. **167**(2): p. 213-220.
30. Cunningham MG, O.C.R., Wong SE, *Construction and implantation of a microinfusion system for sustained delivery of neuroactive agents*. J Vis Exp 2008(13).
31. Krauze MT, S.R., Noble C, Tamas M, Bringas J, Park JW, Berger MS, Bankiewicz KS, *Reflux-free cannula for convection-enhanced high-speed delivery of therapeutic agents - Technical note*. Journal Of Neurosurgery, 2005. **103**(5): p. 923-929.
32. Raghavan R, B.M., Rodríguez-Ponce MI, Hartlep A, Pedain C, Sampson JH, *Convection-enhanced delivery of therapeutics for brain disease, and its optimization*. Neurosurg Focus, 2006. **20**(4): p. E12.
33. Oh S, O.R., Wilson SR, Kroeger KM, Liu C, Lowenstein PR, Castro MG, Hall WA, Ohlfest JR, *Improved distribution of small molecules and viral vectors in the murine brain using a hollow fiber catheter*. Journal Of Neurosurgery, 2007. **107**(3): p. 568-577.
34. http://www.medscape.com/viewarticle/712531_3.
35. Olson JJ, Z.Z., Dillehay D, Stubbs J, *Assessment of a balloon-tipped catheter modified for intracerebral convection-enhanced delivery*. Journal Of Neuro-Oncology, 2008. **89**(2): p. 159-168.
36. Neeves KB, L.C., Foley CP, Saltzman WM, Olbricht WL, *Fabrication and characterization of microfluidic probes for convection enhanced drug delivery*. Journal Of Controlled Release, 2006. **111**(3): p. 252-262.
37. Moon T, P.D., Purcell EK, Seymour JP, Kipke DR. *Local Drug Delivery System for Dynamic Control of Neural Environment using Parylene-Based Microelectrodes*. in World Congress on Medical Physics and Biomedical Engineering. 2007. Seoul, SOUTH KOREA, AUG 27-SEP 01, 2006.
38. Sanftner LM, S.J., Suzuki BM, Smith PH, Vijay S, Vargas JA, Forsayeth JR, Cunningham J, Bankiewicz KS, Kao HW, Bernal J, Pierce GF, Johnson KW, *AAV2-mediated gene delivery to monkey putamen: Evaluation of an infusion device and delivery parameters*. Experimental Neurology, 2005. **194**(2): p. 476-483.
39. Guarnieri M, C.B., Khan A, Penno M, Jallo GI, *Flexible versus rigid catheters for chronic administration of exogenous agents into central nervous system tissues*. Journal Of Neuroscience Methods, 2005. **144**(2): p. 147-152.
40. Mardor Y, R.O., Zauberman Y, Lidar Z, Ocherashvili A, Daniels D, Roth Y, Maier SE, Orenstein A, Ram Z, *Convection-enhanced drug delivery: Increased efficacy and magnetic resonance image monitoring*. Cancer Research, 2005. **65**(15): p. 6858-6863.

41. Mardor Y, L.D., Daniels D, Shneor R, Maier SE, Nass D, Ram Z, *Convection-Enhanced Drug Delivery of Interleukin-4 Pseudomonas Exotoxin (PRX321): Increased Distribution and Magnetic Resonance Monitoring*. Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics, 2009. **330**(2): p. 520-525.
42. Perlstein B, R.Z., Daniels D, Ocherashvilli A, Roth Y, Margel S, Mardor Y, *Convection-enhanced delivery of maghemite nanoparticles: Increased efficacy and MRI monitoring*. Neuro-Oncology, 2008. **10**(2): p. 153-161.
43. Thorne RG, N.C., *In vivo diffusion analysis with quantum dots and dextrans predicts the width of brain extracellular space*. Proceedings Of The National Academy Of Sciences Of The United States Of America, 2006. **103**(14): p. 5567-5572.
44. Chen ZJ, B.W., Viswanathan RR, Raghavan R, Gillies GT, *Intraparenchymal drug delivery via positive-pressure infusion: Experimental and modeling studies of poroelasticity in brain phantom gels*. IEEE Transactions On Biomedical Engineering, 2002. **49**(2): p. 85-96.
45. Neeves KB, S.A., Foley CP, Saltzman WM, Olbricht WL, *Dilation and degradation of the brain extracellular matrix enhances penetration of infused polymer nanoparticles*. Brain Research, 2007. **1180**: p. 121-132.
46. Chen MY, H.A., Morrison PE, Hamilton JF, Hughes J, Schlageter KS, Lee J, Kelly BR, Oldfield EH, *Surface properties, more than size, limiting convective distribution of virus-sized particles and viruses in the central nervous system*. Journal Of Neurosurgery, 2005. **103**(2): p. 311-319.
47. Rhee MJ, G.G., *Positive pressure infusion into complex gels models of human brain*. 1999, University of Virginia.
48. Chen ZJ, G.G., Broaddus WC, Prabhu SS, Fillmore H, Mitchell RM, Corwin FD, Fatouros PP, *A realistic brain tissue phantom for intraparenchymal infusion studies*. Journal Of Neurosurgery, 2004. **101**(2): p. 314-322.
49. Nicholson C, C.K., Hrabetova S, Tao L, *Diffusion and related transport mechanisms in brain tissue*. Reports on Progress in Physics, 2001. **64**(7): p. 815-884
50. Murad GJA, W.S., Morrison PF, Garmestani K, Degen JW, Brechbiel MW, Oldfield EH, Lonser RR, *Real-time, image-guided, convection-enhanced delivery of interleukin 13 bound to Pseudomonas exotoxin*. Clinical Cancer Research, 2006. **12**(10): p. 3145-3151
51. Paxinos G, M.J., *The human nervous system*, ed. Elsevier. 2004.
52. Fix JD, *Neuro-anatomie*. De Boeck ed. 2004.
53. Bear MF, C.B., Paradiso MA, *Neurosciences, à la découverte du cerveau*. Pradel ed, ed. T. Edition. 2007.
54. Nicholson C, S.E., *Extracellular space structure revealed by diffusion analysis*. Trends In Neurosciences, 1998. **21**(5): p. 207-215.
55. <http://brainmaps.org/>.
56. Fischl B, D.A., *Measuring the thickness of the human cerebral cortex from magnetic resonance images*. Proceedings Of The National Academy Of Sciences Of The United States Of America, 2000. **97**(20): p. 11050-11055.
57. Hasboun D, C.M., Zouaoui A, Sahel M, Baulac M, Marsault C, Duyme M, Dormont D, *Evaluation du volume cérébral : Reproductibilité et précision d'une technique 3D IRM*. Bulletins et mémoires de la Société d'anthropologie de Paris, 1996. **8**(1-2): p. 43-56.
58. Sahin B, A.H., Unal B, Canan S, Bilgic S, Kaplan S, Tumkaya L, *Brain volumes of the lamb, rat and bird do not show hemispheric asymmetry : a stereological study*. Image Anal Stereol, 2001. **20**: p. 9-13.
59. <http://serendip.brynmawr.edu/bb/kinser/Compare1.html>.
60. Moore KL, D.A., *Clinically oriented anatomy*. 5th ed, ed. L.W.a. Wilkins. 2006.
61. Hasboun D, F.H. http://www.chups.jussieu.fr/polys/eia_neuro/meninges_eia.pdf.
62. Maurer MH, *Proteomics of brain extracellular fluid (ECF) and cerebrospinal fluid (CSF)*. Mass Spectrom Rev. , 2010. **29**(1): p. 17-28.
63. Jain RK, D.T.E., Duda DG, Loeffler JS, Sorensen AG, Batchelor TT, *Angiogenesis in brain tumours*. Nature Reviews Neuroscience, 2007. **8**(8): p. 610-622.

64. Lesniak MS, B.H., *Targeted therapy for brain tumours*. Nature Reviews Drug Discovery, 2004. **3**(6): p. 499-508.
65. Heldin CH, R.K., Pietras K, Ostman A, *High interstitial fluid pressure - An obstacle in cancer therapy*. Nature Reviews Cancer, 2004. **4**(10): p. 806-813.
66. Hobbs SK, M.W., Yuan F, Roberts WG, Griffith L, Torchilin VP, Jain RK, *Regulation of transport pathways in tumor vessels: Role of tumor type and microenvironment*. Proceedings Of The National Academy Of Sciences Of The United States Of America, 1998. **95**(8): p. 4607-4612.
67. Jain RK, *Transport Of Molecules In The Tumor Interstitium - A Review*. Cancer Research, 1987. **47**(12): p. 3039-3051.
68. Boucher Y, J.R., *Microvascular Pressure Is the Principal Driving Force for Interstitial Hypertension in Solid Tumors: Implications for Vascular Collapse*. Cancer Research, 1992. **52**(18): p. 5110-5114
69. Boucher Y, S.H., Witwer B, Harsh GR, Jain RK, *Interstitial fluid pressure in intracranial tumours in patients and in rodents*. British Journal Of Cancer, 1997. **75**(6): p. 829-836
70. Fadnes HO, R.R., Aukland K, *Interstitial Fluid Pressure In Rats Measured With A Modified Wick Technique*. Microvascular Research, 1977. **14**(1): p. 27-36.
71. Wiig H, R.R., Aukland K, *Measurement of Interstitial Fluid Pressure - Comparison of Methods*. Annals Of Biomedical Engineering, 1986. **14**(2): p. 139-151.
72. DiResta GR, L.J., Larson SM, Arbit E, *Characterization of Neuroblastoma Xenograft in Rat Flank. I Growth, Interstitial Fluid Pressure, and Interstitial Fluid Velocity Distribution Profiles*. Microvascular Research, 1993. **46**(2): p. 158-177.
73. Boucher Y, L.M., Jain RK, *Tumor angiogenesis and interstitial hypertension*. Cancer Research, 1996. **56**(18): p. 4264-4266
74. Netti PA, B.L., Boucher Y, Skalar R, Jain RK, *Time-Dependent Behavior of Interstitial Fluid Pressure in Solid Tumors - Implications For Drug Delivery* Cancer Research, 1995. **55**(22): p. 5451-5458
75. Gutmann R, L.M., Feyh J, Goetz AE, Messmer K, Kastenbauer E, Jain RK, *Interstitial Hypertension In Head And Neck Tumors In Patients - Correlation With Tumor Size*. Cancer Research, 1992. **52**(7): p. 1993-1995.
76. Boucher Y, K.J., Opacic D, Desantis M, Jain RK, *Interstitial Hypertension in Superficial Metastatic Melanomas in Humans*. Cancer Research, 1991. **51**(24): p. 6691-6694.
77. Nathanson SD, N.L. *Interstitial Fluid Pressure In Breast-Cancer, Benign Breast Conditions, And Breast Parenchyma*. in *46th Annual Cancer Symposium of the Society-of-Surgical-Oncology*. 1994. Los Angeles.
78. Less JR, P.M., Boucher Y, Borochovit D, Wolmark N, Jain RK, *Interstitial Hypertension In Human Tumors. 4. Interstitial Hypertension in Human Breast And Colorectal Tumors*. Cancer Research, 1992. **52**(22): p. 6371-6374.
79. Curti BD, U.W., Alvord WG, Janik JE, Smith JW, Madara K, Longo DL, *Interstitial Pressure Of Subcutaneous Nodules In Melanoma And Lymphoma Patients-Changes During Treatment*. Cancer Research, 1993. **53**(10): p. 2204-2207.
80. Baxter LT, J.R., *Transport Of Fluid And Macromolecules In Tumors .2. Role Of Heterogeneous Perfusion And Lymphatics*. Microvascular Research, 1990. **40**(2): p. 246-263.
81. Baxter LT, J.R., *Transport Of Fluid And Macromolecules In Tumors .3. Role Of Binding And Metabolism*. Microvascular Research, 1991. **41**(1): p. 5-23.
82. Baxter LT, J.R., *Transport Of Fluid And Macromolecules In Tumors .4. A Microscopic Model Of The Perivascular Distribution*. Microvascular Research, 1991. **41**(2): p. 252-272.
83. Starling EH, *On the absorption of fluids from the connective tissue spaces*. The Journal of Physiology, 1896. **19**(4): p. 312-326.
84. Zhao JB, S.H., Sarntinoranont M, *Effect of heterogeneous vasculature on interstitial transport within a solid tumor*. Microvascular Research, 2007. **73**(3): p. 224-236
85. El-Kareh AW, S.T., *Effect of increasing vascular hydraulic conductivity on delivery of macromolecular drugs to tumor cells*. International Journal Of Radiation Oncology Biology Physics 1995. **32**(5): p. 1419-1423.

86. Pozrikidis C, F.D., *A model of fluid flow in solid tumors*. Annals Of Biomedical Engineering, 2003. **31**(2): p. 181-194
87. Baish JW, N.P., Jain RK, *Transmural coupling of fluid flow in microcirculatory network and interstitium in tumors*. Microvascular Research, 1997. **53**(2): p. 128-141
88. Mollica F, J.R., Netti PA, *A model for temporal heterogeneities of tumor blood flow*. Microvascular Research, 2003. **65**(1): p. 56-60
89. Netti PA, R.S., Boucher Y, Baxter LT, Jain RK, *Effect of transvascular fluid exchange on pressure-flow relationship in tumors: A proposed mechanism for tumor blood flow heterogeneity*. Microvascular Research, 1996. **52**(1): p. 27-46.
90. McDougall SR, A.A., Chaplain MAJ, Sherratt JA, *Mathematical modelling of flow through vascular networks: Implications for ibmour-induced angiogenesis and chemotherapy strategies*. Bulletin of Mathematical Biology, 2002. **64**(4): p. 673-702.
91. Swartz MA, F.M., *Interstitial flow and its effects in soft tissues*. Annual Review Of Biomedical Engineering, 2007. **9**: p. 229-256.
92. Smith JH, H.J., *Interstitial transport and transvascular fluid exchange during infusion into brain and tumor tissue*. Microvascular Research, 2007. **73**(1): p. 58-73.
93. Lehmenkuhler A, S.E., Svoboda J, Zilles K, Nicholson C, *Extracellular Space Parameters in the Rat Neocortex and Subcortical White-Matter During Postnatal-Development Determined by Diffusion Analysis*. Neuroscience, 1993. **55**(2): p. 339-351.
94. Vorisek I, S.E., *Evolution of anisotropic diffusion in the developing rat corpus callosum*. Journal of Neurophysiology, 1997. **78**(2): p. 912-919.
95. Sarntinoranont M, C.X., Zhao JB, Mareci TH, *Computational model of interstitial transport in the spinal cord using diffusion tensor imaging*. Annals Of Biomedical Engineering, 2006. **34**(8): p. 1304-1321.
96. Vargova L, H.A., Zamecnik J, Tichy M, Benes V, Sykova E, *Diffusion parameters of the extracellular space in human gliomas*. Glia, 2003. **42**(1): p. 77-88.
97. Kapellos GE, A.T., Payatakes AC, *Theoretical modeling of fluid flow in cellular biological media: An overview*. Mathematical Biosciences, 2010. **225**(2): p. 83-93
98. Morrison PF, D.R., *Transport Of Cisplatin In Rat-Brain Following Microinfusion - An Analysis*. Journal Of Pharmaceutical Sciences, 1986. **75**(2): p. 120-128.
99. Bassar PJ, *Interstitial Pressure, Volume, And Flow During Infusion Into Brain-Tissue*. Microvascular Research, 1992. **44**(2): p. 143-165.
100. Biot MA, *Theory of Elasticity and Consolidation for a Porous Anisotropic Solid*. Journal of Applied Physics, 1955. **26**(2): p. 182-185.
101. Biot MA, *General Solutions of the Equations of Elasticity and Consolidation for a Porous Material*. Journal of Applied Physics, 1956. **78**: p. 91-96.
102. Biot MA, *The Elastic Coefficients of the Theory of Consolidation*. Journal of Applied Physics, 1957. **24**: p. 594-601.
103. Biot MA, *General Theory of Three-Dimensional Consolidation*. Journal of Applied Physics, 1941. **12**(2): p. 155-164.
104. Taylor DG, B.J., Bowen BD, *A mathematical model of interstitial transport. I. Theory*. Microvascular Research, 1990. **39**(3): p. 253-78.
105. Taylor DG, B.J., Bowen BD, *A mathematical model of interstitial transport. II. Microvascular exchange in mesentery*. Microvascular Research, 1990. **39**(3): p. 279-306.
106. Stukel JM, H.J., Caplan MR, *Optimizing delivery of multivalent targeting constructs for detection of secondary tumors*. Annals Of Biomedical Engineering, 2008. **36**(7): p. 1291-1304.
107. Stukel JM, P.J., Caplan MR, Tillery SIH, *Temporal and spatial control of neural effects following intracerebral microinfusion*. Journal of Drug Targeting 2008. **16**(3): p. 198-205.
108. Klyushin DA, L.N., Onopchuk YN, *Mathematical modeling and optimization of intratumor drug transport*. Cybernetics and Systems Analysis, 2007. **43**(6): p. 886 - 892

109. Netti PA, T.F., Jain RK, *Coupled macromolecular transport and gel mechanics: Poroviscoelastic approach*. Aiche Journal, 2003. **49**(6): p. 1580-1596.
110. Chen XM, S.M., *Biphasic finite element model of solute transport for direct infusion into nervous tissue*. Annals Of Biomedical Engineering, 2007. **35**(12): p. 2145-2158.
111. Netti PA, B.L., Boucher Y, Skalar R, Jain RK, *Macro- and microscopic fluid transport in living tissues: Application to solid tumors*. Aiche Journal, 1997. **43**(3): p. 818-834.
112. Rousseau J, B.C., Esteve F, Elleaume H, *Convection-enhanced delivery of an iodine tracer into rat brain for synchrotron stereotactic radiotherapy*. International Journal Of Radiation Oncology Biology Physics, 2007. **68**(3): p. 943-951.
113. Chen XM, A.G., Sepulveda H, Mareci TH, Sarntinoranont M, *Quantitative assessment of macromolecular concentration during direct infusion into an agarose hydrogel phantom using contrast-enhanced MRI*. Magnetic Resonance Imaging, 2008. **26**(10): p. 1433-1441.
114. ANSYS® Academic Research, Release 12.1, ANSYS, Inc.
115. ANSYS® Academic Research, Release 12.1, ANSYS ICEM-CFD, ANSYS, Inc.
116. ANSYS® Academic Research, Release 12.1, ANSYS CFX, ANSYS, Inc.
117. Johnson EM, D.W., *Hydraulic permeability of agarose gels*. Aiche Journal, 1996. **42**(5): p. 1220-1224.
118. Pluen A, N.P., Jain RK, Berk DA, *Diffusion of macromolecules in agarose gels: Comparison of linear and globular configurations*. Biophysical Journal, 1999. **77**(1): p. 542-552.
119. Laurent TC, *Determination Of Structure Of Agarose Gels By Gel Chromatography*. Biochimica Et Biophysica Acta, 1967. **136**(2): p. 199-&.
120. Johnson EM, B.D., Jain RK, Deen WM, *Diffusion And Partitioning Of Proteins In Charged Agarose Gels*. Biophysical Journal, 1995. **68**(4): p. 1561-1568.
121. Bauman MA, G.G., Raghavan R, Brady ML, Pedain C, *Physical characterization of neurocatheter performance in a brain phantom gelatin with nanoscale porosity: steady-state and oscillatory flows*. Nanotechnology, 2004. **15**(1): p. 92-97.
122. Urciuolo F, I.G., Netti PA, *Effect of dynamic loading on solute transport in soft gels implication for drug delivery*. Aiche Journal, 2008. **54**(3): p. 824-834.
123. Nicholson C, T.L., *Hindered Diffusion of High Molecular Weight Compounds in Brain Extracellular Microenvironment Measured with Integrative Optical Imaging*. Biophysical Journal, 1993. **65**(6): p. 2277-2290.
124. Schantz EJ, L.M., *Diffusion Measurements In Agar Gel*. Biochemistry, 1962. **1**(4): p. 658-.
125. Slade AL, C.A., Thomas HC, *Obstruction Effect In Self-Diffusion Coefficients Of Sodium And Cesium In Agar Gels*. Journal Of Physical Chemistry, 1966. **70**(9): p. 2840-.
126. Ackers GK, S.R., *Restricted Diffusion Of Macromolecules Through Agar-Gel Membranes*. Biochimica Et Biophysica Acta, 1962. **59**(1): p. 137.
127. Jain RK, S.R., Chary SR, Rueter M, *Convection And Diffusion Measurements Using Fluorescence Recovery After Photobleaching And Video Image-Analysis - Invitro Calibration And Assessment*. Microvascular Research, 1990. **39**(1): p. 77-93.
128. Dawe B, E.T., *Convection-Enhanced Delivery into Agarose Gel Brain Tissue Phantoms*. The Journal of Young Investigators, 2008. **18**.
129. Scheidegger AE, *The physics of flow through porous media*. 1958.
130. Bear J, *Dynamics of Fluids in Porous Media*, ed. Dover. 1972.
131. ANSYS® Academic Research, Release 11.0, Help System, ANSYS CFX, ANSYS, Inc.
132. Krauze MT, F.J., Park JW, Bankiewicz KS, *Real-time imaging and quantification of brain delivery of liposomes*. Pharmaceutical Research, 2006. **23**(11): p. 2493-2504.
133. Krauze MT, M.T., Yamashita Y, Bringas J, Noble CO, Saito R, Geletneky K, Forsayeth J, Berger MS, Jackson P, Park JW, Bankiewicz KS, *Real-time visualization and characterization of liposomal delivery into the monkey brain by magnetic resonance imaging*. Brain Research Protocols, 2005. **16**(1-3): p. 20-26.
134. ANSYS® Academic Research, Release 11.0, ANSYS CFX, ANSYS, Inc.

135. Elleaume H, C.A., Berkvens P, Berruyer G, Brochard T, Dabin Y, Dominguez MC, Draperi A, Fiedler S, Goujon G, Le Duc G, Mattenet M, Nemoz C, Perez M, Renier M, Schulze C, Spanne P, Suortti P, Thomlinson W, Esteve F, Bertrand B, Le Bas JF, *Instrumentation of the ESRF medical imaging facility*. Nuclear Instruments & Methods In Physics Research Section A-Accelerators Spectrometers Detectors And Associated Equipment, 1999. **428**(2-3): p. 513-527.
136. Adam JF, *Tumeurs cérébrales et rayonnement synchrotron : Développements méthodologiques en imagerie quantitative de la perfusion et en radiothérapie renforcée par effet photoélectrique*. 2003, Université Joseph Fourier.
137. Rousseau J, *Chimio-radiothérapie des tumeurs cérébrales : intérêt de l'injection intra-tumorale de drogues antinéoplasiques*. 2007, Université Joseph Fourier.
138. Macovski A, *Medical Imaging Systems*, ed. T. Kailath. 1983: Prentice-Hall, Inc.
139. NIST. <http://www.nist.gov/index.html>
140. Elleaume H, C.A., Corde S, Esteve F, Le Bas JF, *Performance of computed tomography for contrast agent concentration measurements with monochromatic x-ray beams: comparison of K-edge versus temporal subtraction*. Physics In Medicine And Biology, 2002. **47**(18): p. 3369-3385.
141. Elleaume H, C.A., Le Duc G, Esteve F, Bertrand B, Corde S, Farion R, Lefaix JL, Leplat JJ, Berkvens P, Berruyer G, Brochard T, Dabin Y, Draperi A, Fiedler S, Nemoz C, Perez M, Renier M, Suortti P, Thomlinson W, Le Bas JF, *In vivo K-edge imaging with synchrotron radiation*. Cellular And Molecular Biology, 2000. **46**(6): p. 1065-1075.
142. Aninash C. Kak, M.S., *Principles of Computerized Tomographic Imaging*, ed. Siam. 2001.
143. Jain AK, *Fundamentals of Digital Image Processing*, ed. T. Kailath. 1988.
144. CRC Handbook of Chemistry and Physics, D.R. Life, Editor. 2009-2010.
145. Hammersley AP, *HST: High Speed Tomography Reference Manual V0.4*. 1999, ESRF.
146. Davidi R, H.G., Klukowska J, *A Programming System for the Reconstruction of 2D Images from 1D Projections*. 2009, The CUNY Institute for Software Design and Development.
147. Bushberg JT, S.J., Leidholdt EM, Boone JM, *The Essential Physics of Medical Imaging (2nd Edition)*, ed. Lww. 2002.
148. Stonestrom JP, A.R., Macovski A, *A Framework For Spectral Artifact Corrections In X-Ray Ct*. IEEE Transactions On Biomedical Engineering, 1981. **28**(2): p. 128--141.
149. Bravin A, F.S., Coan P, Labiche JC, Ponchut C, Peterzol A, Thomlinson W, *Comparison between a position sensitive germanium detector and a taper optics CCD "FRELO" camera for diffraction enhanced imaging*. Nuclear Instruments and Methods in Physics Research A, 2003. **510**: p. 35-40.
150. Coan P, P.A., Fiedler S, Ponchut C, Labiche JC, Bravin A, *Evaluation of imaging performance of a taper optics CCD 'FReLoN' camera designed for medical imaging*. Journal Of Synchrotron Radiation, 2006. **13**: p. 260--270.
151. Renier M, F.S., Nernoz C, Gonzalez H, Berruyer G, Bravin A, *A mechanical chopper with continuously adjustable duty cycle for a wide X-ray beam*. Nuclear Instruments & Methods In Physics Research Section A-Accelerators Spectrometers Detectors And Associated Equipment, 2005. **548**(1-2): p. 111-115.
152. Barth Rf, K.B., *Rat brain tumor models in experimental neuro-oncology: the C6, 9L, T9, RG2, F98, BT4C, RT-2 and CNS-1 gliomas*. J Neurooncol., 2009.
153. Ko L, K.A., Wechsler W, *Morphological Characterization of Nitrosourea-Induced Glioma Cell-Lines and Clones*. Acta Neuropathologica, 1980 **51**(1): p. 23-31.
154. Barth RF, *Rat brain tumor models in experimental neuro-oncology: The 9L, C6, T9, F98, RG2 (D74), RT-2 and CNS-1 Gliomas*. Journal of Neuro-Oncology 1998. **36**: p. 91-102.
155. Benabid A. L., R.C., Chauvin C., *Experimental model of rat brain tumors by stereotactic injection of C6 glioma and HTC hepatoma cell lines*. Biology of brain tumors, 1986: p. 221-226.
156. Paxinos G, W.C., *The rat brain in stereotaxic coordinates*. 1997: Academic Press Inc.
157. Duvillard C, B.L., Moretto P, Beltramo JL, Brunet-Lecomte P, Correia M, Sergent C, Chauffert B, *Epinephrine enhances penetration and anti-cancer activity of local cisplatin on rat sub-cutaneous and peritoneal tumors*. International Journal of Cancer, 1999. **81**(5): p. 779-784.

158. Ning SC, Y.N., Brown DM, Kanekal S, Knox SJ, *Radiosensitization by intratumoral administration of cisplatin in a sustained-release drug delivery system*. Radiotherapy And Oncology, 1999. **50**(2): p. 215-223.
159. Malhotra H, P.G., *Cisplatin/epinephrine injectable gel*. Drugs & Aging, 2001. **18**(10): p. 787-793.
160. Hamilton® <http://www.hamiltoncompany.com/Syringes/>.
161. Nicholson C, P.J.M., *Ion diffusion modified by tortuosity and volume fraction in the extracellular microenvironment of the rat cerebellum*. J Physiol., 1981. **321**: p. 225-257.
162. Rice ME, N.C., *Diffusion Characteristics And Extracellular Volume Fraction During Normoxia And Hypoxia In Slices Of Rat Neostriatum*. Journal Of Neurophysiology, 1991. **65**(2): p. 264-272.
163. Croteau D, W.S., Morrison PF, Butman JA, Vortmeyer AO, Johnson D, Oldfield EH, Lonser RR, *Real-time in vivo imaging of the convective distribution of a low-molecular-weight tracer*. Journal Of Neurosurgery, 2005. **102**(1): p. 90-97
164. Piette C, M.C., Foidart JM, Deprez M, *Treating gliomas with glucocorticoids: from bedside to bench*. Acta Neuropathologica, 2006. **112**(6): p. 651-664
165. Molnar P, L.G., Groothuis DR, *The Effects of Dexamethasone on Experimental Brain Tumors 1. Transcapillary Transport and Blood Flow in RG-2 Rat Glioma*. Journal Of Neuro-Oncology, 1995. **25**(1): p. 19-28.
166. Kristjansen PEG, B.Y., Jain RK, *Dexamethasone Reduces The Interstitial Fluid Pressure In A Human Colon Adenocarcinoma Xenograft*. Cancer Research, 1993. **53**(20): p. 4764-4766.
167. Navalitloha Y, S.E., Groothuis EN, Allen CV, Levy RM, Groothuis DR, *Therapeutic implications of tumor interstitial fluid pressure in subcutaneous RG-2 tumors*. Neuro-Oncology, 2006. **8**(3): p. 227-233.
168. Armitage PA, S.C., Bastin ME, Whittle IR, *Quantitative assessment of intracranial tumor response to dexamethasone using diffusion, perfusion and permeability magnetic resonance imaging*. Magnetic Resonance Imaging, 2007. **25**(3): p. 303-310.
169. Ewing JR, B.S., Nagaraja TN, Bagher-Ebadian H, Paudyal R, Panda S, Knight RA, Ding G, Jiang Q, Lu M, Fenstermacher JD, *MRI measurement of change in vascular parameters in the 9L rat cerebral tumor after dexamethasone administration*. Journal Of Magnetic Resonance Imaging, 2008. **27**(6): p. 1430-1438.
170. Gu YT, X.Y., Wang P, Zhang H, Qin LJ, Liu LB, *Dexamethasone enhances calcium-activated potassium channel expression in blood-brain tumor barrier in a rat brain tumor model*. Brain Research, 2009. **1259**: p. 1-6.
171. Warnke PC, M.P., Lapin GD, Kuruvilla A, Groothuis DR, *The Effects of Dexamethasone on Transcapillary Transport in Experimental Brain Tumors 2. Canine Brain Tumors*. Journal Of Neuro-Oncology, 1995. **25**(1): p. 29-38
172. Morris GM, M.P., Coderre JA, *The effect of dexamethasone on the uptake of p-boronophenylalanine in the rat brain and intracranial 9L gliosarcoma*. Applied Radiation and Isotopes, 2004. **61**(5): p. 917-921
173. Gorman AM, H.U., Orrenius S, Ceccatelli S, *Dexamethasone pre-treatment interferes with apoptotic death in glioma cells*. Neuroscience, 2000. **96**(2): p. 417-425
174. Straathof CSM, v.d.B.M., Loos WJ, Vecht CJ, Schellens JHM, *The accumulation of topotecan in 9L glioma and in brain parenchyma with and without dexamethasone administration*. Journal Of Neuro-Oncology, 1999. **42**(2): p. 117-122
175. Hadaczek P, Y.Y., Mirek H, Tamas L, Bohn MC, Noble C, Park JW, Bankiewicz K, *The "perivascular pump" driven by arterial pulsation is a powerful mechanism for the distribution of therapeutic molecules within the brain*. Molecular Therapy, 2006. **14**(1): p. 69-78.
176. Groothuis DR, V.M., Schlageter KE, Kang EWY, Itskovich AC, Hertzler S, Allen CV, Lipton HL, *Efflux of drugs and solutes from brain: the interactive roles of diffusional transcapillary transport, bulk flow and capillary transporters*. Journal of Cerebral Blood Flow and Metabolism, 2007. **27**(1): p. 43-56.
177. Burris HA, V.C., Castro D, Mishra L, Schwarz M, Spencer S, Oakes DD, Korey A, Orenberg EK. *Intratumoral cisplatin/epinephrine-injectable gel as a palliative treatment for accessible solid tumors:*

- A multicenter pilot study.* in *100th Annual Meeting of the American-Academy-of-Otolaryngology-Head-and-Neck-Surgery*. 1998. WASHINGTON, D.C., SEP 29-OCT 02, 1996.
178. Molucon-Chabrot C, I.N., Benoit L, Zanetta S, Fraisse J, Guiland JC, Royer B, Monin-Baroille P, Flesch M, Fargeot P, Coudert B, Mayer F, Fumoleau P, Chauffert B, *Feasibility of using intraperitoneal epinephrine and cisplatin in patients with advanced peritoneal carcinomatosis*. *Anti-Cancer Drugs*, 2006. **17**(10): p. 1211-1217.
 179. Hainfeld JF, *Gold Cluster-Labeled Antibodies*. *Nature*, 1988. **333**(6170): p. 281-282.
 180. Hainfeld JF, D.F., Zhong Z, Slatkin DN, Kalef-Ezra JA, Smilowitz HM, *Gold nanoparticles enhance the radiation therapy of a murine squamous cell carcinoma*. *Physics In Medicine And Biology*, 2010. **55**(11): p. 3045-3059.
 181. Pitre D, F.E., *Development, chemistry, and physical properties of iopamidol and its analogues*. *Investigative radiology*, 1980. **15**(6 Supp.): p. pp. 301-309.
 182. Bobyk L, *Renforcement de la dose par rayonnement synchrotron et atomes lourds dans le cadre du traitement des gliomes*, in *ED Chimie et Sciences du Vivant*. 2010, Université de Grenoble.
 183. Rousseau J, B.C., Barth RF, Balosso J, Esteve F, Elleaume H, *Enhanced survival and cure of F98 glioma-bearing rats following intracerebral delivery of carboplatin in combination with photon irradiation*. *Clinical Cancer Research*, 2007. **13**(17): p. 5195-5201
 184. Biston MC, *Radio-Chimiothérapie par photoactivation synchrotron de drogues platinées anticancéreuses*, in *Génie biologique et médical*. 2004, Université Joseph Fourier - Grenoble 1: Grenoble.
 185. Edouard M, *Dosimétrie pour la radiothérapie stéréotaxique par rayonnement synchrotron : d'une vision macroscopique aux considérations microscopiques des dépôts d'énergie.*, in *ED Ingénierie, Santé, Cognition et Environnement*. 2010, Université de Grenoble.

FEDSM-ICNMM2010-31208

CONVECTIVE-ENHANCED DELIVERY OF A GADOLINIUM-TRACER
IN A HOMOGENEOUS BRAIN SURROGATE:
NUMERICAL SIMULATIONS AND MRI FOLLOW-UP**Sébastien Besse**Grenoble Institut Neurosciences,
INSERM, U836, Eq. 6
Grenoble, Rhône-Alpes, France**Franck Mauconduit**Grenoble Institut Neurosciences
INSERM, U836, Eq. 5
Grenoble, Rhône-Alpes, France**Hana Lahrech**Grenoble Institut Neurosciences
INSERM, U836, Eq. 5
Grenoble, Rhône-Alpes, France**François Estève**Grenoble Institut Neurosciences
INSERM, U836, Eq. 6
Grenoble, Rhône-Alpes, France**Hélène Elleaume**Grenoble Institut Neurosciences,
INSERM, U836, Eq. 6
Grenoble, Rhône-Alpes, France**Abstract**

Under the scope of this study, we used a homogeneous and isotropic 0.6 % (w/v) agarose gel as a brain surrogate for which we measured and modeled the transport of a gadolinium-based contrast agent administered at three different flow rates by Convection-Enhanced Delivery (CED). Real-time Magnetic Resonance Imaging (MRI) of the gel was performed during injection to assess the tracer distribution of concentration. These data were compared with simulations of the tracer transport based on a transient convection-diffusion transport equation in a rigid porous media.

Introduction

Malignant brain tumors are still associated with a poor diagnosis despite advances in neurosurgery, radiotherapy and chemotherapy. Due to the presence of the Blood Brain Barrier (BBB), it is difficult to obtain high drug concentration in brain tumors after conventional systemic drug injection. The CED was initially proposed by Bobo *et al.* [1] to get higher drug concentrations over a significant volume. This method consists of a direct drug delivery into the target tissue with a low and controlled flow rate imposed through a needle. In the present study, we have measured and modeled the transport of a Gd-DOTA contrast agent (CA) injected by CED through a homogeneous and isotropic 0.6 % (w/v) agarose gel, used as a brain surrogate.

Materials and methods

The model is based on steady-state hydrodynamic equations and a transient convection-diffusion transport equation, assuming that the gel has the properties of a rigid porous media. The delivery of 20 μL of a solution of Gd-DOTA in 0.9% NaCl ($C_0 = 1 \text{ mol.m}^{-3} = 1 \text{ mM}$) at different flow rates (0.3, 0.5 and 2.5 $\mu\text{L/min}$) through a catheter (ID = 0.5 mm; OD = 0.8 mm) was modeled. The agent distribution in the post-infusion phase was simulated as pure diffusive transport. The Gd-DOTA diffusion coefficient was estimated with Stokes-Einstein equation based on 1 nm hydrodynamic radius and a dynamic viscosity approximated to 0.95 mPa.s at a temperature of 22°C ($D_{\text{eff}} = 2,28.10^{-10} \text{ m}^2.\text{s}^{-1}$). Diffusion restriction due to the hindrance of the polymer chains was neglected here on the basis of a low-concentrated agarose gel [2]. Hydraulic permeability was estimated to be about 10^{-14} m^2 , based on a typical pore size of 100 nm [3, 4]. The gel effective porosity, describing the interstitial water volume accessible for the flow during a CED injection, was estimated from experimental MR images, as the ratio of the injected volume V_i versus the distributed volume V_d as measured on MR images. We founded a porosity of $\sim 30 \%$. Numerical solving was performed using Ansys CFX[®]. The 3D cylinder-shaped geometry was meshed with $\sim 440\,000$ tetrahedras (Ansys ICFEM-CFD[®], cf. Fig. 1). Hydrodynamic equations in porous media, based on Darcy law and mass

conservation, were solved as steady-state. Transient convection-diffusion transport equation was then solved for the injection duration with the steady-state flow velocity. Mesh size, time step and target residues were adequately defined to obtain invariant numerical results. Post-infusion spreading was modeled as pure diffusive transport by considering the initial concentration values to be the concentration distribution at the end of infusion. The CA distribution volumes at 5 % of the injected concentration, concentration profiles and injected quantities were quantified *versus* time or injected volume for both infusion and post infusion phases.

The experimental study was performed on 0.6% (w/v) agarose gels using the same CED protocols. Gels were prepared by mixing 0.6 g of dry agarose in 100 mL of 0.9% saline buffer and heated until complete dissolution around 100°C. The gels were poured in vials when their temperature reached ~ 50°C (typical protocols [5-8]). Injection flow rates were fixed at 0.3, 0.5 or 2.5 $\mu\text{L}\cdot\text{min}^{-1}$ ($n=3$ or 4 per group). The Gd-DOTA compound distribution in the gels was quantified with magnetic resonance imaging at 4.7 T. The MRI-compatible setup allowed us to monitor the spread of the tracer into the gel during and after injection and to compute associated quantitative concentration maps. These maps result from an optimization of the acquisition protocol that is a refinement of the methodological developments proposed by Chen and collaborators [9]. We optimized in particular the choice of injected concentration, MRI parameters (repetition time, echo time) when using T_1 -weighted spin-echo sequence. The voxel size was then 150 μm x 150 μm x 1.3 mm with a field of view of 11 mm x 11 mm x 20.8 mm, slices being orthogonal to the needle axis. A series of MRI acquisitions of the gel were performed, with a first scan before infusion $S(0)$, followed by successive scans $S(\text{Gd})$ during infusion with a time resolution of five min. Concentration maps were used to assess: the distribution volume at 5 % of the injected concentration V_d (5%), the concentration profiles at the needle tip, the injected quantity in V_d (5%), as a function of time or injected volume.

Simulation Results

For the three flow rates, the Gd-DOTA distribution volume during the infusion was found to vary linearly with the injected volume, cf. Fig. 3 (A), with values at infusion end ranging between 90 and 114 μL . The ratio V_d / V_i was 5.65, 5.36 and 4.43 for flow rates of 0.3, 0.5 and 2.5 $\mu\text{L}\cdot\text{min}^{-1}$ respectively. Calculated quantity of Gd-DOTA in the *whole gel volume* was found to also vary linearly with the injected volume and reached the theoretical administered quantity of 20 nmol for the three flow rates (cf. Fig. 3 (B)). While computing these quantities in a volume of distribution defined at 5 % of the injected concentration V_d (5%), we found smaller values compared

to previous ones, with a more consequent differences for low flow rates. Averaging the Peclet number on the surface corresponding to V_d (5 %) leads to values of 0.4, 0.6 and 3.6 for the three flow rates, respectively, indicating a predominant convective transport in the distribution volume. Simulated concentration profiles at 0.7 mm under the needle tip shown in Fig. 3 (C, D) indicate a relatively flat concentration region near the outlet ($r = 0$), at a concentration of $C_0 \times \text{effective porosity} = 0.30 \text{ mol}\cdot\text{m}^{-3}$. The gradient of concentration at the distribution periphery depends on the flow rate.

We have checked that the simulated CA transport was not modified by changing the gel hydraulic permeability in the model. In addition, when taking into account tracer dispersion as a predominant mechanical dispersion regime in the transport equation for 0.5 and 2.5 $\mu\text{L}\cdot\text{min}^{-1}$ infusion rate, the distribution volume increased by 8 and 26 %, respectively. Concentration profiles near the outlet were found to be more spread.

Experimental Results

Results of the MRI experiments with gels are shown on Fig. 2. A linear variation of V_d (5 %) as a function of V_i was also observed but with a significant decrease of slope, cf. Fig. 3 (A). The ratio V_d / V_i was respectively 3.20, 3.27 and 2.48, for flow rates of 0.3, 0.5 and 2.5 $\mu\text{L}\cdot\text{min}^{-1}$, respectively. V_d data for 0.3 and 0.5 $\mu\text{L}\cdot\text{min}^{-1}$ were not statistically different. Estimated Gd-DOTA amounts during the infusion were significantly lower than the predicted ones for the three flow rates, with a decrease range from – 78 to 115 % at the end of infusion. Concentration profiles for all flow rates were found to be more restricted to the central region with a narrow flat center, compared to simulated data, cf. Fig. 3 (C, D). However, concentration gradients in periphery of both experimental and simulated curves are similar. We noticed that maximal concentrations in the narrow flat region were higher for high flow rates than for low ones, in the range of 0.35-0.45, 0.35-0.45, 0.47-0.62 for 0.3, 0.5 and 2.5 $\mu\text{L}\cdot\text{min}^{-1}$, respectively.

With simulations, we observed reduced Gd-DOTA quantities in V_d 5% compared within the whole gel volume, with a higher drop for low flow rates. Correlated with reduced V_d for high flow rate compare to low ones and the shapes of concentration profiles, these data indicate that molecular diffusion, acting during respectively 67, 40 and 8 min, is responsible for the spread of such quantities out of V_d (5 %). Simulated V_d (5 %) compared to experimental ones were overestimated (by 64 to 81 %). The initial estimate of gel effective porosity based on the V_i / V_d ratio from MRI was incorrect since it results from both convection *and* diffusion transport, leading to an underestimation of porosity. Significant differences between experimental and simulated concentration profiles were reported for the three flow rates. A possible explanation is that the

experimental needle had a straight 20° beveled that could affect hydrodynamic at the single-end port and that is not described in the numerical model. In addition, a possible thin layer of reflux between the catheter and the surrounding gel could reduce interstitial fluid velocity, and could explain reduced quantities.

Of Macromolecular Concentration During Direct Infusion Into An Agarose Hydrogel Phantom Using Contrast-Enhanced MRI" *Mag. Res. Imag.*, **26**(10), pp. 1433-1441.

Conclusions

Inert polymer gels are useful surrogates for reducing the number of variables that affect agent CED distribution, thus helping to clarify relationships between CED protocol parameters with final and post-infusion agent distribution into the media. Additional developments are still needed to understand these complex relationships in particular *in vivo* for delivering drugs to brain tumor tissue, known to be heterogeneous with abnormal physiological behaviors.

REFERENCES

1. Bobo, R. H., Laske, D. W., Akbasak, A., Morrison, P. F., Dedrick, R. L. and Oldfield, E. H., 1994 "Convection-Enhanced Delivery Of Macromolecules In The Brain" *Proc. PNAS*, **91**(6), pp. 2076-2080.
2. Nicholson, C. and Tao, L., 1993 "Hindered Diffusion Of High-Molecular-Weight Compounds In Brain Extracellular Microenvironment Measured With Integrative Optical Imaging". *Biophysical Journal*, **65**(6): pp. 2277-2290.
3. Johnson, E.M. and Deen, W.M., 1996, "Hydraulic Permeability Of Agarose Gels" *Aiche Journal*, **42**(5), pp. 1220-1224.
4. Griess, G.A., K.B. Guiseley, and Serwer, P., 1993 "The Relationship Of Agarose-Gel Structure To The Sieving Of Spheres During Agarose-Gel Electrophoresis" *Biophysical Journal*, **65**(1), pp. 138-148.
5. Chen, Z. J., Broaddus, W. C., Viswanathan, R. R., Raghavan, R., Gillies, G. T., 2002 "Intraparenchymal Drug Delivery Via Positive-Pressure Infusion: Experimental And Modeling Studies Of Poroelasticity In Brain Phantom Gels" *IEEE Trans. Biomed. Eng.*, **49**(2), pp. 85--96.
6. Krauze, M. T., Saito, R., Noble, C., Tamas, M., Bringas, J., Park, J. W., Berger, M. S., Bankiewicz, K., 2005 "Reflux-Free Cannula For Convection-Enhanced High-Speed Delivery Of Therapeutic Agents - Technical Note" *J. Neurosurg.*, **103**(5): pp. 923-929.
7. Linninger, A. A., Somayaji, M. R., Mekarski, M., Zhang, L. B., 2008 "Prediction Of Convection-Enhanced Drug Delivery To The Human Brain", *J. Theo. Biol.*, **250**(1) pp. 125-138.
8. Gillies, G. T., Wilhelm, T. D., Humphrey, J. A. C., Fillmore, H. L., Holloway, K. L., Broaddus, W. C., 2002 "A spinal cord surrogate with nanoscale porosity for in vitro simulations of restorative neurosurgical techniques" *Nanotech.* **13**(5), pp. 587-591.
9. Chen, X. M., Astarý, G. W., Sepulveda, H., Mareci, T. H., Santinoranont, M., 2008, "Quantitative Assessment

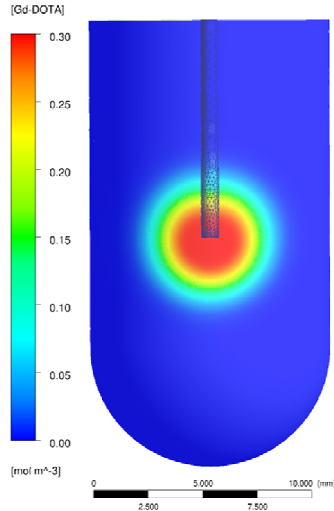


Figure 1: Frontal view of the cylindrical geometry. The simulated [Gd-DOTA] distribution is shown in a plane cutting the needle in its center at the end of a 20 μL infusion at $0.5 \mu\text{L}.\text{min}^{-1}$.

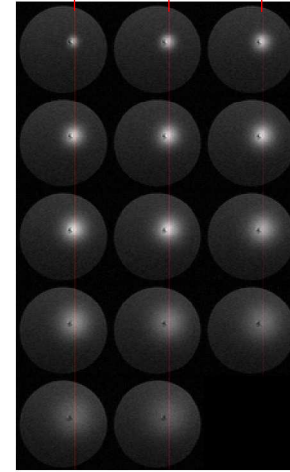


Figure 2: Transverse slice of a gel at the needle tip followed by MRI as a function of time, every 5 min (reading from left to right, line by line). The red lines indicate the plotting line for profiles shown in Figure 3 (C, D). The 20 μL injection is performed here at $0.5 \mu\text{L}.\text{min}^{-1}$. The last six scans correspond to a 30 min post-infusion observation.

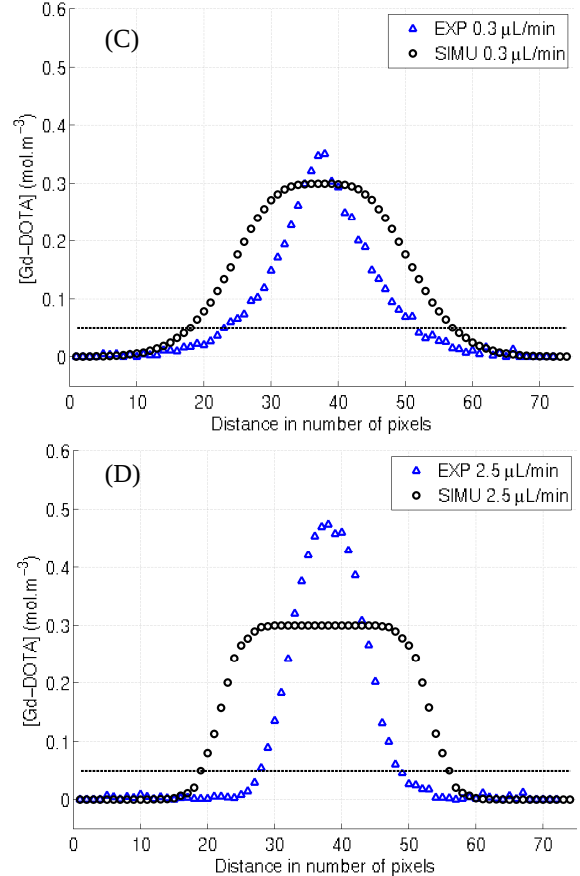
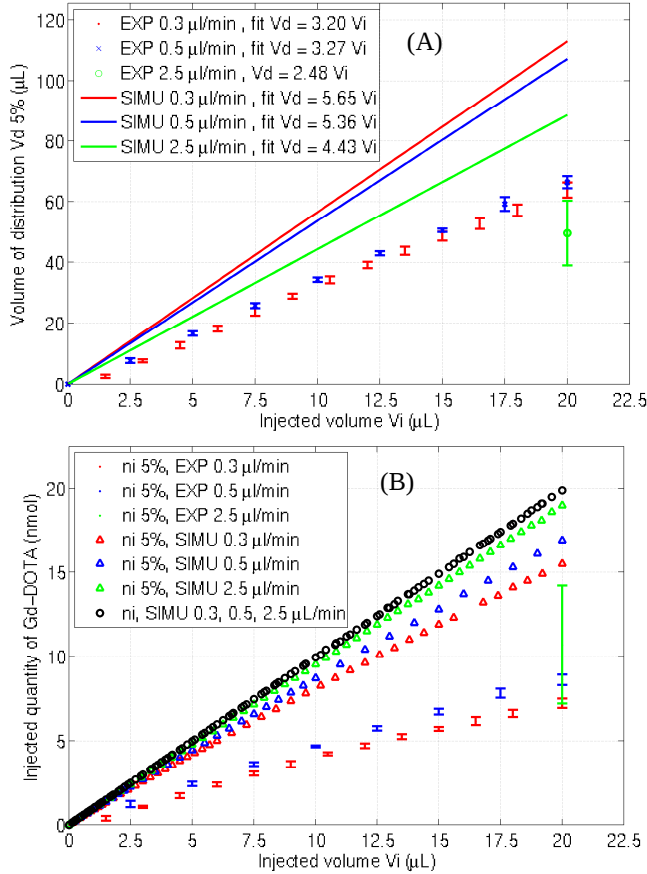


Figure 3: (A) Evolution of Gd-DOTA distribution volume at 5 % as a function of injected volume, for both simulated and experimental data, according to the three flow rates. (B) Evolution of injected amount of Gd-DOTA computed in V_d (5%) (noted ni 5%) as a function of injected volume, for the three different flow rates ; simulated or on experimental gels. The black curve indicates the overall simulated amount in the gel ni : $dn_i / dV_i = C_0 = 1 \text{ mol}.\text{m}^{-3}$ with C_0 the infusate concentration. (C, D): concentration profiles measured at the end of infusion under the needle tip for injections performed at 0.3 and $2.5 \mu\text{L}.\text{min}^{-1}$, respectively (Δ : experimental data ; O : simulated data). The dotted black line indicates the 5 % of injected concentration threshold used for the distribution volume calculation. 10 pixels represent 1.5 mm.

Résumé

La thérapie des tumeurs cérébrales invasives demeure aujourd'hui un véritable challenge en dépit des progrès réalisés en neurochirurgie, radiothérapie et chimiothérapie ces vingt dernières années. Les tumeurs solides sont des systèmes dynamiques présentant une forte hétérogénéité de structure et de vascularisation et qui varie d'une tumeur à une autre. La stratégie de délivrance des drogues dans ces tissus néoplasiques (cérébraux ou non) s'est révélée être un point critique dans le succès d'une chimiothérapie, notamment en raison de l'existence de mécanismes physiologiques intratumoraux s'opposant à une délivrance efficace dans l'ensemble du tissu tumoral. L'administration locale convective (Convection-Enhanced Delivery, CED) s'est avérée être une technique prometteuse pour distribuer par voie intracérébrale des volumes cliniquement significatifs d'agents thérapeutiques à des concentrations interstitielles élevées tout en réduisant les risques de toxicité systémique. Ce travail a porté sur l'étude de la distribution CED de traceurs *in vitro* pendant injection et *in vivo* en post-injection par deux modalités d'imagerie (imagerie par RMN et tomographie quantitative par rayonnement synchrotron). Les données *in vitro* ont été corrélées à un modèle numérique d'écoulement et de transport du traceur. Finalement, ces résultats sont discutés à la lumière des éléments prédictifs de la littérature. A ce jour, la compréhension et l'optimisation de la distribution CED de drogues *in vivo* pendant et après infusion restent une étape critique dans le traitement des tumeurs cérébrales et nécessitent davantage d'efforts.

Mots clés : CED, imagerie, IRM, TQRS, modélisation, gel agarose, animal, tumeur cérébrale

Abstract

Invasive cerebral brain tumors still remain a challenging topic today, despite improvements with surgical debulking, radiotherapy and chemotherapy of the last twenty years. Solid tumors are dynamic systems that involve strong structural and vascular heterogeneities, and that can vary from one tumor to another. Drug delivery strategies in these neoplastic tissues (cerebral or not) are reported as critical issues for chemotherapy success, in particular because of the existence of intratumoral physiological skills that oppose to efficient delivery of the drugs through the overall tumor tissue. Local convective delivery known as Convection-Enhanced Delivery (CED) has been reported as a promising technique to administrate through the intracerebral route clinically relevant volumes of therapeutic agents with high interstitial concentration levels while reducing the risks of systemic toxicity. We have quantified here the CED distribution of tracers *in vitro* during infusion and *in vivo* as post-infusion with two imaging modalities (NMR imaging and synchrotron radiation computed tomography). The *in vitro* data have been compared with a numerical model of flow and transport of the tracer. Eventually, these results are discussed by the light of theoretical models of the literature. To this day, the understanding and optimization of CED distributions of drugs *in vivo* during and after infusion remain a critical step for the treatment of cerebral brain tumors and require more efforts.

Key words : CED, imaging, MRI, SRCT, modeling, agarose gel, animal, brain tumor