Imagerie fonctionnelle et quantitative des lésions pulmonaires induites par la ventilation mécanique sur poumons sains et agressés

Laurent Bitker

▶ **To cite this version:**

Laurent Bitker. Imagerie fonctionnelle et quantitative des lésions pulmonaires induites par la ventilation mécanique sur poumons sains et agressés. Médecine humaine et pathologie. Université de Lyon, 2021. Français. ⟨NNT : 2021LYSE1274⟩. ⟨tel-03703087⟩

HAL Id: tel-03703087

https://theses.hal.science/tel-03703087v1

Submitted on 23 Jun 2022

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.

HAL Authorization

N°d'ordre NNT :
2021LYSE1274

THESE de DOCTORAT DE L'UNIVERSITE DE LYON

opérée au sein de
l'Université Claude Bernard Lyon 1

Ecole Doctorale N° 205
Ecole Doctorale Interdisciplinaire Sciences Santé - EDISS

Spécialité de doctorat : Physiologie
Discipline : Physiologie respiratoire

Soutenue publiquement le 03/12/2021, par :
Laurent BITKER

Imagerie fonctionnelle et quantitative des lésions pulmonaires induites par la ventilation mécanique sur poumons sains et agressés

---

Devant le jury composé de :

Nicolas de Prost, PU-PH	Sorbonne Université	Rapporteur
Céline Pouzot-Nevoret, MCU-PH	VetAgro Sup	Rapporteure
Nicolas Costes, IR	CERMEP	Examinateur
Audrey De Jong, MCU-PH	Université de Montpellier	Examinatrice
Marc Janier, PU-PH	Université Lyon 1	Examinateur
J-Christophe Richard, PU-PH	Université Lyon 1	Directeur de thèse

Université Claude Bernard – LYON 1

Président de l'Université	M. Frédéric FLEURY
Président du Conseil Académique	M. Hamda BEN HADID
Vice-Président du Conseil d'Administration	M. Didier REVEL
Vice-Président du Conseil des Etudes et de la Vie Universitaire	M. Philippe CHEVALLIER
Vice-Président de la Commission de Recherche	M. Petru MIRONESCU
Directeur Général des Services	M. Pierre ROLLAND

COMPOSANTES SANTE

Département de Formation et Centre de Recherche en Biologie Humaine	Directrice : Mme Anne-Marie SCHOTT
Faculté d'Odontologie	Doyenne : Mme Dominique SEUX
Faculté de Médecine et Maïeutique Lyon Sud - Charles Mérieux	Doyenne : Mme Carole BURILLON
Faculté de Médecine Lyon-Est	Doyen : M. Gilles RODE
Institut des Sciences et Techniques de la Réadaptation (ISTR)	Directeur : M. Xavier PERROT
Institut des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques (ISBP)	Directrice : Mme Christine VINCIGUERRA

COMPOSANTES & DEPARTEMENTS DE SCIENCES & TECHNOLOGIE

Département Génie Electrique et des Procédés (GEP)	Directrice : Mme Rosaria FERRIGNO
Département Informatique	Directeur : M. Behzad SHARIAT
Département Mécanique	Directeur M. Marc BUFFAT
Ecole Supérieure de Chimie, Physique, Electronique (CPE Lyon)	Directeur : Gérard PIGNAULT
Institut de Science Financière et d'Assurances (ISFA)	Directeur : M. Nicolas LEBOISNE
Institut National du Professorat et de l'Education	Administrateur Provisoire : M. Pierre CHAREYRON
Institut Universitaire de Technologie de Lyon 1	Directeur : M. Christophe VITON
Observatoire de Lyon	Directrice : Mme Isabelle DANIEL
Polytechnique Lyon	Directeur : Emmanuel PERRIN
UFR Biosciences	Administratrice provisoire : Mme Kathrin GIESELER
UFR des Sciences et Techniques des Activités Physiques et Sportives (STAPS)	Directeur : M. Yannick VANPOULLE
UFR Faculté des Sciences	Directeur : M. Bruno ANDRIOLETTI

Remerciements

Imagerie fonctionnelle et quantitative des lésions pulmonaires induites par la ventilation mécanique sur poumons sains et agressés

Les lésions induites par la ventilation mécanique (ventilator-induced lung injuries, VILI) correspondent à l'agression physico-mécanique et inflammatoire qui touche les poumons soumis à une ventilation mécanique, et seraient induites par des réglages inadéquats du respirateur. L'imagerie pulmonaire couplée tomographie par émission de positons (TEP)-scanner permet l'évaluation *in vivo* de ces processus physique et biologique, dès lors qu'un radiotraceur spécifique de la réponse inflammatoire est utilisé. L'hypothèse de notre travail est que l'imagerie couplée TEP-scanner avec le [^{11}C](R)-PK11195 comme radioligand spécifique des macrophages permet la quantification et la mise en relation des mécanismes d'agression physique et inflammatoire en rapport avec la ventilation mécanique appliquée à des poumons sains ou agressés, chez l'animal, et la translation de ces concepts à l'homme. Les principaux résultats de nos travaux ont montré que : 1- une ventilation à haut volume courant appliquée à des poumons sains chez l'animal est responsable d'une augmentation significative de l'inflammation pulmonaire quantifiée à l'aide de la *standardized uptake value* du radiotraceur [^{11}C](R)-PK11195. Cette augmentation existait en relation avec une augmentation significative de l'étirement dynamique pulmonaire et de l'hyperinflation intracycle mesurées au scanner; 2- la quantification en TEP de la captation pulmonaire du [^{11}C](R)-PK11195 au sein de poumons sains ou agressés par un syndrome de détresse respiratoire aiguë (SDRA) expérimental était significativement améliorée par l'utilisation d'un modèle pharmacocinétique à trois compartiments tissulaires, comparativement à un modèle à deux compartiments. De plus, la captation du radioligand semblait indépendante de la densité pulmonaire de la région dans laquelle elle était mesurée ; 3- le décubitus ventral induisait une diminution de la réponse inflammatoire pulmonaire, comparativement au décubitus dorsal au cours du SDRA expérimental ventilé de façon protectrice, en uniformisant l'aération pulmonaire, en réduisant ainsi le phénomène d'étirement (*strain*) dynamique quantifiées au scanner; 4- chez l'homme, le SDRA associé au COVID-19 présentait deux phénotypes distincts au scanner quantitatif, l'un comparable au SDRA non lié au COVID-19 (soit une perte d'aération associé à une chute de la compliance du système respiratoire), l'autre montrant un compartiment normalement aéré relativement augmenté en lien avec une compliance pulmonaire modérément altérée. En somme, nos travaux démontrent la performance au stade préclinique de l'imagerie couplée TEP-scanner avec le [^{11}C](R)-PK11195, quantification rendue plus performante par l'utilisation d'une modélisation pharmacocinétique multicompartimentale. De plus, l'utilisation de ce traceur a permis de détecter les modulations de la réponse inflammatoire en rapport avec l'administration de réglages ventilatoires délétères ou l'application de stratégie non ventilatoire comme le décubitus ventral. Nous montrons que cette réponse inflammatoire est associée à certains paramètres d'agression mécanique quantifiés au scanner comme l'hyperinflation intracycle ou le *strain* dynamique. L'étude clinique démontre la faisabilité et la pertinence de l'utilisation du scanner quantitatif en pratique clinique afin de détecter et quantifier l'impact de la ventilation mécanique sur le parenchyme. Il sera intéressant à l'avenir d'utiliser le scanner quantitatif pulmonaire afin de guider l'ajustement des réglages du ventilateur chez les patients en SDRA, ceci afin de limiter ou prévenir l'agression mécanique et inflammatoire inhérente à l'utilisation de la ventilation mécanique.

Mots clefs : lésions pulmonaires induites par la ventilation mécanique, syndrome de détresse respiratoire aiguë, scanner thoracique, tomographie par émission de positons, inflammation, modélisation pharmacocinétique multicompartimentale, physiologie respiratoire, COVID-19

Functional and quantitative imaging of ventilator-induced lung injuries in healthy and injured lungs

Ventilator-induced lung injuries encompasses the physical and inflammatory damage that the lungs experience when mechanical ventilation is administered, especially in the case of inadequate settings. Lung imaging with coupled positron emission tomography/computerized tomodensitometry (PET/CT) allows the *in vivo* assessment of these physical and biological processes, if an inflammation-specific PET radiotracer is selected. Our hypothesis was that coupled PET/CT using [^{11}C](R)-PK11195 to specifically quantify macrophage recruitment would allow the quantification of the inflammatory response in relation with the ventilatory interventions applied to animals with or without experimental acute respiratory distress syndrome (ARDS). The assessment of the association of the inflammatory response with CT-measured parameters would the allow the translation of these concepts to the clinical setting. Our results show that: 1- the lung inflammatory response, as assessed by the lung standardized uptake value of [^{11}C](R)-PK11195, as significantly increased in an experimental of high tidal volume VILI in animals with healthy lungs. Increased inflammation was associated with the intensity of dynamic strain and tidal hyperinflation measured in CT; 2- the PET quantification [^{11}C](R)-PK11195 lung uptake was significantly improved by the use of a three-tissue compartment kinetic model, as compared to the conventional two-tissue compartment model. Of note, using this methodology, [^{11}C](R)-PK11195 uptake quantification was made independent of the underlying lung density in the studied region; 3- [^{11}C](R)-PK11195 lung uptake was significantly decreased in all lung regions of animals with experimental ARDS ventilated with protective ventilator settings in the prone position, as compared to animals in the supine position, in association with improved homogenization of regional lung aeration. Lung inflammation was independently associated with increased dynamic strain quantified in CT; 4- quantitative lung CT allowed the identification 2 specific CT phenotypes in individuals with COVID-19-associated ARDS, one comparable to non-COVID-19 ARDS (with decreased lung aeration and low respiratory system compliance) and the second showing a high proportion of normally aerated lung in line with low respiratory elastance. Our work shows the promising performance of [^{11}C](R)-PK11195 to evaluate *in vivo* the inflammatory response to inadequate ventilatory settings. Its quantification in the lung was made more precise with the use of multi-tissue compartment kinetic models. Our results show that the inflammatory response is modulated by regional variations in the intensity of several mechanical injurious mechanisms, such as dynamic strain or tidal hyperinflation. Finally the clinical study demonstrates the potential of quantitative CT to guide ventilator settings adjustments, aiming to prevent or limit mechanical and biological injuries induced by mechanical ventilation.

Keywords: ventilator-induced lung injuries, acute respiratory distress syndrome, lung computerized tomodensitometry, positron emission tomography, inflammation, pharmacokinetic model, respiratory physiology, COVID-19

Cette thèse a été conduite au sein de l'équipe de recherche *Motivate* devenue en 2020 l'équipe *Myriad* du laboratoire CREATIS.

Les travaux de recherche expérimentale et clinique ont été dirigé par le Pr Jean-Christophe Richard.

Les expérimentations animales ont été réalisées dans les locaux du CERMEP – Imagerie du Vivant, plateforme moderne d'imagerie multimodale, à visée clinique et expérimentale, avec l'aide des départements TEP-TDM, Radiochimie et Animage de la structure.

Adresse du laboratoire

CREATIS – Centre de Recherche en Acquisition et Traitement de l'Image en Santé

Unité CNRS UMR 5220 – INSERM U1294 – Université Lyon 1 – INSA Lyon – Université Jean Monnet Saint-Etienne

21, avenue Jean Capelle

69100 Villeurbanne

Les travaux présentés dans ce manuscrit ont bénéficié des financements de la Fondation pour la Recherche Médicale (Bourse Master 2 DEA20140630499), de la Fondation de l'Avenir pour la Recherche Médicale (RMA 2016), de la Société de réanimation de Langue Française (Bourse de Recherche Expérimentale 2006), et des Hospices Civils de Lyon (Bourse Jeunes Chercheurs 2019)

AVANT-PROPOS

Le syndrome de détresse respiratoire aiguë (SDRA) est décrit par l'association d'une insuffisance respiratoire hypoxémique d'apparition rapide, associée à des anomalies parenchymateuses pulmonaires bilatérales non expliquées par l'existence d'un œdème pulmonaire cardiogénique (The ARDS Definition Task Force 2012). De nombreuses pathologies peuvent entrainer un SDRA, au premier plan desquelles sont les causes infectieuses. La mortalité du SDRA atteint près de 50% dans sa présentation la plus sévère (Bellani et al. 2016). La prise en charge du SDRA repose sur l'utilisation de la ventilation mécanique avec utilisation d'une pression positive de fin d'expiration (PEP). La ventilation mécanique permet une correction de l'hypoxémie et une amélioration de l'hématose.

Les lésions induites par la ventilation mécanique (*ventilator-induced lung injuries*, VILI) correspondent à l'agression physico-mécanique et biologique qui touche les poumons, et seraient induites par des réglages inadéquats du respirateur (de Prost et al. 2011). Le *biotrauma* est un concept physiopathologique correspondant à la réponse inflammatoire locale et systémique associée au VILI, responsable d'une aggravation des lésions pulmonaires observées au cours du SDRA, et de dysfonctions d'organes extra-pulmonaires (Curley et al. 2016). La littérature scientifique a depuis longtemps démontré l'intérêt de l'usage d'une ventilation dite protectrice afin de prévenir l'apparition ou l'aggravation du VILI ; son application en pratique clinique est responsable d'une amélioration de la survie des patients atteints de SDRA (The Acute Respiratory Distress Syndrome Network 2000). L'une des hypothèses les plus attrayantes est que des réglages inadaptés du respirateur induisent ou aggravent le *biotrauma* (Ranieri et al. 1999). De même, l'effet bénéfique sur la survie du décubitus ventral pour les patients atteints de SDRA pourrait s'opérer par une diminution de la réponse inflammatoire associée au VILI (Papazian et al. 2005).

Néanmoins, les mécanismes physiopathologiques faisant le lien entre réglages ventilatoires et *biotrauma* restent imparfaitement connus, et leur étude limitée par la faible spécificité des outils diagnostiques disponibles (scanner pulmonaire qualitatif, lavage broncho-alvéolaire [LBA], dosages sanguins de marqueurs inflammatoires). Le scanner pulmonaire quantitatif offre l'opportunité de mesurer *in vivo* et de façon régionale des paramètres d'intérêt nous informant sur l'impact mécanique de la ventilation sur le parenchyme pulmonaire (Terragni et al. 2007). Des innovations informatiques récentes rendent dorénavant possible son analyse en temps réel. Cependant, le scanner pulmonaire n'informe pas des processus biologiques sous-jacents. La tomographie par émission de positrons (TEP) permet théoriquement quant à elle l'imagerie fonctionnelle de l'inflammation dès lors qu'un radiotraceur adéquat a été sélectionné. Couplée au scanner, la TEP pourrait permettre ainsi d'établir une relation de cause à effet entre l'inflammation et les paramètres d'agression mécanique quantifiés au scanner.

L'hypothèse principale de ce travail est que l'imagerie de l'inflammation pulmonaire en TEP-scanner permet l'évaluation quantitative et non-invasive des différents mécanismes physiopathologiques du VILI au cours de la ventilation mécanique sur poumons sains ou agressés par un SDRA expérimental. La translation de ces concepts à l'homme, par le biais du scanner pulmonaire quantitatif pourrait permettre une meilleure compréhension de l'interaction du parenchyme pulmonaire sain ou pathologique avec la ventilation mécanique et ses réglages.

Pour répondre à ces questions, nous avons conduit un premier travail préliminaire et expérimental, évaluant la réponse inflammatoire pulmonaire quantifiée par la captation parenchymateuse du traceur TEP [^{11}C](R)-PK11195 au cours d'un modèle de ventilation mécanique à haut volume courant. Puis, nous avons développé un modèle pharmacocinétique multicompartimental de la captation de ce même traceur, afin de quantifier celle-ci avec une meilleure spécificité. A l'aide cette nouvelle méthodologie, nous avons exploré les déterminants de la réponse inflammatoire pulmonaire au cours du décubitus ventral chez un modèle porcin de SDRA. Pour finir, nous avons utilisé le scanner pulmonaire quantitatif en temps réel dans une cohorte de patients atteints de

SDRA d'étiologies variées, afin de caractériser de façon fine l'impact de la ventilation mécanique sur le parenchyme pulmonaire.

TABLE DES MATIERES

AVANT-PROPOS 8
TABLE DES MATIERES 11
TABLE DES FIGURES 13
ABREVIATIONS 14
PARTIE 1. ÉTAT DE L'ART 15
1. Le syndrome de détresse respiratoire aiguë 15
a. Définition 15
b. Épidémiologie 16
c. Physiopathologie 16
d. Brève description des éléments de prise en charge du SDRA 17
e. Similitudes et spécificités du SDRA associé au COVID-19 18
2. Ventilator-induced lung injuries 20
a. Définition 20
b. Caractéristiques histologiques du VILI 20
c. Forces mécaniques et physiopathologie du VILI 21
d. Biotrauma 25
e. Focus thérapeutique du concept de VILI 26
3. Le macrophage pulmonaire 31
a. Définition et caractéristiques 31
b. Macrophages résidents et recrutés 31
c. Rôle du macrophage dans la réponse immunitaire 32
d. Rôle physiopathologique du macrophage dans le VILI 33
4. Imagerie fonctionnelle et inflammation pulmonaire aiguë 34
a. SDRA et VILI expérimentaux : études TEP à l'aide du [^{18}F]-FDG 35
b. Inflammation pulmonaire aiguë et TEP : radioligands ciblant la TSPO 37
c. Études TEP du SDRA chez l'homme 38
d. Limites du [^{18}F]-FDG pour l'évaluation de l'inflammation pulmonaire aiguë 41
5. Le [^{11}C](R)-PK11195, radiotraceur TEP de la protéine TSPO 41
a. Localisation de la TSPO et rôle 41
b. [^{11}C](R)-PK11195 : généralités 42
c. Le [^{11}C](R)-PK11195 et inflammation 43
d. Méthodes de quantification et modélisation du [^{11}C](R)-PK11195 44
e. L'hypothèse de la fixation non spécifique du [^{11}C](R)-PK11195 45
PARTIE 2. METHODOLOGIES DE L'IMAGERIE TEP-SCANNER 46
1. Tomographie par émission de positrons 46
a. Principes 46
b. Radiotraceurs 47
c. Quantification de la captation du traceur par la SUV 48
d. Modélisation pharmacocinétique compartimentale en imagerie TEP 50
e. Avantages et limites de la TEP 58
2. Scanner thoracique quantitatif 62
a. Principes 62
b. Principes du scanner quantitatif 63
c. Analyse compartimentale de l'aération pulmonaire 64
d. Analyse mécanistique 65
e. Segmentation 67
f. Limites du scanner pulmonaire quantitatif 68
RESUME DES ELEMENTS CLEFS DES PARTIES 1 ET 2 70

PROBLEMATIQUE 72
OBJECTIFS DE LA THESE 73
PARTIE 3. RESULTATS ORIGINAUX 74
1. Travail n°1 75
a. *Rationnel* *75*
b. *Hypothèse et objectif* *76*
c. *Matériels et méthodes* *76*
d. *Résultats* *77*
e. *Conclusions du travail n°1* *78*
2. Travail n°2 92
a. *Rationnel* *92*
b. *Hypothèse et objectif* *93*
c. *Matériels et méthodes* *93*
d. *Résultats* *95*
e. *Conclusions du travail n°2* *96*
3. Travail n°3 120
a. *Rationnel* *120*
b. *Hypothèse et objectif* *120*
c. *Matériels et méthodes* *121*
d. *Résultats* *123*
e. *Conclusions du travail n°3* *123*
4. Travail n°4 148
a. *Rationnel* *148*
b. *Hypothèse et objectif* *149*
c. *Matériels et méthodes* *149*
d. *Résultats* *150*
e. *Conclusions du travail n°4* *151*
PARTIE 4. CONCLUSIONS ET PERSPECTIVES 160
1. Imagerie de l'inflammation pulmonaire aiguë au [^{11}C](R)-PK11195 160
2. Apport de l'imagerie couplée TEP-scanner au [^{11}C](R)-PK11195 du VILI 160
3. Apport du scanner quantitatif dans la prise en charge du SDRA 161
4. Perspectives de recherche 161
a. *Axe expérimental* *161*
b. *Axe clinique* *162*
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES 163
ONLINE SUPPLEMENTS DES TRAVAUX 174
1. Online supplement du travail n°2 174
2. Online supplement du travail n°3 205
3. Online supplement du travail n°4 219

TABLE DES FIGURES

Figure 1. Exemple illustratif du mode de calcul de la fraction de gaz et de la fraction non- gaz (« tissu ») d'un voxel page 34

Figure 2. Exemple de scanner thoracique dont les voxels ont été classifiés selon l'échelle à 4 niveaux selon Gattinoni et al. page 36

Figure 3. Exemple d'un modèle pharmacocinétique multicompartimental page 44

BP_F	potentiel de liaison de la fraction libre du composé
BP_{ND}	potentiel de liaison de la fraction non-déplaçable du composé
BP_P	potentiel de liaison de la fraction plasmatique du composé
$C_X(t)$	Concentration du compartiment *x* au cours du temps
COVID-19	maladie virale due au virus SARS-CoV-2
CRF	capacité résiduelle fonctionnelle
$ECCO_2R$	extracorporeal CO2 removal
ECMO	extracorporeal membrane oxygenation
EL_{RS}	élastance du système respiratoire
$[^{18}F]$-FDG	$[^{18}F]$-fluoro-deoxyglucose
$f_X(t)$	fraction du composé *x* au cours du temps
F_{gaz}	fraction de gaz
$F_{gaz,aéré,Px}$	fraction de gaz du compartiment normalement aéré au niveau de pression des voies aériennes P_x
F_iO_2	fraction inspirée en oxygène
I:E	rapport des temps ventilatoires inspiratoire sur expiratoire
IL	interleukine
IRM	imagerie par résonance magnétique
P_aO_2	pression partielle artérielle en oxygène
P_{AW}	pression des voies aériennes
PEP	pression positive de fin d'expiration
$[^{11}C]$(R)PK11195	[N-methyl-11C]-1-(2-chlorophenyl)-N-(1-methylpropyl)-3-isoquinoline-carboxamide
$P_{œso}$	pression œsophagienne
P_{TP}	pression transpulmonaire
R_{AW}	résistance des voies aériennes
RR	fréquence respiratoire
SDRA	syndrome de détresse respiratoire aiguë
SUV	standardized uptake value
TEP	tomographie par émission de positons
TNF	tumor-necrosis factor
UH	unité Hounsfield
V_{ROI}	volume de la région d'intérêt
V_T	volume courant
$V_{tissu,NA,Px}$	volume de la fraction non-gaz du compartiment non aéré à un niveau de pression des voies aériennes P_x donné
µ	atténuation scannographique des rayons X

1. LE SYNDROME DE DETRESSE RESPIRATOIRE AIGUË

a. Définition

Le syndrome de détresse respiratoire aiguë (SDRA) est défini par l'apparition en moins de 7 jours d'une insuffisance respiratoire aiguë hypoxémiante associée à un infiltrat pulmonaire bilatéral non totalement expliqué par un œdème d'origine cardiogénique (The ARDS Definition Task Force 2012). Sur le plan histologique, le SDRA est associé à la présence d'un dommage alvéolaire diffus, tableau anatomopathologique associant la présence d'une œdème alvéolaire inflammatoire par rupture mécanique de la barrière alvéolo-capillaire, infiltrat inflammatoire interstitiel et intra-alvéolaire composé de polynucléaires neutrophiles et macrophages, présence de micro-thrombi et de membranes hyalines intra-alvéolaires (Ware et al. 2000). Sur le plan clinique, il est caractéristique d'observer une baisse de la compliance pulmonaire secondaire à la formation de l'œdème lésionnel.

La sévérité du SDRA est gradée en fonction du degré d'hypoxémie, que l'on caractérise par le rapport de la pression partielle artérielle en oxygène (P_aO_2) à la fraction inspirée en oxygène (F_iO_2) administrée par le respirateur (allant de 0.21 à 1). Il est défini comme étant léger si ce rapport se situe entre 200 et 300 mm Hg, modéré en cas de rapport P_aO_2/F_iO_2 entre 100 et 199 mm Hg, et sévère si strictement inférieur à 100 mm Hg. Cette classification ne vaut qu'en cas de support ventilatoire administrant une pression positive continue ou de fin d'expiration supérieure ou égale à 5 cm H_2O. La dégradation de l'hématose signant la sévérité du SDRA se fait de façon linéaire à la diminution de la compliance du système respiratoire, par la diminution du volume aéré pulmonaire et l'extension de l'œdème lésionnel.

L'identification d'un SDRA requiert par ailleurs l'identification d'une cause initiale dénommée facteur de risque. Celles-ci sont nombreuses, et comprennent les infections pulmonaires (virales ou bactériennes), les traumatismes thoraciques, ou encore les agressions extra-pulmonaires comme le sepsis, la pancréatite aiguë ou la transfusion sanguine.

b. Épidémiologie

L'incidence du SDRA dans la population générale est estimée à 5 à 30 cas pour 100 000 habitants par an. La plus grande étude épidémiologique menée en réanimation avant la pandémie de CoViD-19 identifiait une prévalence du SDRA de 10% dans une population de plus de 29 000 patients hospitalisés en réanimation (Bellani et al. 2016). Dans cette étude, la majorité des SDRA était identifiée dès le premier jour d'admission en réanimation. Lorsque l'on s'intéresse à la population de réanimation sous ventilation mécanique, la prévalence du SDRA est de 23% environ. Parmi ces 3000 patients atteints de SDRA, 47% présentaient une forme modérée et 23% une forme sévère. Cette étude a aussi eu le mérite de démontrer que le SDRA n'est pas identifié par le clinicien chez 50% des patients en cas de formes modérés et 30% en cas de formes sévères. Pour finir, cette étude identifiait une mortalité hospitalière de 40% dans les formes modérées, et de 46% dans les formes sévères. Néanmoins, il est difficile de retenir ces données comme étant stabilisées, du fait de l'impact majeur des réglages de la ventilation mécanique sur l'oxygénation d'une part, de l'hétérogénéité de prise en charge du SDRA, ou encore la sous-détection fréquente de ce syndrome, d'autre part. Pour finir, les facteurs associés à une surmortalité sont l'âge, le sepsis, l'existence et la sévérité d'une défaillance multiviscérale, l'immunodépression, et certains éléments spécifiques de la ventilation mécanique comme les pressions de fin d'expiration, de fin d'inspiration, la pression motrice (*driving pressure*) élevées ou encore un volume courant excessif.

c. Physiopathologie

Le SDRA correspond sur le plan histologique à un œdème lésionnel, inflammatoire associant une atteinte épithéliale de l'alvéole pulmonaire, une atteinte interstitielle, et une atteinte endothéliale. L'histoire naturelle du SDRA se découpe en 3 phases : exsudative, prolifératives et fibrosante (Ware et al. 2000, Papazian et al. 2007).

A la phase exsudative, le SDRA est caractérisé par une destruction des épithéliums et endothéliums alvéolaires, par une réponse immunitaire innée avec accumulation d'un œdème inflammatoire riche en protéines au sein de la lumière alvéolaire et dans l'interstitium. Cette phase est associée au recrutement de polynucléaires neutrophiles, monocytes et macrophages, et à la sécrétion de chémokines et cytokines par le

macrophage alvéolaire résident. Avec le recrutement de lymphocytes T cytotoxiques, l'ensemble des conditions sont réunies pour entretenir le dommage alvéolaire (nécrose et apoptose des pneumocytes de type 1 et 2, dénaturation des protéines composant le surfactant) et amplifier l'inflammation pulmonaire avec la formation de membranes hyalines. S'y associe un état d'hyperperméabilité capillaire au niveau endothélial induit par la destruction de la barrière alvéolo-capillaire, ainsi qu'une activation de la coagulation entrainant la formation de thrombus au sein des capillaires péri-alvéolaires. A cette phase, l'interstitium est saturé de cellules de l'immunité innée et est inondé par l'œdème inflammatoire. L'ensemble de ces processus lésionnels caractéristiques de la phase exsudative est responsable des troubles de l'hématose observés au cours du SDRA : perte du volume aéré pulmonaire avec shunt intra-pulmonaire, inadéquation ventilation-perfusion, et augmentation de l'espace mort alvéolaire.

La phase proliférative correspond à la phase de réparation du parenchyme pulmonaire, au cours de laquelle il existe une prolifération de pneumocytes de type 1 et 2 ainsi que des cellules endothéliales, une production des protéines constituant le surfactant, une clairance augmentée et active de l'œdème intra-alvéolaire, associée à la restauration d'une perméabilité physiologique de la barrière alvéolo-capillaire. Cette phase est caractérisée par la prolifération de cellules de l'immunité innée au profil immunomodulateur, par la phagocytose des polynucléaires neutrophiles, et le recrutement transitoire de fibroblastes. Elle débute dès les premiers jours du SDRA, mais devient cliniquement évidente à partir d'une semaine d'évolution.

La phase tertiaire dite fibrosante est caractérisée par une réparation pathologique de l'unité alvéolaire marquée par la production et le dépôt excessif de collagène dans la lumière alvéolaire, l'inhibition de la re-colonisation par les pneumocytes, la persistance d'un œdème intra-alvéolaire, l'épaississement de l'interstitium induit par le dépôt de fibrine, et par l'obstruction permanente des capillaires péri-alvéolaire.

d. Brève description des éléments de prise en charge du SDRA

En dehors du traitement spécifique de sa cause lorsque celui-ci existe, la prise en charge du SDRA repose tout d'abord sur l'utilisation de la ventilation mécanique avec pression positive de fin d'expiration. Comme nous le développerons dans la section

portant sur les lésions pulmonaires induites par le respirateur, les réglages de celui-ci doivent permettre une ventilation dite protectrice. Les éléments essentiels de celle-ci, visant à réduire la mortalité du SDRA, sont un volume courant réduit, le plus souvent inférieur ou égal à 6 $ml.kg^{-1}$ de poids prédit par la taille et une pression de fin d'expiration positive de 5 cm H_2O ou plus, l'ensemble visant à maintenir la pression de fin d'inspiration inférieure à 30 cm H_2O (The Acute Respiratory Distress Syndrome Network 2000, Briel et al. 2010). En cas de SDRA modérément sévère (P_aO_2/F_iO_2 entre 100 et 150 mm Hg) ou sévère (< 100 mm Hg), l'utilisation de curares a aussi démontré un effet bénéfique encore discuté sur la survie, tout comme l'utilisation du décubitus ventral chez des patients préalablement optimisés sur le plan ventilatoire (Papazian et al. 2010, Guerin et al. 2013). En cas d'hypoxémie réfractaire, l'utilisation de l'oxygénation extra-corporelle (ECMO, *extracorporeal membrane oxygenation*) pourrait permettre une amélioration de la survie des patients les plus graves (Combes et al. 2018). Les thérapeutiques adjuvantes reposent principalement sur la lutte contre l'apparition d'une surcharge hydrosodée patente, fréquente en réanimation (National Heart Lung Blood Institute et al. 2006). Pour finir, et à ce jour, aucune thérapie médicamenteuse n'a montré un avantage certain en termes de survie au cours du SDRA, bien qu'il existe un panel d'argument fort pour l'utilisation de traitements anti-inflammatoires stéroïdiens dans les formes de SDRA dites persistantes (Meduri et al. 2016).

e. Similitudes et spécificités du SDRA associé au COVID-19

Le SDRA associé à l'infection par le SARS-CoV-2 est l'expression clinique la plus sévère de la pneumonie virale associée à ce virus, responsable depuis 2019 d'une pandémie mondiale. Bien que rare sur le plan épidémiologique, le SDRA associé au SARS-CoV-2 présente de fortes similarités avec certains éléments épidémiologiques déjà connus du syndrome (Grasselli et al. 2021). En effet, dans la cohorte COVID-ICU, regroupant 138 réanimations en Europe et plus de 2200 patients avec SDRA, il était observé une répartition des 3 classes de sévérité similaire à celle rapportée dans LUNG-SAFE, tout comme une mortalité hospitalière et à J28 comparables (COVID-ICU Group et al. 2021).

Néanmoins, des différences importantes semblent spécifiques du SDRA associé à l'infection par le SARS-CoV-2. Tout d'abord, il a été largement observé des durées de ventilation mécanique et de séjour en réanimation très supérieures à celles observées dans les SDRA d'autres causes. Par exemple, la durée de ventilation mécanique est en médiane de 26 jours dans les formes de SDRA sévères associés au SARS-CoV-2, quand elle n'est que de 14 jours dans l'étude LUNG-SAFE à niveau de gravité égale (Bellani et al. 2016, COVID-ICU Group et al. 2021).

Une étude scanner particulièrement intéressante offre un début de réponse quant à la spécificité de l'atteinte pulmonaire de ce SDRA. En effet, Chiumello et al. démontrent que le SDRA lié au SARS-CoV-2 présente un volume pulmonaire aéré significativement plus important (et donc une compliance du système respiratoire plus élevée) lorsqu'il est comparé à une cohorte de SDRA non-SARS-CoV-2 au niveau d'hypoxémie similaire (Chiumello et al. 2020). De même, à compliance égale, le volume aéré était significativement plus important au cours du SDRA lié au SARS-CoV-2 versus les SDRA d'autres causes, bien que le poids du poumon estimé au scanner soit comparable entre les 2 cohortes. De même, lorsque les compliances étaient comparables entre les 2 cohortes, le SDRA lié au SARS-CoV2 était significativement plus hypoxémique comparativement au SDRA d'autres causes. Pour finir, alors que les SDRA d'autres causes présentaient une relation linéaire et positive entre le degré de shunt intra-pulmonaire (estimé par l'admixtion veineuse) et la perte du volume aéré, cette relation était absente au cours du SDRA à SARS-CoV-2, laissant suspecter une participation prépondérante de l'atteinte microcirculatoire et endothéliale dans ce type de SDRA.

Du fait de ces données phénotypiques de mécanique ventilatoire différente, il a été proposé dans un éditorial ayant été très largement recité de dichotomiser le SDRA lié au SARS-CoV-2 en 2 sous-types sur la base d'un seuil arbitraire d'élastance du système respiratoire (Gattinoni et al. 2020). Le type L (pour *low elastance*) présenterait comme caractéristiques un volume aéré pulmonaire élevé, un faible potentiel de recrutement alvéolaire, un faible poids du poumon (soit une faible quantité d'œdème lésionnel, corollaire du volume pulmonaire aéré élevé), et une faible discordance entre ventilation et perfusion. A l'inverse, le type H (*high elastance*) présenterait les caractéristiques

inverses, soit une perte importante du volume aéré, une recrutabilité importante, un poids du poumon élevé, et un shunt intra-pulmonaire majeur. Bien que ce concept « H versus L » ait été énoncé dans le cadre de la pandémie mondiale du SARS-CoV-2, il n'a pas été évalué chez des patients atteints de SDRA sans lien avec le SARS-CoV-2.

Finalement, sur le plan thérapeutique, l'insuffisance respiratoire aiguë hypoxémiante liée à l'infection par le SARS-CoV-2 est systématiquement traité par corticostéroïdes depuis la publication des résultats de l'essai RECOVERY, montrant une baisse de la mortalité chez les patients infectés présentant une hypoxémie justifiant au minimum l'administration d'oxygène nasal (RECOVERY Collaborative Group et al. 2021). Les autres principes conventionnels de prise en charge du SDRA sont aussi appliqués dans le cadre de cette infection virale sévère (COVID-ICU Group et al. 2021).

2. *VENTILATOR-INDUCED LUNG INJURIES*

a. Définition

L'histoire du SDRA est intrinsèquement associée au concept de lésions pulmonaires induites par la ventilation mécanique, ou *ventilator-induced lung injuries* (VILI). En effet, bien que la ventilation mécanique soit sans aucun doute possible une thérapie de recours vital au cours du SDRA, il est connu depuis plus de 50 ans que le respirateur est lui-même responsable de lésions pulmonaires et systémiques pouvant être fatales (Nash et al. 1967). Ainsi, le VILI correspond à l'ensemble des mécanismes responsable d'un trouble iatrogène secondaire à l'application de la ventilation mécanique sur le parenchyme pulmonaire sain ou agressé (de Prost et al. 2011). Son développement conceptuel repose sur l'assimilation du poumon à une système déformable viscoélastique que nous décrirons ci-après (Bayliss et al. 1939).

b. Caractéristiques histologiques du VILI

Les lésions pulmonaires observées en histologie à la suite de l'application d'une ventilation mécanique iatrogène sont nombreuses et hétérogènes (Tsuno et al. 1991, Imanaka et al. 2001). On retrouve tout d'abord des lésions mécaniques induits par la surdistension du parenchyme menant à sa rupture : soit microscopiques menant à la rupture de la paroi alvéolaire et à la présence d'air dans le tissu interstitiel, soit

macroscopiques avec apparition de pneumothorax ou de pneumatocèle. Une autre caractéristique histologique du VILI est la présence d'un œdème lésionnel et inflammatoire partageant certains éléments communs avec le dommage alvéolaire diffus : membranes hyalines dans la lumière alvéolaire, œdème inflammatoire riche en protéines, dénaturation des protéines constituant le surfactant, augmentation de la perméabilité capillaire, et œdème périvasculaire (Muscedere et al. 1994).

c. Forces mécaniques et physiopathologie du VILI

i. Barotrauma

L'application d'une pression positive par le respirateur sur la paroi de l'alvéole pulmonaire est responsable d'un *stress* ou contrainte physique orthogonale à sa paroi, pouvant mener à sa rupture. La conséquence la plus grave du barotrauma est le pneumothorax iatrogène.

La pression transpulmonaire est le paramètre biophysique le mieux à même de refléter le *stress* subi par la paroi alvéolaire (Chiumello et al. 2014). Elle correspond à la différence de pressions régnants de chaque côté de la paroi alvéolaire – pression régnant dans la lumière alvéolaire P_{AW} d'une part et pression pleurale P_{PL} d'autre part :

$$P_{TP} = P_{AW} - P_{PL} \qquad \text{Eq. 1.}$$

Le barotrauma peut ainsi être généré par un excès de pression positive administré par le respirateur sur le versant alvéolaire, ou à l'inverse un excès de pression pleurale négative généré par les efforts respiratoires du patient. Un *stress* élevé (soit une pression transpulmonaire élevée) peut être observé même à bas volume courant lorsque le volume aéré pulmonaire est effondré (Gattinoni et al. 1987).

ii. Volutrauma

Un volume courant élevé administré à chaque cycle ventilatoire est le second mécanisme physiopathologique du VILI. En effet, un volume de gaz ΔV administré à un système déformable ayant un volume de repos donné V_{Base} est responsable de l'étirement (ou *strain*) de sa paroi, pouvant aller jusqu'à sa surdistension et sa rupture si ΔV est excessif :

$$Strain = \frac{\Delta V}{V_{Base}}$$ Eq. 2.

En appliquant ce concept biophysique au poumon, on comprend que la relation entre le volume courant administré par le respirateur au volume de repos du poumon (soit le volume pulmonaire aéré de fin d'expiration) est un élément essentiel de l'étirement (ou *strain*) de la paroi alvéolaire lors de l'administration du volume courant (Protti et al. 2011). Le volutrauma, correspondant à un *strain* excessif menant à la surdistension alvéolaire peut alors être généré dans 2 cas de figures : un volume courant excessif par rapport au volume de repos – on parle de VILI à haut volume –, ou un volume de repos du poumon réduit, tel qu'observé au cours du SDRA sous la dénomination de *baby lung*. Un *strain* excessif peut mener à la rupture de l'épithélium et de la matrice extracellulaire.

Pour aller plus loin dans la définition du *strain*, la composante du *strain* liée à l'insufflation du volume courant est appelée *strain* dynamique. Elle s'oppose au *strain* statique qui correspond à la variation de volume induit par la PEP appliqué à la capacité résiduelle fonctionnelle, soit le volume aéré pulmonaire hors PEP. La somme du *strain* dynamique et du *strain* statique correspond au *strain* total (Protti et al. 2013). Le *stress* et le *strain* alvéolaire sont associés linéairement par l'élastance pulmonaire spécifique, concept biophysique retranscrivant la déformabilité de la paroi alvéolaire. Cette relation linéaire disparaît quand le strain dépasse la valeur seuil de 2 (sans unité, correspondant à un volume courant 2 fois supérieur au volume pulmonaire aéré à la capacité résiduelle fonctionnelle) ; la perte de la relation linéaire entre *stress* et *strain* signe les dommages subis par l'architecture extracellulaire du poumon. Il peut être nécessaire de tenir compte du recrutement cyclique lié au volume courant ou à celui statique induit par la PEP, ces deux phénomènes étant responsable du diminution du volume au numérateur et une augmentation de celui au dénominateur dans le calcul du *strain*.

Il est intéressant de noter que le volutrauma est probablement un élément plus déterminant que le barotrauma dans les forces mécaniques délétères s'appliquant au parenchyme pulmonaire. En effet, Dreyfuss et al. dans une étude notable ont montré qu'un œdème lésionnel apparaissait chez des animaux ventilés à haut volume courant et

à haute pression des voies aériennes (Dreyfuss et al. 1988, Dreyfuss et al. 1993). Ils n'ont cependant pas observé la formation de celui-ci en ventilant à des régimes de pressions des voies aériennes comparables des animaux dont la cage thoracique avait été cerclée et dont le volume avait donc été significativement réduit,

Un phénomène connexe (mais non superposable) d'une inflation excessive est celui d'hyperinflation intracycle (Terragni et al. 2007). Il correspond au passage d'une alvéole d'un statut aéré sans surdistension, à celui d'alvéole hyperinflatée en fin d'inspiration. Il est identifiable à l'aide du scanner pulmonaire quantitatif réalisé en fin d'expiration et en fin d'inspiration. Ce phénomène est associé à une durée de ventilation plus longue au cours du SDRA chez l'homme lorsque le volume d'hyperinflation intracycle dépasse 40% du volume courant, quand bien même celui-ci est maintenu à 6 $ml.kg^{-1}$ de poids prédit par la taille.

iii. Atelectrauma

Un mécanisme supposé des lésions induites par la ventilation mécanique est la fermeture (ou dérecrutement) et l'ouverture (ou recrutement) cyclique d'alvéoles au cours du cycle ventilatoire, potentiellement génératrices de forces de cisaillement excessives (Muscedere et al. 1994). La répétition de ce phénomène au cours du temps est responsable d'un œdème lésionnel dans les modèles de SDRA expérimentaux à l'acide oléique. Son impact sur l'inflammation pulmonaire semble cependant inférieur à celui du *volutrauma* (Guldner et al. 2016). L'utilisation d'une pression positive de fin d'expiration est censée limiter ce phénomène chez l'homme, bien que son existence n'ait pas été prouvée ou avec certitude à ce jour.

iv. Stress raisers

Le parenchyme pulmonaire est constitué de millions d'alvéoles soutenues entre elles par le biais de l'architecture de la matrice extracellulaire ; l'aération d'une alvéole est donc dépendante de l'inflation de ses voisines (Mead et al. 1970). Ce phénomène est appelé interdépendance alvéolaire. En cas de collapsus (ou perte d'aération) d'alvéoles dans une région pulmonaire, les alvéoles se situant immédiatement en périphérie de cette zone subissent un *stress* mécanique du fait de cette interdépendance. De même, l'hyperinflation d'un groupe alvéolaire peut générer dans son voisinage immédiat la perte

d'aération d'un autre groupe d'alvéoles voisin. Ce phénomène est d'autant plus important qu'il existe une hétérogénéité d'aération du parenchyme pulmonaire, comme cela est observé au cours du SDRA (Cressoni et al. 2014). On parle alors de *stress raisers* dans ces régions frontières du parenchyme pulmonaire ayant des niveaux d'aération différents, entrainant une déformation potentiellement délétère au cours du cycle ventilatoire du fait de l'interdépendance alvéolaire.

v. Temps d'exposition

Un élément essentiel de la physiopathologie du VILI est la constante de temps. Tout d'abord, plus la durée de ventilation mécanique augmente, plus l'exposition au VILI augmente. Il est néanmoins aussi démontré que le VILI apparait dès les premières minutes de ventilation si celle-ci est administrée de façon délétère : l'apparition d'un œdème lésionnel induit par la ventilation mécanique a été observé chez l'animal après seulement 2 heures de ventilation mécanique à haut volume courant (Kolobow et al. 1987).

Le corollaire de cet impact du temps est l'impact de la fréquence respiratoire. En effet, la fréquence respiratoire correspond au nombre d'insufflation par le respirateur pendant une minute ; si le volume insufflé est générateur de VILI, alors l'augmentation de la fréquence de son administration augmentera mathématiquement sa « toxicité ». Afin de démontrer l'impact de la fréquence respiratoire, l'équipe italienne de Gattinoni a réalisé une expérience intéressante. En maintenant constant le *stress* et le *strain* chez des animaux sous sédation et curares, et en faisant varier la fréquence respiratoire entre 3 et 15 respirations par minute, ils ont démontré une dégradation significative du volume pulmonaire aéré au scanner (correspondant à une augmentation de l'œdème lésionnel induit par la ventilation mécanique), tout comme une augmentation du poids des poumons, lorsque la fréquence était supérieure à 12 par minute (Gattinoni et al. 2016).

vi. Puissance mécanique

Les principaux mécanismes décrits ci-dessus peuvent être intégrés mathématiquement dans une formule permettant de calculer la puissance mécanique administrée par le ventilateur aux poumons (Gattinoni et al. 2016). Celle-ci permet de

résumer à l'aide d'une valeur numérique unique l'ensemble des paramètres potentiellement iatrogènes connus :

$$P_{RS} = RR \cdot \left\{ \Delta V^2 \cdot \left[\frac{1}{2} \cdot EL_{RS} + RR \cdot \frac{(1+I:E)}{60 \cdot I:E} \cdot R_{AW} \right] + \Delta V \cdot PEEP \right\} \quad \text{Eq. 3.}$$

où RR est la fréquence respiratoire, ΔV correspond au volume courant, EL_{RS} à l'élastance du système respiratoire, I:E le rapport du temps inspiratoire sur le temps expiratoire, R_{AW} la résistance des voies aériennes, et la PEP la pression de fin d'expiration positive appliquée au système respiratoire.

La puissance mécanique serait le principal déterminant de la déformation de la matrice extracellulaire pulmonaire responsable du cisaillement et du décollement des éléments épithéliaux et endothéliaux qui y sont arrimés. Lors d'une expérience animale au cours de laquelle la pression positive de fin d'expiration variait entre 0 et 18 cm H_2O, la puissance mécanique augmentait significativement lorsque celle-ci était supérieure ou égale à 11 cm H_2O, en lien avec une augmentation de sa composante statique (PEP) et dynamique (pression de travail ou pression motrice) (Collino et al. 2019). Dans une autre étude, une augmentation de la puissance mécanique était associée à une augmentation du poids des poumons (corollaire de la formation de l'œdème lésionnel) et à des lésions histologiques de dommage alvéolaire diffus plus sévères (Cressoni et al. 2016). Les animaux présentant les puissances mécaniques les plus élevées étaient ceux dont la mortalité était la plus haute au cours de l'expérimentation.

d. Biotrauma

Il est probable que les forces mécaniques décrites ci-dessus (*stress*, *strain*, cisaillement) soient responsables de l'activation d'une réponse inflammatoire locale et systémique entraînant une aggravation des lésions pulmonaires ainsi que la dysfonction d'organes à distance du poumon (Ranieri et al. 1999, Protti et al. 2011). Ce concept, dans lequel une agression mécanique est traduite en réponse biologique délétère, est nommé *biotrauma*. Il est démontré sur un modèle de poumons isolés perfusés qu'une ventilation à haut volume courant est responsable de la sécrétion de médiateurs pro-inflammatoires (Tremblay et al. 1997). Cependant, ces résultats restent discutés, du fait de l'absence de

sécrétion de TNF-α dans un modèle de VILI à haut volume courant chez l'animal indemne (Ricard et al. 2001). En revanche, l'exposition de pneumocytes de type 1 à un étirement prolongé génère une modification de son transcriptome vers la production de radicaux libres de l'oxygène (Chapman et al. 2005). Dans un essai randomisé chez 44 patients atteints de SDRA évaluant l'impact d'une stratégie de ventilation protectrice sur l'inflammation pulmonaire et systémique, les taux plasmatiques et dans le lavage alvéolaire des principaux médiateurs pro-inflammatoires étaient significativement plus élevés dans le groupe de patients recevant une ventilation non-protectrice (principalement le TNF-α et l'interleukine-6) (Ranieri et al. 1999).

L'impact sur le dysfonctionnement d'organes à distance du poumon a par ailleurs été rendu évident dans une étude expérimentale au cours de laquelle il était observé un doublement significatif de la créatinine plasmatique (dysfonction rénale), une augmentation significative de la bilirubine (atteinte hépatique), et une baisse marquée du taux de plaquettes (atteinte hématologique) dans le groupe d'animaux avec VILI expérimental (soit ceux ayant un *strain* pulmonaire supérieur à 2) comparativement aux animaux ventilés de façon protectrice (Protti et al. 2011).

Nous parlerons plus spécifiquement dans une section suivante du rôle prépondérant que joue le macrophage dans l'apparition des lésions induites par la ventilation mécanique.

e. Focus thérapeutique du concept de VILI

Depuis la première observation de la iatrogénie induite par la ventilation mécanique il y a plus de 50 ans, des efforts et des progrès majeurs ont été réalisés dans le domaine de la ventilation afin de promouvoir l'usage de réglages dits protecteurs, sur la base des études expérimentales dont certaines sont citées ci-dessus, et d'essais cliniques randomisés faisant date.

i. Bas volume courant

A ce jour, la stratégie ventilatoire la plus couramment acceptée repose tout d'abord sur l'utilisation d'un volume de 6 $ml.kg^{-1}$ ou moins de poids prédit par taille, et ceci quel que soit le contexte du patient : chirurgical ou atteint de SDRA (The Acute

Respiratory Distress Syndrome Network 2000, Futier et al. 2013). Les résultats de l'étude de l'ARDS Network publiés en 2000 montrant une diminution absolue de 9% de la mortalité au cours du SDRA ne laisse aucun doute sur le bénéfice de diminuer le volume courant, comparativement à un volume courant de 12 $ml.kg^{-1}$. En diminuant le volume courant, celui-ci est moins à même de générer une surdistension alvéolaire intra-cycle, d'autant plus s'il existe un SDRA avec perte du volume pulmonaire aéré (*baby lung*). Toutefois, un volume de 6 $ml.kg^{-1}$ ne permet pas de s'assurer de l'absence d'effet délétère de celui, en particulier chez les patients ayant les pertes les plus importantes de volume aéré (Terragni et al. 2007). Des stratégies utilisant des volumes encore plus faibles sans suppléance extracorporelle sont en cours d'évaluation (Richard et al. 2019).

ii. Contrôle de la pression de fin d'inspiration

Un co-objectif de la ventilation protectrice est de maintenir la pression de fin d'inspiration (ou pression plateau) des voies aériennes inférieure ou égale à 30 cm H_2O, ceci afin de limiter la surdistension et le barotrauma (The Acute Respiratory Distress Syndrome Network 2000, Fan et al. 2017). Un seuil de 28 cm H_2O ou moins semble d'autant plus pertinent qu'il était associé à une faible part d'hyperinflation intracycle, et à une réponse inflammatoire moins intense dans une cohorte italienne de patients atteints de SDRA (Terragni et al. 2009, Terragni et al. 2013). Bien que les preuves expérimentales existent démontrant que le contrôle du volume semble importer plus que la pression dans la réalisation d'une ventilation protectrice, ce seuil reste pertinent en pratique clinique afin de sécuriser la ventilation.

Comme expliqué ci-dessus, il semble que la mesure de la pression transpulmonaire, plus que la simple mesure de la pression plateau, soit la plus à même de quantifier le *stress* mécanique appliqué au système respiratoire, en tenant compte de l'effet qu'applique la paroi thoracique sur le parenchyme (Talmor et al. 2006). Par l'utilisation du ballonnet de pression œsophagienne, il est possible d'estimer la pression pleurale, et ainsi calculer la pression transpulmonaire, en particulier celle régnant dans les zones dépendantes à médio-thoraciques du poumon chez l'homme (Yoshida et al. 2018). Néanmoins, il n'existe pas actuellement de seuil identifié de pression

transpulmonaire de fin d'inspiration défini comme étant associé à un excès de toxicité de la ventilation mécanique.

iii. Application d'une pression de fin d'expiration positive (PEP)

Un troisième aspect de la ventilation protectrice est l'utilisation d'une pression positive de fin d'expiration de 5 cm H_2O ou plus. L'objectif théorique de la PEP est de produire un recrutement alvéolaire correspondant à une ré-aération d'alvéoles non aérées en fin d'expiration, et de maintenir celles-ci aérées – on parle alors de recrutement alvéolaire. Le but théorique est d'une part d'améliorer l'hématose en augmentant les échanges gazeux par la correction des disparités de ventilation/perfusion, mais aussi de lutter contre le phénomène d'atélectrauma. Des données scannographiques ont en effet démontré qu'au cours du SDRA, l'application d'une pression des voies aériennes ou dépassant 40 cm H_2O est responsable d'un recrutement quasi-complet du parenchyme pulmonaire (Gattinoni et al. 2006). Par ailleurs, dans un modèle expérimental de SDRA, une augmentation de la PEP était significativement associée à un moindre œdème lésionnel comparativement à une augmentation du volume courant, lorsque la somme des 2 composantes, statique et dynamique, du *strain* (le *strain* total) était maintenue constante, laissant suggérer un effet protecteur de la PEP sur le VILI (Protti et al. 2013).

Néanmoins, l'utilisation de niveaux de PEP élevés n'est pas dénuée d'effets indésirables. Tout d'abord, l'augmentation excessive de la pression intra-thoracique est responsable d'une augmentation de la post-charge du ventricule droit et d'une diminution du retour veineux, pouvant être responsable d'une baisse du débit cardiaque en cas de précharge-dépendance ou d'insuffisance ventriculaire droite préexistante, et pouvant aller jusqu'à induire un arrêt cardio-circulatoire (Katira et al. 2017). Par ailleurs, l'amélioration de l'hématose par la PEP n'est possible qu'en cas d'existence d'un potentiel de recrutement alvéolaire qui n'est pas systématique au cours du SDRA aux niveaux de PEP utilisés en pratique clinique, les pressions d'ouverture de l'alvéole pouvant dépasser les seuils hémodynamiquement tolérables de PEP (Gattinoni et al. 2006). De plus, en l'absence de recrutement, la PEP peut alors entrainer une surdistension des zones pulmonaires dont la compliance serait moins altérée ou normale

et leur appliquer d'une part un stress mécanique non bénéfique et d'autre part créer des zones d'espace mort fonctionnelles délétères à l'hématose du patient. Pour finir, la PEP en se distribuant vers les zones normalement aérées peut aggraver les disparités de perfusion/ventilation en redirigeant le flux sanguin pulmonaire vers les régions pulmonaires non aérées où elle ne s'applique pas (Richard et al. 2008).

Aucune étude randomisée de grande ampleur n'a pu démontrer le bénéfice d'une stratégie de PEP haute versus PEP basse dans la prise en charge du SDRA (Brower et al. 2004, Mercat et al. 2008, Santa Cruz et al. 2013, The PROVE Network Investigators et al. 2014). L'essai brésilien ART, publié en 2017 a même conclu à une surmortalité lorsqu'une stratégie de PEP élevée est utilisée conjointement à des manœuvres de recrutement alvéolaire, comparativement à une stratégie de PEP basse sans manœuvre de recrutement (Cavalcanti et al. 2017). Néanmoins, la plus grande méta-analyse réalisée sur le sujet de la PEP optimale au cours du SDRA suggère qu'une stratégie de PEP élevée augmente la survie chez les patients atteints de SDRA modéré à sévère, soit ayant un ratio P_aO_2/F_iO_2 < 200 mm Hg (Briel et al. 2010). A l'aune de ces résultats discordants, la PEP reste le plus communément réglée par le clinicien à l'aide de tables de concordance dans lesquelles un niveau de PEP donné correspond empiriquement à un niveau de F_iO_2 réglée.

Enfin, l'usage du ballonnet de pression œsophagienne pour calculer la pression transpulmonaire de fin d'expiration pourrait permettre de mieux identifier la PEP à régler afin de maintenir cette pression transpulmonaire de fin d'expiration positive, en la tenant compte de l'effet mécanique appliquée par la paroi thoracique. L'équipe de Talmor et al. a réalisé 2 essais randomisés de grande ampleur et ont ainsi pu démontrer une amélioration de la compliance (supposément par une augmentation du recrutement alvéolaire) et de l'oxygénation chez les patients chez lesquels une stratégie guidée par la pression œsophagienne était utilisé, versus un groupe contrôle dans lequel la PEP était ajusté selon un table de concordance PEP-F_iO_2 (Talmor et al. 2008). Néanmoins, les auteurs de ces travaux, n'ont pas observé d'amélioration de la survie associée à la stratégie testée (Beitler et al. 2019).

iv. Thérapies non ventilatoires et innovations récentes

Chez les patients présentant un SDRA modérément sévère à sévère, l'administration de hautes doses continues de curares pendant 48 heures était associé à une amélioration de la survie dans l'étude de Papazian et al. (Papazian et al. 2010). Il est probable qu'une certaine proportion des effets bénéfiques liés à l'utilisation des curares soit dû à une amélioration de la synchronisation du patient avec le ventilateur, en inhibant les efforts inspiratoires responsables d'une augmentation difficilement détectable de la pression transpulmonaire. Cependant, les résultats de cette étude française n'ont pas été reproduit dans un essai américain récent du fait de protocoles divergents de gestion des sédations et d'optimisation de la ventilation (National Heart Lung Blood Institute et al. 2019).

Le décubitus ventral est une autre thérapie proposée en cas de SDRA modérément sévère à sévère, et dont l'utilisation est responsable d'un doublement indiscutable de la survie chez les patients bénéficiant de cette technique (Guerin et al. 2013). Il est aussi certain que le décubitus ventral améliore la survie par une diminution du VILI, en améliorant la distribution régionale du volume courant au sein du parenchyme, tout comme en rendant plus homogène le *stress* et le *strain* appliqués régionalement aux poumons, par le biais d'une diminution du gradient antéro-postérieur de l'élastance de la paroi thoracique (Gattinoni et al. 1991, Pelosi et al. 1998, Richter et al. 2005). L'étude de Broccard et al. démontrant une diminution et une homogénéisation de l'œdème lésionnel chez les animaux en décubitus ventral soumis à un modèle de VILI à haut volume courant, comparativement aux animaux en décubitus dorsal en apporte la preuve (Broccard et al. 1997). Toutefois, l'effet du décubitus ventral sur la modulation du *biotrauma* reste encore incertain (Papazian et al. 2005).

Plus récemment, la diffusion de l'utilisation des techniques d'oxygénation ou de décarboxylation extracorporelles (ECMO ou $ECCO_2R$ respectivement) a rendu possible l'utilisation de volumes courants inférieurs à 4 $ml.kg^{-1}$. Expérimentalement, une ventilation quasi-apnéique est responsable d'une amélioration significative des lésions histologiques de VILI dans un modèle animal, comparé à une ventilation non protectrice (Araos et al. 2016). Il a été démontré qu'une ventilation ultra-protectrice (4 ml.kg-1) sous

$ECCO_2R$ était responsable d'une moindre excrétion de cytokines pro-inflammatoires dans le LBA de patients atteints de SDRA, comparativement à une stratégie de ventilation protectrice conventionnelle (Terragni et al. 2009). Néanmoins, 3 études évaluant l'effet d'une stratégie à bas volume courant sous $ECCO_2R$ ou ECMO respectivement *versus* une ventilation protectrice conventionnelle sans ECMO n'ont pas démontré de bénéfice indiscutable sur la durée de ventilation mécanique ou la survie (Terragni et al. 2009, Combes et al. 2012, Combes et al. 2018, McNamee et al. 2021).

* * *

Comme décrit ci-dessus, la réponse inflammatoire à l'agression mécanique induite par la ventilation est un élément clef du VILI et de sa composante *biotrauma*. L'un des éléments cellulaires déterminant de ce processus lésionnel est le macrophage de la lignée monocytaire.

3. LE MACROPHAGE PULMONAIRE

a. Définition et caractéristiques

Le macrophage est une cellule mononucléée issue de la l'hématopoïèse myéloïde, provenant de la différenciation du monocyte circulant lors de la pénétration de celui-ci dans les tissus par diapédèse. Dans le poumon, la population de macrophages a deux origines : les macrophages résidents, présents en situation physiologique au sein du parenchyme, et les macrophages recrutés au site lésionnel lors d'une agression (Joshi et al. 2018).

b. Macrophages résidents et recrutés

Dans le poumon, le macrophage résident a pour rôle de maintenir l'homéostasie immunitaire de l'alvéole, en éliminant les pneumocytes sénescents. Il joue aussi un rôle de sentinelle de part son rôle de cellule présentatrice d'antigène au sein de l'échangeur de grande surface que représente le poumon avec l'extérieur. Les macrophages sont présents des deux côtés de l'épithélium, sous la forme d'une population alvéolaire $CD11b^{-}$ $CD11C^{++}$ et d'une population interstitielle $CD11b^{+}$ $CD11C^{-}$ (Byrne et al. 2015). Le

renouvellement de ces deux sous-populations est lent (plusieurs mois ou années), à l'inverse des macrophages recrutés au cours d'une réponse inflammatoire.

Dans le cas d'une agression du poumon, comme c'est le cas au cours d'une infection, il existe un recrutement rapide et massif de macrophages provenant de la population monocytaire circulante (Marriott et al. 2007). Cette population de macrophages recrutés en contexte aigu devient prédominante comparativement aux macrophages résidents, dans un ratio 4 pour 1, dans un modèle expérimental de pneumopathie à *Klebsiella pneumoniae* (Herold et al. 2011). Ils participent alors à la lutte contre l'agent infectant et à la réparation du tissu pulmonaire. Les LBA de patients atteints de SDRA montrent des résultats similaires, la population de macrophages identifiée étant principalement issue des monocytes circulants, recrutés au sein du poumon dans le contexte de l'agression aiguë (Rosseau et al. 2000).

c. Rôle du macrophage dans la réponse immunitaire

Sur le plan fonctionnel, il existe 2 phénotypes de macrophages, dont l'action dépend des stimuli de l'environnement – on parle alors de polarisation. Le macrophage M1 est celui dont l'action est pro-inflammatoire, bactéricide et cytotoxique. Les sous-types de macrophage M2 (M2a, M2b, M2c) partagent tous la caractéristique d'être faiblement producteurs d'interleukine-12, et de présenter des phénotypes pro-réparateurs, immunomodulateurs, voire anti-inflammatoires (Huang et al. 2018). Nous développerons ici l'action et le rôle des macrophages M1.

Le macrophage M1 est un acteur central de la réponse immunitaire innée. Son rôle est multiple et comprend la phagocytose de débris cellulaires et d'agents pathogènes, la présentation d'antigènes pour la réponse immune lymphocytaire, la production de cytokines et chémokines pro-inflammatoires. Ils jouent aussi un rôle cytotoxique en sécrétant des espèces bactéricides comme les radicaux libres oxygénés ou de l'azote (Revillard et al.).

Ils sont porteurs de récepteurs TLR et du complexe majeur d'histocompatibilité (CMH) de classe II. L'activation de cette réponse pro-inflammatoire nécessite leur activation par l'action conjointe du TNF-α et de l'interféron γ sous l'action des

polynucléaires, des cellules NK et des lymphocytes Th1. Une fois activé, le macrophage M1 produit l'interleukine-12 dont le rôle est d'entretenir et de stimuler la réponse lymphocytaire Th1. Il sécrète aussi des interleukines 1 et 6, ainsi que l'interleukine-23 dont le rôle est d'amplifier la réponse lymphocytaire T qui elle-même amplifie le chimiotactisme et l'activation des polynucléaires neutrophiles. A noter que dans le cas de l'activation du macrophage par sa liaison via le récepteur TLR (toll-like receptor) à un motif moléculaire associé au pathogène, il sécrète alors du TNF-α dont le rôle est d'entretenir et d'amplifier la réponse inflammatoire par une action autocrine et paracrine. Pour finir, la phagocytose d'un antigène permet aux macrophages de le présenter en le liant au CMH de classe 2 afin de stimuler la réponse lymphocytaire T $CD4^+$ (Mosser et al. 2008).

d. Rôle physiopathologique du macrophage dans le VILI

Une prolifération macrophagique significative au cours du VILI a été identifiée dès les années 1990 par Tsuno et al. dans un modèle de porcs ventilés à haut volume courant; elle était significativement associée à la présence d'œdème lésionnel pulmonaire et à la quantité de neutrophiles présents dans le tissus (Tsuno et al. 1991). Dans une étude expérimentale pratiquée sur un modèle de rats à poumons sains, Frank et al. ont pu démontré une diminution du nombre de macrophages dans le LBA à la phase initiale de la ventilation mécanique à haut volume par adhésion à la membrane alvéolaire suite à leur activation (Frank et al. 2006). Dans cette même étude, une déplétion macrophagique par clodronate liposomal diminuait significativement l'abondance de l'œdème lésionnel et le nombre de polynucléaires neutrophiles après 4h de ventilation mécanique à haut volume courant, comparé au placebo. De plus, le bain issu de la co-culture de pneumocytes et de macrophages alvéolaires soumis à un étirement mécanique in vitro durant 30 minutes était responsable d'une augmentation de la production de radicaux libres de l'azote chez des macrophages naïfs de toute agression mécanique. Par ailleurs, l'inhibition du canal transmembranaire TRPV4 présent à la surface des macrophages par des particules inhalées de ruthénium prévenait la survenue d'une augmentation de la perméabilité capillaire caractéristique du VILI dans un modèle de poumons isolés perfusés de rats soumis à des volumes courants élevés (Hamanaka et al. 2010).

Plus encore, la génération d'un étirement mécanique sur une monocouche de macrophages alvéolaires de souris entraine une stimulation de la transcription de l'inflammasome spécifique du NLRP3 et dépendante de la production de radicaux libres de l'oxygène produits par les mitochondries (Wu et al. 2013). La production de cet inflammasome par le macrophage alvéolaire est responsable d'une sécrétion augmentée d'interleukine 1β dont la neutralisation était associée à une moindre intensité des lésions pulmonaires d'origine inflammatoire induites par la ventilation mécanique. De plus, les souris ventilées à haut volume courant dont le gène de l'inflammasome NLRP3 avait été rendu inactif, présentaient des lésions d'œdème lésionnel induites par la ventilation mécanique significativement moins importantes comparé aux lésions observées chez les souris non déficientes (Kuipers et al. 2012).

* * *

L'ensemble de ces résultats démontrent le rôle prépondérant que joue le macrophage dans la transduction du signal mécanique lésionnel induit par la ventilation mécanique en une réponse inflammatoire pulmonaire délétère génératrice d'œdème lésionnel. Cependant, l'observation et la quantification de l'inflammation liée aux macrophages est rendue difficile dans le contexte préclinique ou clinique du fait de l'absence d'outils diagnostiques performants permettant son étude *in vivo* et répétée au sein même des poumons. Cependant, des techniques d'imagerie quantitative et fonctionnelle comme la tomographie par émission de positons (TEP), couplée ou non au scanner pulmonaire quantitatif, offrent l'opportunité théorique de surpasser ces obstacles (Chen et al. 2017).

4. IMAGERIE FONCTIONNELLE ET INFLAMMATION PULMONAIRE AIGUË

La grande majorité des études pré-cliniques ou cliniques ayant utilisé la TEP pour évaluer l'inflammation pulmonaire aiguë au cours du SDRA et du VILI l'ont été en utilisant comme radiotraceur le [^{18}F]-2-fluoro-2-déoxy-D-glucose ([^{18}F]-FDG) (Chen et al. 2004, Musch et al. 2007, Rodrigues et al. 2008, Bellani et al. 2009, Bellani et al. 2011, de Prost

et al. 2013, Wellman et al. 2014, Cressoni et al. 2016, Guldner et al. 2016). Néanmoins, quelques études ont aussi utilisé des traceurs plus spécifiques de la cascade inflammatoire, sans néanmoins le faire dans ce cadre nosologique spécifique.

a. SDRA et VILI expérimentaux : études TEP à l'aide du [^{18}F]-FDG

Chen et al. en 2004 ont été les premiers à décrire des acquisitions TEP quantitatives au [^{18}F]-FDG chez des chiens soumis à un modèle expérimental de SDRA par acide oléique et ventilés avec un volume courant de 15 ml.kg^{-1} (Chen et al. 2004). La captation du traceur était significativement augmentée dans le parenchyme pulmonaire, en lien avec la séquestration vasculaire des neutrophiles à 1h30 de l'agression expérimentale, comparativement aux contrôles.

Musch et al. ont démontré chez les moutons en ventilation sélective que l'application d'une pression plateau de 50 cm H_2O avec une pression de fin d'expiration à +10 cm H_2O ou -10 cm H_2O était responsable d'une augmentation de la captation du [^{18}F]-FDG quantifiée par la constante de captation K_i issue de la modélisation bicompartimentale de Sokoloff, normalisée pour la fraction tissulaire, et comparée au poumon controlatéral contrôle (Musch et al. 2007). Ces résultats sont les premiers à faire la preuve d'un potentiel *biotrauma* associé au VILI, ce d'autant que la fixation du traceur était significativement associée au compte de neutrophiles pulmonaires après euthanasie. Cette même équipe a proposé par la suite un nouveau modèle à 3 compartiments tissulaires pour le [^{18}F]-FDG, tenant compte de sa distribution dans l'eau extravasculaire extracellulaire pulmonaire, caractéristique physiologique de l'inflammation pulmonaire aiguë au cours du SDRA et du VILI (Schroeder et al. 2008). Bien que le modèle ait montré une performance supérieure à celle du modèle historique à 2 compartiments pour ce traceur ainsi qu'un risque d'erreur substantiel si ce compartiment est ignoré, ils n'ont pu démontrer une association significative entre la constante de captation K_i du modèle et les agressions expérimentales testées (fumée de cigarette et VILI) (Dittrich et al. 2012).

Dans un modèle de SDRA ovin par déplétion unilatérale de surfactant dont les animaux étaient ventilés avec une PEP à 10 cm H_2O et une pression plateau de 30 cm H_2O, le K_i du [^{18}F]-FDG normalisé pour la fraction tissulaire était significativement plus

élevé dans les zones dépendantes du poumon agressé, mais comparable entre les 2 poumons dans les régions non-dépendantes et normalement aérées (de Prost et al. 2011). Cette équipe a aussi précisé les effets de la ventilation à haut volume courant (PEP 0 cm H_2O et volume courant augmenté afin d'obtenir un pression plateau de 30 cm H_2O), versus une ventilation expérimentale dite protectrice (volume courant 8 ml.kg-1 et PEP pour une pression plateau de 30 cm H_2O) sur un modèle ovin soumis à 2h d'endotoxinémie (de Prost et al. 2013). Dans cette étude, le K_i corrigé pour la densité tissulaire du [^{18}F]-FDG était plus élevé dans le groupe VILI dans les régions médiales et dépendantes du poumon, comparativement aux régions non-dépendantes, alors qu'aucune variation inter-régionale n'était observée dans le groupe protecteur. Les auteurs n'avaient pas observé de différence significative du métabolisme cellulaire glucidique quantifié par le K_i du [^{18}F]-FDG bien qu'une tendance en faveur d'une augmentation du K_i était observée dans le groupe VILI comparativement au groupe protecteur. Les travaux de Hinoshita et al. ont par ailleurs confirmer l'augmentation de la réponse cellulaire (par le [^{18}F]-FDG) au sein des régions normalement aérées pulmonaires chez des moutons soumis à différents types d'agression pulmonaire aiguë (Hinoshita et al. 2020).

Plus récemment, Retamal et al. ont pu montré à l'échelle du voxel une corrélation entre le strain dynamique et l'hyper-métabolisme cellulaire quantifiée par le [^{18}F]-FDG dans un modèle de porcs avec SDRA expérimental et ventilation à haut volume courant, renforçant la pertinence du concept de mécanotransduction de l'agression mécanique induit par la ventilation en réponse cellulaire (Retamal et al. 2018).

Wellman et al. ont développé un modèle élégant de VILI chez un modèle expérimental de SDRA par injection de lipopolysaccharides (Wellman et al. 2014). Trois groupes d'animaux étaient soumis pendant 3h soit à un VILI sur poumons sains (PEP 0 cm H_2O et haut volume courant), à un VILI avec les mêmes réglages sur poumons agressés par LPS, ou à une ventilation protectrice (haute PEP et bas volume courant) sur poumons agressés par LPS. Ils ont observé d'une part une augmentation significative du K_i (non corrigé) du [^{18}F]-FDG dans les deux groupes agressés (VILI à haut volume avec ou sans LPS), et une relation linéaire significative entre le *strain* régional et le K_i (non corrigé) du

[^{18}F]-FDG, ainsi qu'avec la constante de phosphorylation k_3. Ces résultats démontrent l'impact de la ventilation à haut volume sur l'augmentation du métabolisme cellulaire régional pulmonaire, et donc potentiellement comme élément déclencheur du *biotrauma* en faisant l'hypothèse que cette technique d'imagerie quantifie un processus inflammatoire.

Dans une étude plus récente, 10 porcs ventilés étaient randomisés en deux groupes pour recevoir une ventilation unilatérale à 3 ml.kg^{-1} de volume courant générant une surdistension significative (VILI à haut volume) ou une ventilation unilatérale à 3 ml.kg^{-1} et à basse PEP génératrice d'atélectrauma (Guldner et al. 2016). Le poumon controlatéral servait de contrôle, et était maintenu à 20 cm H_2O de pression continue. Le taux de captation K_i (non corrigée) du [^{18}F]-FDG était significativement augmenté dans le bras VILI à haut volume, comparativement au poumon contrôlé et au poumon du groupe VILI par atélectrauma. Ces résultats suggèrent qu'une ventilation pourvoyeuse d'une surdistension statique et dynamique est pourvoyeuse d'une réponse métabolique cellulaire augmentée. Il est intéressant de noter que l'hyper-métabolisme cellulaire est observé également au cours de modes ventilatoires comparables à ceux réalisés chez l'homme au cours d'un modèle expérimental de SDRA en décubitus dorsal (Motta-Ribeiro et al. 2018).

Ces éléments bibliographiques démontrent qu'une ventilation à haut volume courant génératrice d'une strain pulmonaire significatif et d'une surdistension alvéolaire génère une augmentation du métabolisme cellulaire (quantifiée par l'augmentation du métabolisme du glucose) au cours du SDRA expérimental. La preuve de la responsabilité de l'atélectrauma comme élément déclencheur du *biotrauma* n'est actuellement pas soutenue par la littérature.

b. Inflammation pulmonaire aiguë et TEP : radioligands ciblant la TSPO

Peu d'études ont utilisé un traceur spécifique de la TSPO dans le cadre de l'inflammation pulmonaire aiguë. La plus ancienne rapporte l'utilisation du [^{11}C](R)-PK11195 pour quantifier les macrophages présents dans les poumons de lapins non ventilés soumis à l'inhalation de microparticules de silice (Jones et al. 2002). Ce stimulus lésionnel pro-inflammatoire et pro-fibrosant, correspondant à un modèle expérimental

d'alvéolite, était responsable d'une augmentation de la captation du traceur (quantifié par le ratio de l'activité du tissu rapportée à celle du plasma) dans les zones macroscopiquement lésées, ainsi que d'une association de cette même captation avec le nombre de macrophage identifié en histologie. Bien que cette étude montre l'intérêt de la quantification non-invasive des macrophages dans ce modèle, les conditions expérimentales restent incomparables à celle d'un SDRA expérimental avec ventilation mécanique.

Hatori et al. ont proposé en 2012 la quantification de la TSPO à l'aide des radioligands [^{18}F]-FEDAC et l'ont comparé à celle du [^{11}C](R)-PK11195 chez un modèle de rat soumis à un SDRA expérimental par l'administration intra-trachéale de lipopolysaccharide (Hatori et al. 2012). Ils ont tout d'abord montré la spécificité de la liaison à la TSPO, l'injection de PK11195 froid (non lié à un radio-isotope) étant responsable d'une diminution franche de la captation des 2 radioligands dans le tissu. De plus, ils ont confirmé l'augmentation de l'expression de la TSPO en Western-blot, et sa correspondance avec la présence de polynucléaires neutrophiles et macrophages lors des études en immunohistochimie après euthanasie. Cette étude preuve de concept démontre l'intérêt de la TSPO comme récepteur cible pour quantifier l'inflammation pulmonaire aiguë faisant suite à l'induction d'un SDRA expérimental murin, et la spécificité des radioligands y ayant trait.

c. Études TEP du SDRA chez l'homme

Chez l'homme, peu d'études ont évalué le métabolisme cellulaire ou l'inflammation pulmonaire en imagerie TEP au cours du SDRA. En effet, les contraintes inhérentes à cette technique d'imagerie médicale appliquée chez un patient en état critique déplacé hors les murs de la réanimation rend ces protocoles particulièrement difficile à envisager. Néanmoins, les informations obtenues à ce jour chez l'homme atteste de l'importance de l'imagerie fonctionnelle dans l'évaluation et la prise en charge des patients atteints de SDRA.

En effet, chez 8 patients atteints de contusions pulmonaires post-traumatiques, et dont la moitié ont évolué 72h après l'examen TEP vers le SDRA, Rodrigues et al. ont montré que seuls les patients ayant une évolution vers le SDRA avaient une captation

significativement augmentée du [^{18}F]-FDG, et ceci de façon diffuse, c'est-à-dire touchant à la fois les régions non- ou pauvrement aérées, mais aussi les régions normalement aérées (Rodrigues et al. 2008). Cette étude est la première à laisser entrevoir le potentiel de la TEP dans l'évaluation en imagerie fonctionnelle de l'impact de la ventilation mécanique sur les régions aérées pulmonaires.

Trois ans plus tard, Bellani et al. démontrent chez 3 patients atteints de SDRA et ayant un ratio P_aO_2/F_iO_2 à 160±47 mm Hg en moyenne, une augmentation de la captation du [^{18}F]-FDG dans les zones normalement aérées pulmonaires, en association au stress et au strain appliqué par le respirateur et quantifié par le pression plateau et le volume courant régional mesuré au scanner (Bellani et al. 2011). Dans le contexte clinique, cette étude montre aussi l'absence d'association entre l'évaluation scanner de l'atélectrauma et l'intensité de la captation pulmonaire. La principale limite de cette étude, en dehors de celles intrinsèques à l'utilisation du [^{18}F]-FDG décrites ci-dessous, est la méthode de normalisation du macroparamètre régional K_i de captation du traceur, ayant pu induire une surestimation de celui-ci-dans les zones les plus aérées.

La plus grande étude clinique TEP a été réalisée chez 20 patients avec SDRA chez lesquels des scanners thoraciques ont été obtenus à 5 et 45 cm H_2O de pression des voies aériennes, ainsi qu'une acquisition TEP au [^{18}F]-FDG (Cressoni et al. 2016). Les auteurs ont démontré une augmentation de la captation du traceur avec l'extension des zones non-homogènes (correspondant à des régions de *stress raisers*) et la sévérité physiologique du SDRA (quantifiée par le rapport P_aO_2/F_iO_2). Les régions pulmonaires homogènes à fort métabolisme glucidique représentaient 50% du volume pulmonaire, sans association avec le gradient antéro-postérieur, tandis que les zones non-homogènes avec augmentation de la captation du [^{18}F]-FDG étaient préférentiellement distribuées dans les zones dépendantes du poumons. Chez les patients avec SDRA sévères, les régions homogènes sans augmentation de la captation du radiotraceur représentaient moins de 10% du volume pulmonaire, et la baisse de leur volume était significativement associée à la sévérité croissante des paramètres physiologiques et de mécanique respiratoire.

La seule étude à ce jour rapportant l'utilisation du [^{11}C](R)-PK11195 chez l'homme l'a été dans le cadre de l'évaluation de la réponse inflammatoire pulmonaire chez des patients atteints d'alvéolite fibrosante secondaire à une atteinte pulmonaire d'une sclérodermie systémique (Branley et al. 2008). Cependant, cette étude a observé une absence de différence significative de la fixation du radiotraceur chez les 15 patients atteints d'alvéolite comparés à 7 patients sains, voire une tendance à un degré de fixation plus faible. Plusieurs hypothèses existent pour expliquer ces résultats surprenants, radicalement opposés aux résultats des études précliniques. Tout d'abord, l'alvéolite fibrosante est une pathologie dont l'inflammation est chronique, et non aiguë comme celle du SDRA. Deuxièmement, les auteurs ont utilisé comme paramètre de quantification de la captation du traceur le ratio de l'activité tissulaire à l'activité plasmatique. Or, ce ratio peut être artificiellement augmenté en cas de diminution du débit sanguin régional, diminuant la biodisponibilité du traceur dans le poumon (Braune et al. 2019). La sclérodermie étant une pathologie à fort tropisme vasculaire pulmonaire, il est possible que cela ait significativement impacté la fixation du traceur. Troisièmement, les auteurs n'ont pas tenu compte de la présence de gaz dans les régions d'intérêt, et n'ont pas appliqué de correction pour la densité du parenchyme (Lambrou et al. 2011). Certes, les zones condensées correspondent à la fibrose caractéristique de cette pathologie, et donc faiblement inflammatoire. Mais il est possible que l'inflammation existe dans les régions non condensées, dans lesquelles l'inflammation est active mais non encore macroscopiquement indentifiable. Finalement, les auteurs ont considéré les poumons comme une seule et unique région d'intérêt, ce qui a pu effacer les différences régionales potentiellement importantes.

Pour finir, il faut retenir qu'aucune des études cliniques citées n'a rapporté d'effets indésirables graves liés au déplacement et à la réalisation des imageries TEP chez ces patients en état critique et profondément hypoxémique. Ces éléments rassurants laissent entendre le caractère non dangereux de ce type d'imagerie, auquel s'ajoute le potentiel diagnostique de ces techniques innovantes.

d. Limites du [^{18}F]-FDG pour l'évaluation de l'inflammation pulmonaire aiguë

On retient que la grande majorité des éléments bibliographiques présentés dans cette section ont utilisé le [^{18}F]-FDG comme marqueur du métabolisme cellulaire et de son augmentation, faisant le plus souvent l'amalgame avec l'inflammation pulmonaire observée en anatomo-pathologie ou quantifiée dans le sérum (Cressoni et al. 2016). Bien que cette hypothèse soit intéressante, il n'est pas certain que cela soit juste. En effet, tout d'abord le métabolisme cellulaire lié à la phosphorylation du glucose n'est pas spécifique du processus inflammatoire, les bactéries ou les pneumocytes pouvant eux aussi présenter une augmentation de la captation du glucose (Jones et al. 1997). Par ailleurs, la captation pulmonaire du FDG n'était pas associée aux biomarqueurs sériques habituels de l'inflammation dans les travaux de Cressoni et al. (Cressoni et al. 2016).

* * *

Les résultats présentés ci-dessus et concluant à l'augmentation de la « réponse inflammatoire » suite à l'application d'une agression pulmonaire aiguë donnée lorsque celle-ci est évaluée à l'aide du radiotraceur [^{18}F]-FDG sont donc à interpréter avec précaution du fait de l'absence de spécificité du métabolisme du glucose pour l'inflammation. A l'inverse, un radiotraceur spécifique d'un élément moléculaire ou récepteur-clef de la réponse inflammatoire tel que le macrophage semblerait donc plus approprié pour l'étude spécifique et non-invasive des mécanismes sous-jacents à l'inflammation pulmonaire aiguë induite par le ventilateur.

5. Le [^{11}C](R)-PK11195, radiotraceur TEP de la proteine TSPO

a. Localisation de la TSPO et rôle

La protéine TSPO (translocator protein) aussi connue sous le nom de PBR (Peripheral Benzodiazepine Receptor) est un récepteur monomérique à 5 domaines transmembranaires, de poids moléculaire 18 kDa, situé à la surface de la membrane externe des mitochondries. Son action de récepteur transmembranaire est possible sous

la forme d'un monomère isolé, en homopolymère, ou en hétéropolymère associé à d'autres éléments protéiques de la membrane mitochondriale, incluant le pore de transition (Azarashvili et al. 2005). Son action est multiple, et inclut le métabolisme mitochondrial du cholestérol ainsi que la régulation du rythme cardiaque étant donné son interaction avec des canaux transmembranaires calcium-dépendants. Son expression est ubiquitaire, mais elle est principalement retrouvée à l'état physiologique dans le cœur, les reins, le foie et les éléments figurés du sang chez le mammifère (Papadopoulos et al. 2006).

La TSPO a été localisée par autoradiographie sur les mitochondries des macrophages présents dans différents tissus soumis à un stimulus inflammatoire : cerveau (cellules dendritiques), arthrite ou encore athérosclérose (Kropholler et al. 2009). Son expression à la surface de la mitochondrie du macrophage est augmentée en cas de stimulus pro-inflammatoire (Laitinen et al. 2009, Daugherty et al. 2013). L'expression de la TSPO est augmentée au cours de processus neuro-inflammatoires ou de l'inflammation associée à l'athérosclérose, et est associée à la production de radicaux libres de l'oxygène. Sa stimulation par un agoniste, l'etifoxine, conduit à une réduction de l'œdème péri-lésionnel au cours de modèles expérimentaux d'hémorragie intracérébrale, ainsi que de la production de cytokines pro-inflammatoires (Li et al. 2017).

Sur le plan pulmonaire, l'expression de la TSPO était significativement augmentée dans un modèle de poumon isolé perfusé soumis à une stress pro-inflammatoire (injection intraveineuse d'adjuvant de Freund) chez le rat (Audi et al. 2002). Sa quantification en imagerie TEP par le [^{123}I](R)-PK11195 montre une augmentation significative chez les rats avec un SDRA expérimental induit par l'injection de lipopolysaccharides, comparativement à des animaux sains (Hardwick et al. 2005). Pour finir, il a été démontré une augmentation de la présence de TSPO quantifiée à l'aide d'un traceur TEP spécifique, le [^{18}F]-FEDAC, au cours d'un modèle d'agression pulmonaire aiguë (*acute lung injury*) expérimentale chez le rat (Hatori et al. 2012).

b. [^{11}C](R)-PK11195 : généralités

Le [^{11}C](R)-PK11195 est le premier radiotraceur TEP créé pour se lier spécifiquement à la TSPO. La dénomination complète de la molécule est [N-methyl-^{11}C]-

1-(2-chlorophenyl)-N-(1-methylpropyl)-3-isoquinoline-carboxamide. C'est un composé hautement lipophile, ayant la caractéristique d'être facilement piégé de manière non-spécifique entre les deux couches lipidiques de la membrane cellulaire (Hatty et al. 2014). Il existe deux formulations du [^{11}C](R)-PK11195, soit une forme racémique, soit purement composé de l'énantiomère R. Le PK11195 a parfois été associé à d'autres radio-isotopes, tel que l'iode ^{123}I ou l'hydrogène ^{3}H.

Le radio-isotope [^{11}C]-carbone porté par le [^{11}C](R)-PK11195 présente l'intérêt d'être incorporé par des liaisons covalentes dans la structure de biomolécules sans en altérer les propriétés, ce qui est particulièrement pertinent lors de la production d'un ligand devant se lier à son récepteur (Zimmer et al. 2012). Le [^{11}C]-carbone offre le second avantage d'avoir une demi-vie courte, de 20.4 minutes, laissant envisager la réalisation séquentielle d'examens TEP afin de pouvoir étudier, par exemple, un processus biologique avant et après une intervention.

Chez l'homme, et à l'état physiologique, le [^{11}C](R)-PK11195 se distribue principalement dans les tissus riches en TSPO à l'état basal, et par les voies d'élimination naturelles : les surrénales, les reins, le myocarde et les vertèbres, la vessie (excrétion urinaire), et le foie (élimination hépatobiliaire) (Hirvonen et al. 2010). Il est rapidement métabolisé, avec 60% de composé parent encore disponible 40 minutes après son injection intraveineuse (Kropholler et al. 2009). La fixation est faible dans le poumon chez l'homme sain (Roivainen et al. 2009).

c. Le [^{11}C](R)-PK11195 et inflammation

Le développement du [^{11}C](R)-PK11195 comme radiotraceur a débuté par l'évaluation et la quantification de l'inflammation suite à une lésion cérébrale. Il est actuellement reconnu comme marqueur de l'inflammation lié à l'activation de la microglie (soit les macrophages résidents du parenchyme cérébral) et des astrocytes dans le contexte de la maladie d'Alzheimer, de la sclérose en plaques, ou de l'accident vasculaire cérébral (Banati et al. 2000, Kropholler et al. 2005, Cagnin et al. 2007, Rissanen et al. 2014, Wang et al. 2014). Il est actuellement reconnu que son principal désavantage est un ratio signal-bruit faible, propice à une perte de sensibilité du signal (Zimmer et al. 2012).

Le [^{11}C](R)-PK11195 a aussi été utilisé sur le plan expérimental dans l'étude de l'inflammation vasculaire et arthritique (van der Laken et al. 2008, Kropholler et al. 2009, Pugliese et al. 2010, Lamare et al. 2011). Dans le poumon et chez la souris, la fixation du [^{11}C](R)-PK11195 était significativement augmentée suite à l'exposition à des microparticules de silice amorphe ou microcristalline, en lien avec une augmentation de la population de macrophages pulmonaires suite à ces agressions (Jones et al. 2002). Dans cette même étude, la fixation du radiotraceur était identifiée comme étant exclusivement localisée au niveau des macrophages lors de l'étude en micro-autoradiographie du liquide articulaire soumis à un stimulus pro-inflammatoire (injection intra-articulaire de souches de *Streptococcus pneumoniae*). Comme cité plus haut, la fixation du [^{123}I](R)-PK11195 était significativement augmentée au cours d'un modèle de SDRA par injection de lipopolysaccharides (Hardwick et al. 2005) ; le même résultat, soit une augmentation spécifique de la fixation du radioligand [^{11}C](R)-PK11195, était observé dans un modèle de SDRA par instillation intra-trachéale de lipopolysaccharides (Hatori et al. 2012). Chez l'homme, la fixation pulmonaire du [^{11}C](R)-PK11195 n'était pas significativement plus élevée chez des patients atteints d'alvéolite sclérosante secondaire à une sclérodermie systémique, soit un processus inflammatoire chronique au cours duquel les macrophages jouent un rôle prépondérant (Branley et al. 2008). Avant le présent travail, le [^{11}C](R)-PK11195 n'avait jamais été évalué dans la quantification d'une réponse inflammatoire aiguë pulmonaire spécifique de la ventilation mécanique chez le gros animal.

d. Méthodes de quantification et modélisation du [^{11}C](R)-PK11195

A ce jour, la quantification de la fixation TEP du [^{11}C](R)-PK11195 repose principalement sur l'utilisation de la SUV, ou sur l'utilisation d'un modèle pharmacocinétique bicompartimental et réversible avec région de référence, développé en particulier dans le cadre d'études TEP cérébrales (Kropholler et al. 2005).

Il semble que la SUV puisse être quantifiée en utilisant la radioactivité moyenne mesurée entre 20 et 40 minutes après le début de l'acquisition (correspondant au moment de l'injection), sans dégradation du signal comparativement à la SUV mesurée entre 40 et 60 minutes (Kropholler et al. 2009). Les limites de la SUV sont les mêmes que

décrites ci-dessus : biais lié au volume de sang dans la région d'intérêt, erreurs de mesure liées au spillover et à l'effet de volume partiel. S'y ajoute la question de la correction pour la densité tissulaire du poumon, susceptible de sous-estimer raison de la présence d'œdème alvéolaire ou interstitiel, ou de surestimer en cas de non prise en compte de ce phénomène, la fixation du traceur (Lambrou et al. 2011).

Le modèle à 2 compartiments réversible dit de Sokoloff est jusqu'à présent reconnu comme étant le modèle de référence pour la quantification de la fixation du traceur dans le tissu cérébral et articulaire (Kropholler et al. 2005, Kropholler et al. 2009). Il permet de quantifier le potentiel de liaison (binding potential) du traceur par le ratio des constantes de transfert k_3 et k_4. Dans les vaisseaux, il est préféré un modèle à 1 compartiment et 2 constantes pour l'étude de sa captation dans le cadre de l'inflammation de la paroi vasculaire (Pugliese et al. 2010, Lamare et al. 2011).

L'utilisation de modèles pharmacocinétiques avec fonction d'entrée plasmatique est rendue obligatoire dans le cas d'un modèle expérimental d'agression pulmonaire aiguë bilatérale (c'est-à-dire touchant les 2 poumons), l'identification d'une région d'intérêt saine de référence étant intrinsèquement impossible. La modélisation avec fonction d'entrée plasmatique est rendue néanmoins laborieuse du fait du degré élevée de métabolisation du composé parent, et des difficultés de dosage de ces métabolites. A ce jour, aucun modèle de ce type n'a été proposé dans le cadre de l'imagerie TEP au [^{11}C](R)-PK11195 du poumon agressé.

e. L'hypothèse de la fixation non spécifique du [^{11}C](R)-PK11195

Il est intéressant de noter que le tissu cérébral du rat présente un degré important de fixation non spécifique du [^{11}C](R)-PK11195, et que le cerveau humain sain est capable de fixer le [^{3}H](R)-PK11195 sans pour autant être lié à la microglie (et donc à la TSPO) (Shah et al. 1994, Banati et al. 2000). Il faut aussi noter que les études pharmacocinétiques utilisant une région de référence et celles utilisant une fonction d'entrée plasmatique ne s'accordent pas sur la valeur basale du potentiel de fixation du [^{11}C](R)-PK11195, avec une sous-estimation dans le cas du modèle avec région de référence (Kropholler et al. 2005). Une hypothèse pour expliquer ces résultats est que le tissu de référence est lui-même le lieu d'une captation non-spécifique du traceur. Ainsi,

et comme évoqué par Kropholler et al., il semble donc exister un compartiment pharmacocinétique non pris en compte par le modèle à 2 compartiments avec fonction d'entrée, responsable d'une fixation non-spécifique et irréversible du traceur. Cette hypothèse est aussi soutenue par les caractéristiques physiques du composé, hautement lipophile, et le fait qu'il soit capable d'être piégé de façon irréversible entre les 2 couches lipidiques de la membrane cellulaire (Hatty et al. 2014). Finalement, il n'a jamais été démontré que les métabolites du [^{11}C](R)-PK11195 ne soient pas eux aussi captés et responsables d'une fraction inconnue de la captation tissulaire non-spécifique.

PARTIE 2. METHODOLOGIES DE L'IMAGERIE TEP-SCANNER

Dans cette partie, nous développerons plus en détails les éléments technologiques, méthodologiques et conceptuels qui constituent l'imagerie pulmonaire fonctionnelle et quantitative telle que réalisée à l'aide de la TEP et du scanner pulmonaire quantitatif.

1. TOMOGRAPHIE PAR EMISSION DE POSITRONS

a. Principes

La TEP est une modalité d'imagerie médicale reposant sur l'administration d'un composé chimique – appelé radiotraceur – émetteur de positron β+ (ou e^+) du fait de la présence d'un radio-isotope dans sa composition (Schuster 1998, Richard 2011). Le composé chimique peut être le radio-isotope lui-même, comme dans le cas du diazote [^{13}N]-N_2 inhalé pour l'imagerie de la ventilation, ou être incorporé dans la structure d'un vecteur, comme dans le cas du [^{11}C](R)-PK11195.

L'émission d'un positon par le radio-isotope est immédiatement suivie de son annihilation avec un électron sous la forme de 2 photons γ émis à 180° l'un de l'autre. La caméra TEP détecte les photons en coïncidence, c'est-à-dire 2 photons ayant été détectés au même instant par la caméra (avec une fenêtre temporelle de tolérance). La détection simultanée des 2 photons trace une droite passant par le point d'annihilation, appelée droite de réponse (Bailey 2005). L'énergie théorique d'un photon est de 511 keV,

mais celle-ci peut varier en cas d'interaction avec la matière, pouvant en diminuer l'énergie. En effet, un certain nombre de phénomènes sont responsables d'un biais de mesure : l'absorption du photon par effet photo-électrique, la déviation du photon par l'effet Compton, l'atténuation induite par la traversée des tissus situés entre le lieu de l'annihilation et la caméra, et enfin la détection aléatoire de 2 photons non émis par la même annihilation mais étant détectés au même instant (Bockisch et al. 2004).

La détection des photons par les cristaux scintillants couplés à des photomultiplicateurs composant la caméra est ensuite convertie en signal électrique. Afin de maximiser le nombre de détections de photons, la durée d'acquisition de la TEP va être déterminée par le type de radio-isotope, le tissu d'intérêt, et la vitesse du processus biologique étudié par le radiotraceur. Le signal est alors stocké au format numérique sous la forme d'un sinogramme reprenant les coordonnées des lignes de réponses. Secondairement, il est effectué une reconstruction du sinogramme sous la forme d'une matrice de voxel en 3 dimensions (3D) correspondant au champ de vue. Dans le cas de l'imagerie TEP dynamique (ou 4D), cette image 3D est reconstruite à des intervalles de temps prédéfinis, appelés fenêtres (ou *frames*), répartis chronologiquement sur la durée d'acquisition totale de l'examen. On obtient donc une image quantitative de la radioactivité répétée dans le temps, permettant la production de courbe dite de temps-activité (*time-activity curves* ou TAC), correspondant à la concentration de radioactivité au cours du temps dans une région d'intérêt donnée.

Le processus de reconstruction comprend aussi une correction pour l'atténuation, la diffusion, et les détections aléatoires de photons, et la conversion des coïncidences détectées en unité du système international. Les systèmes d'acquisitions les plus récents permettent aussi une estimation du temps de vol du photon (*time of flight*), et donc une meilleure identification de la position de l'annihilation le long de la ligne de réponse. Le signal est aussi corrigé pour la décroissance radioactive, en prenant comme temps de référence le moment de l'injection du traceur (Bailey 2005).

b. Radiotraceurs

La réalisation d'un examen TEP requiert l'administration d'un composé pharmacochimique dont l'un des éléments est un radio-isotope émetteur de positons.

Un radiotraceur participe au processus biologique étudié en se fixant à un récepteur, en étant le substrat d'une enzyme d'intérêt, ou encore en étant transporté vers le milieu intracellulaire par un transporteur d'intérêt. Les radiotraceurs sont considérés sur le plan réglementaire comme des médicaments injectables, et doivent donc se conformer à la réglementation en vigueur (stérilité, absence de pyrogène, traçabilité).

Le radiotraceur TEP idéal est un agent dont l'interaction avec la cible moléculaire est hautement spécifique et sans phénomène d'accumulation. Il se doit d'être peu onéreux, non toxique pour l'individu, et facilement synthétisable. Il est important que la demi-vie de l'isotope soit suffisante pour que celui-ci puisse être facilement manipulé, transporté entre le site de production et le site d'utilisation, mais sans être excessive afin de pouvoir répéter les examens chez un même sujet dans un laps de temps court. Le radiotraceur idéal diffuse facilement dans les tissus et ne produit pas de métabolites radioactifs pouvant nuire à la qualité et à la spécificité du signal, contribuant à un ratio signal-bruit élevé.

Le radiotraceur actuellement le plus communément utilisé en imagerie médicale est le [^{18}F]-FDG. Son injection intraveineuse permet la quantification du métabolisme glucosé dans l'organisme, et donc d'identifier les tissus hypermétaboliques comme les cellules tumorales (Boellaard 2009). De ce fait, le[^{18}F]-FDG est aussi utilisé pour quantifier in vivo et de façon non-invasive des processus inflammatoires, bien que le métabolisme intracellulaire du glucose ne soit pas spécifique de l'inflammation.

c. Quantification de la captation du traceur par la SUV

Comme de nombreux traceurs, au premier rang desquels le [^{18}F]-FDG, la façon la plus simple de quantifier la captation du traceur dans un région d'intérêt donnée est de calculer sa SUV (Thie 2004). La SUV correspond à la mesure de la radioactivité dans une région donnée, normalisée par celle mesurée théoriquement dans l'organisme entier en cas de distribution homogène du traceur dans un tissu dont la densité serait celle de l'eau. La valeur théorique de la radioactivité du corps entier correspond à la dose injectée de traceur rapportée à un élément morphométrique caractérisant le patient (poids, taille, surface corporelle) en faisant l'hypothèse que la densité de l'organisme de 1 g.ml^{-1}. Cette valeur, sans unité, se calcule à l'aide la valeur maximale ou moyenne de radioactivité

mesurée en fin d'acquisition TEP (par exemple entre 20 et 40 minutes après l'injection), car c'est alors qu'elle devient corrélée aux constantes calculées à l'aide de méthodologies plus complexes comme la modélisation pharmacocinétique.

La principale force de la SUV est sa simplicité d'utilisation, ne requérant que très peu de puissance de calcul, et un temps de traitement de l'image très faible. Sur le plan quantitatif, son intérêt est inférieur à celui de la mesure du K_i dans le cas de la quantification de l'activité métabolique d'une tumeur par l'injection de [^{18}F]-FDG (Braune et al. 2019, Prando et al. 2019). Elle permet cependant une comparaison simple de la variation de la captation du traceur chez un même patient au cours du temps, et éventuellement la comparaison entre patients. Elle a l'avantage d'être mesurable quand aucun modèle pharmacocinétique n'est disponible pour un traceur donné.

La SUV est néanmoins considérée comme une mesure semi-quantitative, et non quantitative, de la fixation d'un radioligand du fait d'un nombre important de biais et d'erreurs intrinsèquement liés à sa mesure. On retiendra surtout que dans un tissu donné, l'injection intraveineuse du traceur vient impacter le signal radioactif mesuré, en particulier si la fraction de volume de sang dans la région est non négligeable (> 5%). De même, dans le cas spécifique du poumon, un même volume de région pulmonaire, peut contenir une quantité de gaz variable, influant sur la radioactivité mesurée, et donc sous-estimer ou surestimer sa SUV en fonction du degré d'aération (Lambrou et al. 2011). Cet élément central de la TEP pulmonaire est discuté ci-dessous.

La mesure de la SUV est aussi soumise eux effets de spillover et de volume partiel que nous décrivons dans une section spécifique. De plus, la fenêtre temporelle de l'acquisition TEP qui sera utilisée pour le calcul de la SUV impactera sa valeur si elle n'est pas gardée constante entre 2 études TEP (Keyes 1995). Il faut aussi tenir compte de la présence potentielle de métabolites du traceur dans le tissu, tout comme sa distribution et sa captation non-spécifique au phénomène biologique étudié, indiscernable s'il l'on ne considère que la radioactivité mesurée. Ce biais de mesure en lien avec la présence de métabolites du traceur est d'autant plus pertinent si les conditions expérimentales ou la pathologie du patient viennent en augmenter ou en diminuer la production : hyperdébit cardiaque et augmentation du métabolisme hépatique (en cas de fièvre, de sepsis, de

douleur) ou prise d'un traitement venant significativement inhiber le métabolisme du traceur.

D'autres méthodes non basées sur des modèles pharmacocinétiques sont largement utilisées, comme l'analyse graphique de Patlak (pour les ligands irréversibles) ou de Logan (pour les ligands réversibles). Elles ont l'avantage d'être moins influencées par le bruit de mesure, mais restent influencées par le niveau d'aération régional. Leurs caractéristiques ne seront pas développées ici.

d. Modélisation pharmacocinétique compartimentale en imagerie TEP

i. Généralités

La modélisation pharmacocinétique multicompartimentale est la méthode de référence pour la quantification d'un phénomène biologique en imagerie TEP (Sokoloff et al. 1977, Phelps et al. 1979, Mintun et al. 1984). Son utilisation est très largement répandue pour la mesure du débit sanguin (en particulier cérébral) à l'aide [^{15}O]-H_2O, de la captation du glucose par la cellule dans le cas du [^{18}F]-FDG, ou la fixation de neurotransmetteurs d'intérêt comme le [^{11}C](R)-PK11195 (Gunn et al. 2001, Bailey 2005).

La modélisation repose sur la conceptualisation du transfert du radiotraceur dans des compartiments dont l'existence est physiologiquement, biologiquement ou anatomiquement plausible. Le modèle quantifie ces transferts intercompartimentaux par la détermination de constantes de transfert K_1, k_2, k_3, etc. Ces constantes sont en nombre pair en cas de fixation réversible du traceur, et impair en cas de fixation irréversible. Il est possible d'ajouter à la définition du modèle un volume de sang régional, correspondant à une fraction F_{sang} de la radioactivité du sang total, afin de tenir compte du signal radioactif lié à la présence des vaisseaux sanguins dans la région étudiée (Gunn et al. 2001). Ceci est particulièrement pertinent pour les organes très vascularisés, comme le sont les poumons. F_{sang} devient donc une inconnue supplémentaire à déterminer à l'aide du modèle. Des exemples de modèles pharmacocinétiques multicompartimentaux sont présentés dans la Figure 3.

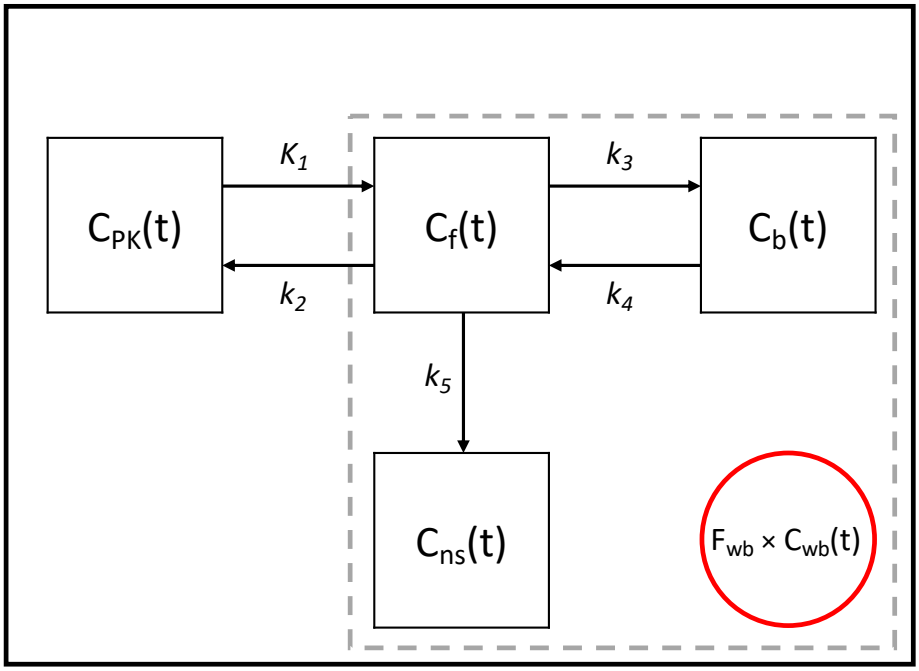


Figure 3. Exemple d'un modèle pharmacocinétique multicompartimental.

Le modèle décrit la distribution d'un radio-ligand, le [^{11}C](R)-PK11195 dans un tissu biologique, à partir d'une concentration plasmatique $C_{PK}(t)$. Le cadre en pointillé gris désigne la zone d'intérêt sur laquelle est réalisée la mesure TEP. Cette région est conceptuellement divisée en 3 compartiments, chacun décrit par le biais d'une concentration radioactive : la concentration du traceur libre $C_f(t)$ dans le tissu, la concentration de traceur lié spécifiquement et de façon réversible à son récepteur $C_b(t)$, et la concentration de traceur capturé de façon irréversible et non spécifique $C_{ns}(t)$. A cela s'ajoute une concentration fractionnelle F_{wb} du volume de sang compris dans la région estimée à partir de la fraction de la radioactivité du sang total mesurée. Le modèle requiert la résolution et la détermination de 5 constantes cinétiques et de F_{wb}. La constante cinétique K_1 décrit l'entrée du traceur dans le tissu à partir du plasma, la constante k_2 sa sortie depuis le tissu vers le plasma, la constant k_3 décrit la fixation du traceur à son récepteur, la constante k_4 la dissociation de celui-ci, et la constante k_5 la capture irréversible du traceur dans le compartiment non spécifique.

La concentration d'un traceur dans un tissu repose principalement sur deux éléments : la fonction d'entrée et la physiologie du traceur dans celui-ci. La physiologie du traceur dans le tissu peut être décrite de façon plus ou moins complexe. Un modèle complexe décrira complétement le processus physiologique qu'il décrit, mais sera le plus souvent difficilement définissable du fait du nombre élevé d'inconnues comparativement

au nombre de données disponibles pour la résolution du modèle, et sa résolution sera gênée par le bruit de mesure intrinsèque aux mesures TEP. A l'inverse, un modèle simplifié omettra une part importante de la physiologie du traceur dans le tissu, et ne permettra pas d'expliquer l'ensemble des données. Un compromis entre complexité et sur-simplification est donc nécessaire lors du développement du modèle. Un modèle idéal permet d'expliquer le phénomène de distribution du traceur dans un tissu de façon plus sensible qu'un paramètre modèle-indépendant (comme la SUV), et le rend plus largement utilisable quand les conditions d'utilisation ou expérimentales varient, tout en en diminuant la variabilité de sa quantification (Bailey 2005).

Un certain nombre de postulats sont nécessaires à leur développement, tels que la mixtion immédiate du produit dans les compartiments à l'équilibre ou encore que la concentration de traceur ne vienne pas perturber le fonctionnement du système étudié. A partir de ceux-ci, la détermination de la valeur des constantes de transfert devient possible à l'aide de la résolution d'équations différentielles du premier ou second ordre, et de leur ajustement aux données mesurées à l'aide de régressions non linéaires par la méthode des moindres carrés (Feng et al. 1999). Ces données correspondent à la radioactivité mesurée dans la région d'intérêt, soit la somme des radioactivités à un instant *t* donné dans chacun des compartiments. Il est intéressant d'inclure une fraction de sang et donc la détermination d'un paramètre spécifique à celle-ci dans la résolution du modèle, en particulier si la fraction de sang dans la région étudiée est amenée à varier au cours du temps, ou entre différentes régions, comme cela peut être le cas dans le poumon (Gunn et al. 2001).

La plupart des modèles pharmacocinétique sont de type « à fonction d'entrée plasmatique », c'est-à-dire qu'ils nécessitent la mesure de la concentration radioactive spécifique du radioligand contenu dans le plasma et entrant dans le tissu étudié. On oppose à ces modèles, les modèles avec région de référence, dans lesquels la région étudiée est comparée à une région de référence dont on sait que la radioactivité mesurée en son sein correspond au comportement basal du traceur. Cette méthodologie est particulièrement populaire dans les études TEP cérébrales (Morris 2004).

ii. Microparamètres et macroparamètres

A partir de la valeur (estimée) des constantes de transfert (les microparamètres), il est intéressant de calculer certaines grandeurs, appelées macroparamètres, résumant la captation ou la fixation du radioligand. Dans le cas d'un radioligand dont la fixation est réversible, on définit cette grandeur comme correspondant au potentiel de liaison, comparable au concept de pharmacologie analytique, soit le « vrai » potentiel de fixation au récepteur. Trois types de potentiel de liaison ont été définis dans la littérature de façon consensuelle (Innis et al. 2007) :

- le potentiel de liaison BP_F correspondant à la concentration de radioligand spécifiquement lié dans le tissu, rapporté à la fraction libre de radioligand dans le tissu $BP_F = \frac{K_1 \times k_3}{f_P \times k_2 \times k_4}$ avec f_P la fraction plasmatique du composé parent
- le potentiel de liaison BP_P correspondant à la concentration de radioligand spécifiquement lié dans le tissu, rapporté à la fraction plasmatique de radioligand non métabolisé $BP_P = \frac{K_1 \times k_3}{k_2 \times k_4}$
- le potentiel de liaison BP_{ND} correspondant à la concentration de radioligand spécifiquement lié dans le tissu, rapporté à la fraction non déplaçable de radioligand dans le tissu $BP_{ND} = \frac{k_3}{k_4}$.

Toutes les formulations du potentiel de liaison ont été utilisées dans la littérature. BP_F présente le désavantage d'être sensible aux erreurs de mesure de la fraction plasmatique, bien qu'elle semble la formulation idéale. BP_{ND} est la formulation la plus simple, car n'étant ni corrigée pour la fraction plasmatique ni pour la fraction non déplaçable de radioligand dans le tissu. Nous faisons alors l'hypothèse, en cas de comparaison entre groupe, que cette fraction non déplaçable ne varie pas significativement. Il offre aussi l'opportunité de rendre comparable deux modèles différents, en particulier si l'un d'entre eux à un nombre impair de constantes de transfert.

Pour les modèles décrivant la fixation ou la captation irréversible du traceur, comme c'est le cas pour le [^{18}F]2-fluoro-2-déoxy-D-glucose, le macroparamètre le plus souvent utilisé est la constante de captation nette K_i (Chen et al. 2017). Sa valeur correspond dans le cas d'un modèle à 2 compartiments et à fonction d'entrée plasmatique à la valeur suivante :

$$K_i = \frac{K_1 \times k_3}{(k_2 + k_3)} \text{ en ml.min}^{-1}\text{.ml}^{-1} \quad \text{Eq. 4.}$$

iii. Principes mathématiques de la modélisation

La résolution des modèles repose sur sa formulation mathématique à l'aide d'équations différentielles du premier ordre (exemple d'un modèle à un compartiment tissulaire C_F) (Fishwick 2007) :

$$\frac{\partial C_F(t)}{\partial t} = K_1 \cdot C_p(t) - k_2 \cdot C_F(t) \quad \text{Eq. 5.}$$

La résolution de ces équations requiert l'utilisation d'une transformation de Laplace afin de convertir l'équation dans le domaine des fréquences, en sachant qu'à t=0, la concentration du radioligand dans les différents compartiments est nulle (Lobontiu 2018) :

$$s \cdot C_F(t) = K_1 \cdot C_p(s) - k_2 \cdot C_F(s) \quad \text{Eq. 6.}$$

$$C_F(s) = \frac{K_1}{(s + k_2)} \cdot C_p(s) \quad \text{Eq. 7.}$$

Puis, nous appliquons la transformation inverse de Laplace :

$$C_F(t) = K_1 \cdot e^{-k_2 \cdot t} \otimes C_p(t) \quad \text{Eq. 8.}$$

La résolution de l'équation est réalisée par régression non linéaire à l'aide de la méthode des moindres carrés, en utilisant le résultat de la convolution présentée dans l'équation 13 à l'aide de la fonction d'entrée plasmatique, et appliqué à la mesure de la radioactivité mesurée dans la région d'intérêt (correspondant à $C_F(t)$ dans notre exemple) à partir de valeurs initiales supposées des constantes à déterminer. Cete méthode

requiert une puissance de calcul informatique importante. Il peut être parfois nécessaire d'appliquer des contraintes à l'algorithme de résolution, ceci afin de limiter le champ sur lequel il va faire varier les inconnues du modèle (dans notre cas, les constantes de transfert, la fraction F_{wb} de sang dans le tissu, etc.). Par exemple, dans le cas des modèles pharmacocinétiques appliqués à la TEP, il est possible de définir comme contrainte le fait que la constante de transfert puisse être nulle ou positive, mais ne peut en aucun cas (pour des raisons physiologiques) être négative.

Il est parfois nécessaire, du fait du plus faible nombre de coups captés par la caméra par fenêtre de temps en fin d'acquisition, entrainant une augmentation de l'imprécision dans la mesure et un poids plus faible de ces statistiques lors de la résolution du modèle, d'appliquer une pondération pour la statistique du comptage (Morris 2004). Différentes méthodes existent pour appliquer cette correction par pondération, et doivent être testées lors du développement du modèle afin de contribuer à l'amélioration de la solution régressive.

iv. Fonction d'entrée du modèle

Un enjeu majeur de l'utilisation de modèles pharmacocinétiques pour la description de la captation du radioligand dans les tissus étudiés est l'obtention d'une fonction d'entrée plasmatique du composé parent de qualité. La fonction d'entrée correspond à la concentration radioactive au cours du temps du composé parent contenu dans le plasma du sang artériel et entrant dans l'organe ou le tissu étudié. Il est alors nécessaire de faire l'hypothèse que 1- seule la fraction plasmatique est disponible pour diffuser dans les tissus, et 2- les métabolites ne diffusent pas librement dans le tissu (Gunn et al. 2001, Bailey 2005). Dans le cadre d'études TEP pulmonaires, la fonction d'entrée est idéalement mesurée dans l'artère pulmonaire.

La fonction d'entrée se quantifie habituellement de façon invasive par la réalisation de prélèvements sanguins répétés tout au long de l'acquisition TEP. La radioactivité du sang total peut alors être mesurée dans un compteur gamma, permettant d'obtenir une courbe temps-activité du sang total. Il est essentiel que le compteur gamma soit calibré à la caméra TEP afin que les concentrations radioactives calculées à partir du nombre de coups de la caméra TEP soit bien en adéquation avec le

nombre de coups mesuré par le compteur gamma. Toutes les mesures invasives doivent être corrigées pour la décroissance radioactive.

La centrifugation du sang total permet d'isoler le plasma des éléments figurés du sang en prélevant le surnageant obtenu suite à celle-ci. Le ratio des concentrations radioactives du sang et du plasma $f_{P2B}(t)$ permet l'obtention d'une courbe temps-activité plasmatique :

$$C_{plasma}(t) = C_{sang}(t) \times f_{P2B}(t) \qquad \text{Eq. 9.}$$

Afin de connaitre la concentration exacte de composé parent (soit non métabolisé) du traceur étudié, il est nécessaire de connaitre la fraction de métabolites $f_{métabo}(t)$ générés au cours du temps à la suite à son injection intraveineuse, ceci afin de la soustraire à la fonction d'entrée plasmatique. La cinétique de métabolisation du traceur peut varier en fonction des conditions expérimentales chez un même sujet ou entre les sujets (facteurs physiologiques ou génétiques), ce qui implique qu'il faut idéalement quantifier la fraction de métabolites chez chaque individu et à chaque temps d'étude. Cependant, en pratique, les courbes temps-activité des métabolites sont souvent bruitées, les données souvent manquantes, et la méthodologie laborieuse en pratique courante, justifiant l'utilisation de courbes dites populationnelles à partir de données obtenues chez un échantillon de sujets partageant certaines caractéristiques communes : espèce, poids, taille, sexe (Kropholler et al. 2009). Il est alors possible de modéliser le taux de métabolisation au cours du temps à l'aide d'une fonction exponentielle par exemple. On obtient alors la courbe temps-activité du composé parent présent dans le plasma au cours du temps suivante :

$$C_{parent}(t) = C_{plasma}(t) \times (1 - f_{métabo}(t)) \qquad \text{Eq. 10.}$$

v. Fonction d'entrée non-invasive

L'obtention de prélèvements sanguins répétés est associée à un ensemble de désavantages pour le sujet ou pour la qualité de l'étude. En effet, les prélèvements sanguins peuvent être douloureux et/ou responsables d'une spoliation sanguine. Il peut aussi exister une imprécision liée à l'utilisation d'un autre dispositif, certes calibré, pour

la quantification de la radioactivité du compartiment sanguin, comparativement à celle mesurée par la caméra TEP.

Il a donc été proposé de quantifier la fonction d'entrée directement dans l'image TEP en plaçant une région d'intérêt dans la lumière d'un vaisseau artériel en amont du tissu d'intérêt. Lorsque la fonction d'entrée non invasive se situe dans les cavités cardiaques, il est alors nécessaire de prendre en compte les phénomènes de volume partiel et de *spillover*, en particulier si la captation du traceur de l'étude se fait au niveau du myocarde (Schroeder et al. 2007). Il est donc nécessaire d'utiliser une méthodologie de normalisation de la fonction non invasive, soit en appliquant des algorithmes de correction basés sur la géométrie de la région de mesure, soit à l'aide des échantillons invasifs qui permettront de corriger l'effet sur la courbe mesurée dans l'image de ces deux phénomènes générateurs de biais (Zanotti-Fregonara et al. 2011).

Un élément essentiel est l'utilisation de fenêtres d'acquisition courtes (< 12 secondes) à la phase initiale de l'acquisition TEP afin d'obtenir la meilleure granularité de données possible lorsque les variations de concentration radioactive dans le sang sont importantes. L'utilisation de fenêtres de durée excessive à la phase initiale de la courbe temps-activité a pour conséquence une erreur dans la détermination des constantes de transfert d'entrée dans le tissu (K_1 et k_2) (Girard et al. 2020). Une seconde difficulté peut être l'identification sur l'image TEP de la lumière vasculaire, en particulier chez le petit animal, pouvant être responsable d'un débordement de la région d'intérêt sur les structures adjacentes et donc une erreur de mesure. L'utilisation du scanner et éventuellement l'aide d'un repère intraluminal (comme un cathéter artériel pulmonaire) pour repérer le vaisseau facilite le bon positionnement de la région d'intérêt.

Une fois la courbe temps-activité de la fonction d'entrée non invasive obtenue, il est facile d'y appliquer la correction pour la fraction plasmatique et la fraction de métabolites comme décrits ci-dessus.

vi. Validation du modèle

Plusieurs étapes sont nécessaires à la validation d'un modèle. Tout d'abord, il est nécessaire d'opposer à la quantification du phénomène étudié par la TEP, à la

quantification de ce même phénomène à l'aide d'une méthode de référence indiscutable. La méthode de référence est le plus souvent réalisée chez l'animal, en prélevant par exemple un morceau de tissu, et en quantifiant le nombre de récepteurs ciblés dans le cas d'un radioligand TEP. Cette quantification est alors comparée aux résultats du modèle pharmacocinétique (Bailey 2005).

Ensuite, la qualité de l'ajustement du modèle aux données mesurées doit être évaluée, à la recherche d'une distribution non-aléatoire de ses résidus. Les résidus correspondent, pour chaque valeur de x (ou t) à la différence entre la valeur observée et la valeur prédite par le modèle. En présentant les résidus en fonction de la valeur de x, il est facile d'identifier si le modèle est associé à une distribution aléatoire des résidus, centrés sur zéro, ou s'il existe un biais identifiable par une proportionnalité entre la valeur de x et celle des résidus.

La troisième étape de validation consiste en l'évaluation de l'impact qu'aurait une erreur dans les données entrées dans le modèle sur le résultat de celui-ci. Pour cela, une méthode largement répandue consiste à réaliser des simulations selon la méthode de Monte Carlo (Kropholler et al. 2005). Brièvement, cette méthode consiste en l'application d'une erreur à une variable entrée dans le modèle (par exemple le délai d'arrivée régional du traceur dans le tissu) et l'évaluation du biais induit sur le résultat de la résolution du modèle lorsque l'on utilise pour sa résolution des paramètres idéaux (fonction d'entrée non bruitée, microparamètres habituellement mesurés). Il est possible d'ajouter un bruit aux données à la simulation, afin d'estimer l'impact que celui présent dans l'image a sur les résultats. On obtient alors des milliers de courbes temps-activité bruitées pour chaque degré d'erreur, sur lesquelles le modèle est à nouveau appliqué. La résolution du modèle à partir de ces milliers de simulation, permet de quantifier un biais en faisant la différence entre le paramètre idéal sans erreur, et la valeur obtenue à partir de la donnée simulée.

e. Avantages et limites de la TEP

i. Avantages

Le principal intérêt de la TEP est de pouvoir étudier un processus biologique avec un très haut niveau de sensibilité et de spécificité, dès lors qu'un vecteur spécifique est disponible et qu'il puisse être associé à un radio-isotope. Il est donc possible d'étudier

spécifiquement un phénomène biologique in vivo et de façon répétée, avec une résolution spatiale permettant de le localiser et d'en quantifier l'intensité. En effet, la TEP est particulièrement sensible et capable de détecter des concentrations de l'ordre du pico-molaire.

ii. Limites communes à tout type d'examen TEP

La première limite de la TEP est sa résolution spatiale, le plus souvent de l'ordre de 128 par 128 pixels, soit environ 5 à 7 mm. Cela justifie que l'examen TEP soit le plus souvent couplé à une modalité d'imagerie anatomique, comme le scanner ou l'imagerie par résonance magnétique (IRM). La seconde est la nécessité pour le sujet de ne pas bouger pendant l'acquisition afin de ne pas dégrader la résolution. D'autant plus que certains examens TEP, en particulier ceux dits dynamiques, sont des examens de longue durée (jusqu'à 1h), ce qui est contraignant pour le sujet. Certains mouvements ne peuvent être stoppés (respiration, battement cardiaque) mais peuvent être pris en compte et corrigés lors de l'acquisition à l'aide de *gating* (soit une acquisition synchronisée sur le mouvement respiratoire et/ou cardiaque) (Bailey 2005).

Troisièmement, l'imagerie TEP est soumise aux biais de *spillover* (débordement) et de volume partiel. Le premier phénomène correspond à la contamination du signal radioactif de la zone d'intérêt par la radioactivité émise dans les tissus environnants. En conséquence, le signal mesuré est surestimé si un tissu environnant possède une forte captation du traceur (Schroeder et al. 2007). Le phénomène de volume partiel décrit quant à lui la diminution du signal radioactif dans le cas de régions d'intérêt de faible volume, du fait de la faible résolution du système d'acquisition (Aston et al. 2002). Ces deux phénomènes peuvent s'associer au sein de la même région d'intérêt. Pour finir, un certain nombre d'isotopes nécessitent leur production sur place à l'aide d'un cyclotron du fait de leur courte demi-vie. Cela justifie l'existence d'un service dédié de pharmacochimie nucléaire sur site et des contraintes importantes en termes de radio-sécurité.

iii. Limites spécifiques de la TEP appliquée aux poumons

Comme décrit ci-dessus, le premier enjeu de la TEP pulmonaire est lié aux mouvements respiratoires du sujet étudié. L'examen pouvant durer entre quelques

minutes à une heure, il est bien entendu impossible de demander à celui-ci de retenir sa respiration, ou dans le cadre expérimental, de maintenir une pause respiratoire aussi prolongée. Comme pour l'imagerie TEP myocardique, il existe des outils d'acquisition permettant de synchroniser les mouvements respiratoires avec l'acquisition des données, appelée *gating* (Schultz et al. 2021). Des algorithmes permettent ensuite d'annuler l'effet du mouvement lors de la reconstruction des images. Néanmoins, ceux-ci restent imparfaits et ne permettent pas un effacement complet de l'effet des mouvements respiratoires. L'utilisation d'acquisitions sélectionnées sur la base de leur position temporelle par rapport aux mouvements respiratoires, afin de ne garder que les acquisitions obtenues dans la même position, diminue significativement les statistiques de comptages et la qualité de l'examen (Lehtonen et al. 2021). Il n'existe pas à ce jour de méthode non biaisée de prise en compte des mouvements respiratoires.

Un second enjeu de l'imagerie TEP du poumon est lié à la caractéristique histologique du tissu étudié. En effet, le poumon est un organe composé d'air, de tissu et de sang. La fraction d'air ou de sang peut varier largement entre deux régions, et être responsable de grandes variations de radioactivité mesurée, sans pour autant que celle spécifique du tissu ait varié (Inoue et al. 2009). A ces trois compartiments anatomiques, vient s'ajouter l'œdème lésionnel observé au cours du SDRA, et dans lequel peut venir se distribuer le traceur (Schroeder et al. 2008). En reprenant la définition de la SUV, et en l'appliquant au poumon, on comprend facilement que la radioactivité moyenne ou maximale mesurée dans une région donnée comprend celle émise par différents compartiments indiscernables : tissu, sang, œdème. En particulier, la fraction F_{wb} de sang dans une région pulmonaire pouvant varier entre 1% et 20% (dans les régions dorsales chez l'homme) et étant influencée par les réglages ventilatoires (comme la PEEP), elle entrainerait un effet non négligeable sur la valeur de SUV calculée. En utilisant la SUV, en particulier dans le cas du SDRA, on s'exposerait donc probablement à un biais de mesure impondérable avec cette méthode.

Une solution imparfaite serait de mesurer la fraction de gaz dans la région d'intérêt afin de s'affranchir de l'effet de ce compartiment sur la mesure de la SUV. En effet, la fraction de gaz varie entre les régions pulmonaires, mais aussi entre deux

conditions expérimentales en cas d'examen répété. Plusieurs méthodes ont été proposées afin de corriger les mesures de radioactivité, à l'aide de la densité pulmonaire mesurée sur le scanner de transmission (Lambrou et al. 2011). Ces méthodes ne permettent pas, par contre, de discerner la fraction de sang du reste du tissu pulmonaire. Or, si l'on prend l'exemple de conditions expérimentales entre lesquelles la PEP a été augmentée de 5 cm H_2O, certes la fraction de gaz va augmenter en cas de distension d'une zone aérée, mais il est aussi probable que la fraction de sang va diminuer du fait de l'effet de la pression alvéolaire sur le capillaire péri-alvéolaire. Ce phénomène ne pourra être pris en compte par la simple correction par la densité de tissu mesurée au scanner de transmission. De plus, dans les régions dont la densité est proche du tissu non aéré, ou à l'inverse, celles dont la densité est proche de l'air, il n'est pas certain que la densité pulmonaire et l'atténuation estimée par le scanner de transmission soit linéairement corrélées. L'ensemble de ces éléments font que la SUV et son éventuelle correction pour la densité de tissu pulmonaire génèrent systématiquement une augmentation mathématique des valeurs observées dans les régions aérées, comparativement aux régions faiblement ou non-aérées, avec un risque d'erreur impondérable (Lambrou et al. 2011, Holman et al. 2015).

Comme décrit plus haut, les modèles pharmacocinétiques multicompartimentaux utilisant une fonction d'entrée et tenant compte de la fraction de sang dans la région d'intérêt permettent la quantification de celle-ci avec une précision excellente (Richard et al. 2002). Il a par ailleurs été démontré que la correction pour la densité de tissu mesurée au scanner de transmission, lorsqu'elle est appliquée aux modèles pharmacocinétique, n'impacte que la valeur du K_1, soit la valeur de la constante de transfert entre le plasma et le tissu du radiotraceur d'intérêt, dont l'unité devient ml de plasma.min^{-1}.g^{-1} de tissu au lieu de ml de plasma.min^{-1}.ml^{-1} de tissu (Holman et al. 2015). Elle n'implique donc pas la valeur du potentiel de fixation (le ratio de k_3 et k_4) dans le cas d'un modèle avec fixation réversible du radioligand.

2. SCANNER THORACIQUE QUANTITATIF

a. Principes

Le scanner thoracique est une technique d'imagerie tomodensitométrique reposant sur l'atténuation que subissent les rayons X lors de la traversée de la matière. L'image 3D est reconstruite à partir des acquisitions réalisées dans les 3 axes dimensionnels. Le scanner X est une méthode d'imagerie médicale dite anatomique. Dans les tissus biologiques, il est communément accepté que l'atténuation est linéairement corrélée à la densité du tissu traversée (Richard et al. 2016). Cette atténuation est exprimée en unité Hounsfield (UH) en convertissant l'atténuation μ mesurée dans un voxel selon la formule suivante :

$$UH = 1000 \times (\mu_{eau} - \mu_{voxel}) \qquad \text{Eq. 11.}$$

Un scanner thoracique est habituellement constitué d'une série d'image (coupes) allant de l'apex pulmonaire jusqu'aux culs-de-sac pleuraux postérieurs. Chaque coupe a une résolution habituelle de 512 pixels par 512 pixels (axe longitudinal x axe transversal), et est espacée de la coupe suivante d'un espace de 1 mm. Ces éléments d'imagerie numérique permettent de définir un volume du voxel (soit un pixel volumétrique) d'environ 0.64 mm^3, ce qui correspond au volume d'une trentaine d'alvéoles à la capacité pulmonaire totale (Gattinoni et al. 2005). L'atténuation, en unité Hounsfield, est alors convertie en une échelle de gris pour son interprétation visuelle, et dont la fenêtre de conversion peut être ajustée afin de faciliter l'analyse de structures de densités différentes (os, poumon, tissu).

Le scanner apporte tout d'abord une information qualitative au clinicien par son analyse visuelle, facilité par l'usage des logiciels modernes de visualisation. Il permet l'identification d'éléments de sémiologie radiologique orientant le diagnostic ou la prise en charge : pneumothorax, pneumatocèle, atteinte alvéolo-interstitielle de type verre dépoli, mais aussi embolie pulmonaire si un produit de contraste a été injecté en intravasculaire.

b. Principes du scanner quantitatif

L'intérêt de l'imagerie numérique est la possibilité de réaliser une quantification assistée par ordinateur des éléments unitaires constituant l'image, le voxel. En multipliant un nombre *n* donné de voxel par le volume connu d'un voxel V_{voxel}, il est possible de connaître le volume d'une région d'intérêt V_{ROI} :

$$V_{ROI} = V_{voxel} \times n_{voxel} \qquad \text{Eq. 12.}$$

Dans le contexte spécifique de l'analyse quantitative du scanner pulmonaire il est possible d'aller plus loin, en tenant compte de la valeur de l'atténuation de chaque voxel. En effet, comme décrit plus haut, un voxel contient une quantité donnée d'alvéoles et de tissu pulmonaire (capillaire, vaisseaux, interstitium, etc.). La valeur en UH d'un voxel est donc le reflet de la proportion de tissu et de gaz dans ce voxel, en faisant l'hypothèse que le gaz à une densité de 0 (et une valeur de -1000 UH) et le tissu une densité de 1 (comparable à celle de l'eau, d'une valeur de 0 UH, **Figure 1**) (Wegener et al. 1978).

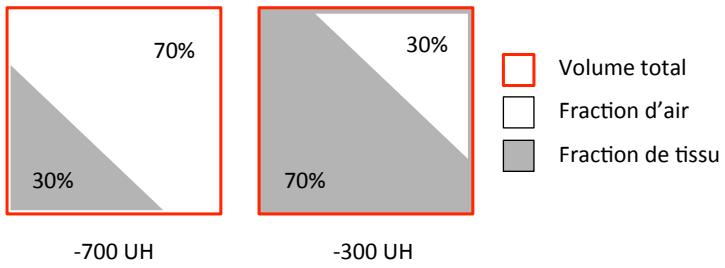


Figure 1. Exemple illustratif du mode de calcul de la fraction de gas et de la fraction non- gaz (« tissu ») d'un voxel.

Cela donne les formulations suivantes :

$$F_{gaz} = -\frac{UH}{1000} \qquad \text{Eq. 13.}$$

$$F_{tissu} = 1 + \frac{UH}{1000} \qquad \text{Eq. 14.}$$

En multipliant ces fractions par le nombre *n* de voxels d'une région d'intérêt pulmonaire, on obtient le volume de gaz ou de tissu contenu dans cette région. En réalisant une acquisition scannographique lors d'une pause télé-expiratoire et une

seconde lors d'une pause télé-inspiratoire, il est alors possible de mesurer le volume courant au scanner, en calculant simplement la différence de volume de gaz entre ces 2 conditions (Gattinoni et al. 1995).

c. Analyse compartimentale de l'aération pulmonaire

Dans le contexte spécifique de l'étude scannographique du SDRA et du VILI, il est intéressant de réaliser une analyse compartimentale en subdivisant les régions pulmonaires non pas selon des critères anatomiques ou topographiques, mais en fonction de leur niveau d'atténuation. On définit ainsi 4 niveaux d'aération pulmonaire selon la valeur en UH du voxel : hyperinflation (entre -1000 et -901 UH), normalement aéré (entre -900 et -501 UH), pauvrement aéré (entre -500 et -101 UH) et non-aéré (entre -100 et +100 UH, Figure 2) (Gattinoni et al. 2006). Ceci permet une quantification du poids ou du volume de ces différents compartiments à différentes conditions ventilatoires. Ce type d'analyse peut cependant être biaisé, en particulier en ce qui concerne le compartiment hyperinflaté, en fonction du filtre de reconstruction utilisé (Reske et al. 2008).

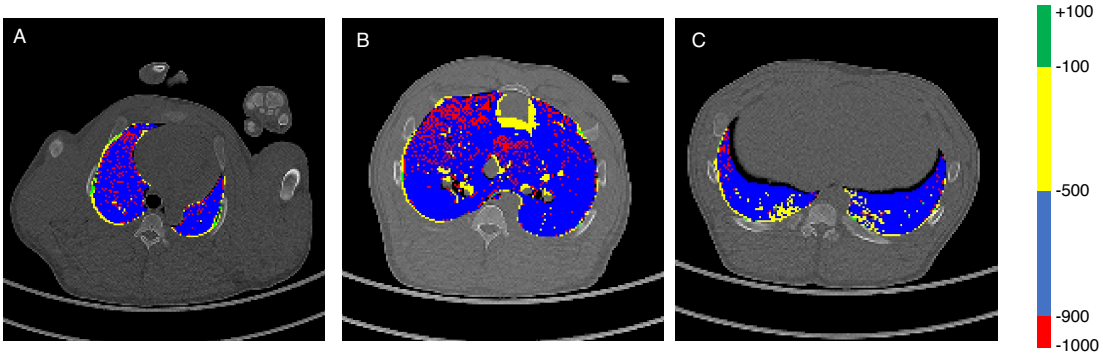


Figure 2. Exemple de scanner thoracique dont les voxels ont été classifiés selon l'échelle à 4 niveaux selon Gattinoni et al. L'image est composée d'un scanner thoracique obtenu en fin d'inspiration et dont l'échelle de couleur est en niveaux de gris, sur laquelle a été superposé le résultat de la segmentation anatomique de la région pulmonaire avec conversion de la valeur des voxels en une échelle simplifiée à 4 niveaux décrivant leur degré d'aération. L'échelle à 4 niveaux est présentée à droite avec les valeurs de unités Hounsfield correspondante. Trois coupes thoraciques axiales sont présentés dans le tiers céphalique (A), le tier médian (B) et le tiers caudal (C) du champs pulmonaire.

d. Analyse mécanistique

Les éléments méthodologiques décrits ci-dessus permettent de calculer, dès lors que des acquisitions scanner ont été répétées selon des conditions maitrisées au temps télé-expiratoire et télé-inspiratoire, et/ou à différents niveaux de PEP, l'effet des réglages du ventilateur sur le parenchyme pulmonaire, en quantifiant le recrutement alvéolaire, l'hyperinflation intracycle, ou le *strain* pulmonaire et ses composantes. La description de ces paramètres et leur intérêt est décrite ci-après.

i. Recrutement alvéolaire lié à la PEP

Le recrutement alvéolaire correspond au volume de parenchyme pulmonaire ré-aéré lors de l'application ou d'une augmentation de la PEP. Il a été conceptuellement défini comme correspondant à la différence de volume non-aéré entre 2 niveaux de pression de fin d'expiration, et est donc exprimé en grammes (Gattinoni et al. 1987). Une seconde méthode fait correspondre au recrutement alvéolaire la variation de volume non aéré et faiblement aéré entre 2 niveaux de PEP, et est donc exprimée en millilitres (Malbouisson et al. 2001). Une troisième méthode, développée par Paula et al. correspond à la différence de volume de tissu du compartiment non-aéré $V_{tissu,NA}$ entre 2 conditions de PEP (P1 et P2), multipliée par le ratio de la fraction de gaz et de la fraction de tissu mesurés à la condition secondaire (Paula et al. 2016). Cette formulation fait l'hypothèse que le recrutement alvéolaire génère un niveau d'aération comparable et homogène au sein de la région d'intérêt :

$$Recrutement = \left(V_{tissu,NA,P1} - V_{tissu,NA,P2}\right) \times \frac{F_{gaz,aéré,P2}}{(1-F_{gaz,aéré,P2})} \qquad \text{Eq. 15.}$$

ii. Recrutement intracycle

De façon similaire à la mesure du recrutement alvéolaire induit par la PEP mesuré au scanner pulmonaire, il est possible de mesurer le recrutement alvéolaire induit par l'insufflation du volume courant en réalisant 2 acquisitions scannographiques en fin d'expiration et en fin d'inspiration. Ce phénomène peut correspondre au concept d'atélectrauma, et est associé à une surmortalité au cours du SDRA (Caironi et al. 2010).

iii. Hyperinflation intracycle

Il est aussi intéressant de quantifier la variation de volume hyperinflaté d'une région pulmonaire d'intérêt, en faisant l'hypothèse qu'une variation importante de ce volume traduit le fait que sa capacité pulmonaire totale a été dépassée. On parle alors d'hyperinflation intracycle, qui se calcule comme la différence de volume hyperinflaté entre l'acquisition scanner télé-expiratoire et l'acquisition télé-inspiratoire. En cas d'hyperinflation intracycle supérieure à 40% du volume courant insufflé chez des patients en SDRA ventilé avec un volume courant de 6 $ml.kg^{-1}$, il a été observé une augmentation des concentrations en cytokines pro-inflammatoires dans le lavage broncho-alvéolaire, et une augmentation de la durée de ventilation, comparativement aux patients ayant une hyperinflation intracycle inférieure à ce seuil (Terragni et al. 2007).

iv. Strain pulmonaire

Il est possible de calculer à l'aide du scanner quantitatif le *strain* pulmonaire total, ainsi que chacune de ses composantes statique et dynamique. En réalisant une acquisition scanner à la capacité résiduelle fonctionnelle (CRF, en déconnectant le respirateur), et une seconde à un niveau de PEP donné, il est possible de quantifier la variation de volume aéré induit par le PEP (V_{PEP}) et de le rapporter au volume de base (la CRF). On obtient ainsi la mesure du strain statique (Protti et al. 2013). A l'aide d'une acquisition à la PEP et d'une seconde en fin d'inspiration, on obtient facilement la variation de volume aéré lié à l'insufflation du volume courant (V_T), que l'on rapporte au volume aéré de fin d'expiration. Ceci correspond au strain dynamique. La somme de ces 2 composants correspond au *strain* total.

Néanmoins, ce concept tel que défini par l'équipe italienne de Gattinoni et al. ne tient pas toujours compte de l'effet du recrutement alvéolaire sur l'augmentation du volume de base, ni sur la diminution de ΔV. De plus, la mesure du *strain* reste une estimation régionale et macroscopique moyennant ce phénomène à l'échelle de la région étudiée, et peut ne pas correspondre aux phénomènes biophysiques locaux. Pour finir, la réalisation d'une scanner pulmonaire à la CRF chez un patient en SDRA n'est probablement pas éthique du fait du dérecrutement alvéolaire qu'il implique, et peut

justifier d'utiliser une méthode empirique d'estimation de la CRF afin de ne pas exposer le patient à un risque de dérecrutement massif (Caironi et al. 2010).

Des valeurs de strain supérieur à 2 sont associées à l'apparition d'un œdème lésionnel chez des animaux exposés à un modèle de VILI à haut volume (Protti et al. 2011). Il a aussi été démontré dans une étude expérimentale chez le porc à poumon sain que la composante dynamique du strain est plus délétère et pourvoyeuse de VILI que sa composante statique, lorsque le strain total était maintenu constant (Protti et al. 2013). Bien que des valeurs aussi élevées soient rarement observées chez l'homme, elles s'associent à une augmentation significative des concentrations de cytokines pro-inflammatoires dans le LBA de patients atteints de SDRA (Gonzalez-Lopez et al. 2012).

v. Hétérogénéité pulmonaire et stress raisers

L'importance de l'hétérogénéité du parenchyme pulmonaire sur la constitution du VILI est un élément central de la sa physiopathologie lorsqu'il s'intègre au SDRA. Il rend alors obsolète le modèle mono-alvéolaire de la mécanique ventilatoire et donne toute sa pertinence à l'analyse voxel à voxel du scanner pulmonaire quantitatif. La quantification de l'hétérogénéité pulmonaire au scanner repose sur la comparabilité de la fraction de gaz d'un voxel donné comparativement à la fraction moyenne de gaz des voxels qui l'entourent. Si la valeur du ratio de la fraction des voxels périphériques rapportée à celle du voxel d'intérêt est supérieur à 1, on parle alors d'hétérogénéité du voxel. Dans l'étude de Cressoni et al., les zones hétérogènes du parenchyme étaient identifiées si la valeur du ratio des fractions de gaz d'un voxel donné était supérieure au 95ème percentile des fractions observées sur l'ensemble du parenchyme pulmonaire sain (Cressoni et al. 2014).

e. Segmentation

Une étape essentielle de l'analyse scannographique pulmonaire quantitative est la segmentation du parenchyme pulmonaire, ceci afin de limiter la zone correspondant aux poumons sur l'ensemble de l'acquisition scannographique et ainsi l'isoler des structures environnantes (cage thoracique, médiastin, gros vaisseaux intra-thoraciques). Historiquement, la segmentation d'image numérique est réalisée manuellement par un opérateur entrainé, coupes par coupes. Ceci génère un temps de traitement important,

de l'ordre de plusieurs heures, limitant le traitement d'un volume de données important. Le processus est sensiblement accéléré en utilisant une segmentation basée sur la valeur numérique des voxels, mais reste insuffisant en cas de condensations pulmonaires comme au cours du SDRA, du fait de l'impossibilité pour l'algorithme de segmenter une zone pulmonaire condensée ayant une densité scannographique comparable aux éléments extra-pulmonaires (médiastin, par thoracique, abdomen). Depuis l'avènement de l'intelligence artificielle et du *machine-learning*, il est dorénavant possible d'accélérer ce processus, tout en conservant un haut niveau de précision, en indiquant quelques repères à l'algorithme qui extrapole et étend alors ces points aux autres coupes contiguës (Dávila Serrano et al. 2020). Il reste néanmoins nécessaire de corriger l'algorithme dans les zones les plus condensées dans lesquelles l'intelligence artificielle est prise en défaut. Le temps de traitement des images n'en n'est pas moins significativement diminué, de l'ordre d'une trentaine de minute par acquisition.

f. Limites du scanner pulmonaire quantitatif

Le scanner pulmonaire quantitatif n'est cependant pas dénué de limites. Tout d'abord, en tant que technique d'imagerie anatomique, le scanner pulmonaire ne renseigne pas directement sur les processus biologiques agissant au sein des anomalies qu'il aide à identifier. En revanche, c'est l'association spécifique de certaines anomalies ou paramètres quantifiés au scanner avec une donnée d'imagerie fonctionnelle comme celle qu'offre théoriquement la TEP qui pourrait permettre de renseigner le clinicien sur le processus biologique sous-jacent à l'anomalie anatomique.

Par ailleurs, en étudiant par exemple l'effet de la PEP sur le parenchyme pulmonaire, la technique quantitative ne tient pas compte de son effet sur le débit (et donc le volume) sanguin régional, ni l'erreur potentielle de segmentation induite par le mouvement du poumon lié à son inflation par la PEP ou le volume courant, ne permettant pas de s'assurer de l'identité dans l'espace d'un même voxel étudié à deux conditions ventilatoires différentes. Les mouvements cardiaques peuvent aussi venir interférer avec l'acquisition, tout comme les efforts respiratoires du sujet en cas de défaut de curarisation. Enfin, même si les acquisitions scanner sont de plus en plus rapides (inférieures à 3 secondes avec les appareils modernes), il est nécessaire de réaliser une

pause ventilatoire prolongée, soit en activant la fonction dédiée sur le respirateur (le plus souvent par un opérateur humain s'exposant dès lors aux émissions rayonnantes), ou en clampant la sonde d'intubation pendant la durée la plus courte possible. De plus, l'utilisation d'un produit de contraste invalide la mesure (du fait de son impact sur la mesure de l'atténuation dans le compartiment sanguin intra-pulmonaire), ce qui justifie la réalisation d'une acquisition supplémentaire et indépendante si son injection est justifiée cliniquement. Enfin, le scanner quantitatif requiert le plus souvent la répétition des acquisitions et donc une augmentation de l'exposition aux émissions rayonnantes, de l'ordre de 10 mSv lorsque l'acquisition n'est pas de type « basse dose », ce qui correspond à 2 fois l'exposition annuelle à la radioactivité. L'utilisation d'acquisitions « basse dose » permet d'effondrer le niveau d'exposition, et devient alors sans risque pour les patients.

En conclusion, ce type d'analyse avancée n'est pas encore réalisée en routine car elle nécessite un temps de segmentation des zones pulmonaires sur l'image (de l'ordre de 3 à 6 heures par scanner en cas de segmentation manuelle, quelques minutes à plusieurs jours en utilisant une méthode de segmentation assistée par l'intelligence artificielle), puis son analyse par des algorithmes dédiés uniquement disponibles à ce jour dans le cadre de la recherche. Le développement de logiciels plus performants intégralement assistés par l'intelligence artificielle devrait permettre dans un avenir proche l'obtention d'une segmentation de qualité, et ceci même dans le cadre de lésion pulmonaires de type SDRA, en quelques minutes, et laissant entrevoir la possibilité de diffusion de cet outil au contexte clinique.

RESUME DES ELEMENTS CLEFS DES PARTIES 1 ET 2

A partir des éléments présentés dans ces deux premières parties, nous pouvons retenir les éléments clefs suivants :

- Prévenir ou limiter les conséquences du VILI est à ce jour l'un des axes principaux de la prise en charge du SDRA chez l'homme, dont les premières applications (baisse du volume courant, application d'une PEP, limitation du stress pulmonaire) ont démontré un bénéfice dans l'amélioration de la mortalité associée à ce syndrome
- Le *biotrauma* est l'un des mécanismes clefs du VILI, en tant que réponse inflammatoire lésionnelle pulmonaire et systémique, associée à un syndrome de défaillance multiviscérale chez l'homme. Son évaluation et sa quantification en pratique clinique restent difficilement accessibles par manque d'outils spécifiques permettant sa quantification *in vivo* et son suivi au cours du temps, tout comme l'évaluation de sa modulation en fonction d'interventions comme l'ajustement des réglages du respirateur.
- L'imagerie fonctionnelle *in vivo* par la TEP est une technique d'imagerie à très haut niveau de sensibilité et spécificité, permettant l'étude de phénomènes biologiques charnières telle que l'inflammation pulmonaire, dès lors qu'un radiotraceur spécifique d'une cible adéquate a été sélectionné.
- Le métabolisme cellulaire lié au glucose, quantifié *in vivo* en TEP à l'aide du [^{18}F]-FDG, est augmenté au cours du SDRA humain et expérimental, et est associé à certains mécanismes lésionnels associés à la ventilation mécanique tel que la surdistension régionale ou l'augmentation du *stress* pulmonaire. Cette technique utilisant ce traceur et appliquée aux poumons manque cependant de spécificité pour la réponse inflammatoire.
- En revanche, le [^{11}C](R)-PK11196 est un radioligand spécifique de la TSPO, récepteur transmembranaire situé à la surface des mitochondries des macrophages et dont l'expression est augmentée au cours de modèles expérimentaux d'inflammation pulmonaire aiguë. Néanmoins, ce radioligand

présente un ratio signal-bruit faible et pourrait être capturé de façon non spécifique dans les tissus étudiés. Sa captation est le plus souvent quantifiée à l'aide de la SUV ; les modèles pharmacocinétiques multicompartimentaux en décrivant la distribution tissulaire ont montré un probable manque de spécificité.

- Le scanner thoracique quantitatif est un outil disponible en pratique clinique permettant la mesure régionale de phénomènes physiques associés à l'action mécanique de la ventilation mécanique sur le parenchyme pulmonaire. Cet outil offre la possibilité de directement mesurer les forces physico-mécaniques liées à la ventilation et s'appliquant aux poumons de façon régionale et répétée, et offre la possibilité théorique de guider l'ajustement des réglages du respirateur. Il ne permet cependant pas de quantifier directement le *biotrauma* et nécessite d'être couplée à l'imagerie fonctionnelle par la TEP pour étudier les associations existantes entre processus lésionnel mécanique et biologique.

PROBLEMATIQUE

Le développement de nouvelles stratégies visant à diminuer, limiter ou prévenir l'apparition de lésions pulmonaires induites par la ventilation mécanique nécessite de développer des outils innovants permettant la quantification spécifique des mécanismes physiopathologiques responsables de celles-ci. Ainsi, le développement de l'imagerie pulmonaire fonctionnelle, visant à étudier l'inflammation pulmonaire aiguë dans ce contexte, et son association avec les paramètres ventilatoires et les variables d'intérêt quantifiées au scanner pulmonaire quantitatif pourrait permettre la poursuite des innovations nécessaires au développement de la ventilation protectrice de demain.

La TEP, en tant que technique d'imagerie moléculaire *in vivo*, nécessite cependant la sélection d'un radiotraceur spécifique de l'inflammation pulmonaire aiguë, le développement d'un modèle pharmacocinétique multicompartimental permettant la description précise de sa distribution au sein du tissu pulmonaire (incluant son éventuelle liaison non spécifique dans la région d'intérêt), et la validation de ce même modèle.

L'hypothèse de ce travail est que l'imagerie pulmonaire couplée TEP-scanner utilisant le [^{11}C](R)-PK11195 comme radiotraceur permet l'évaluation quantitative, non-invasive et répétée des mécanismes physiopathologiques – agression physico-mécanique et inflammatoire – sous-jacents aux lésions pulmonaires induites par la ventilation mécanique au cours de la ventilation mécanique sur poumons sains ou agressés par un SDRA expérimental. La translation de ces résultats précliniques à l'utilisation de l'imagerie thoracique quantitative analysée en temps-réel appliquée chez l'homme pourrait permettre une meilleure individualisation des réglages du respirateur afin de limiter ou prévenir les lésions induites par la ventilation mécanique.

Les objectifs principaux de notre travail étaient au nombre de quatre :

1. Faire la preuve de la pertinence de la TEP au [^{11}C](R)-PK11195 pour quantifier la réponse inflammatoire pulmonaire régionale associée à la ventilation mécanique à haut volume courant et en évaluant son association aux paramètres d'agression physico-mécaniques estimés par le scanner pulmonaire quantitatif, chez l'animal aux poumons sains.
2. Développer et valider un modèle pharmacocinétique à trois compartiments tissulaires de la captation pulmonaire du [^{11}C](R)-PK11195 en TEP, permettant de tenir compte de la capture non-spécifique et irréversible du traceur dans les tissus, chez l'animal aux poumons sains et agressés.
3. Quantifier et comparer l'effet du décubitus ventral sur la réponse inflammatoire régionale à l'aide de la TEP au [^{11}C](R)-PK11195 chez des animaux soumis à un SDRA expérimental, et évaluer l'association de celle-ci avec les paramètres physico-mécaniques régionaux mesurés au scanner pulmonaire quantitatif.
4. Décrire et comparer, à l'aide du scanner pulmonaire quantitatif, les caractéristiques anatomiques et l'action de la ventilation mécanique sur le parenchyme pulmonaire au cours du SDRA et les caractériser en fonction de son étiologie chez l'homme.

PARTIE 3. RESULTATS ORIGINAUX

Les résultats présentés dans cette partie sont issus de 4 travaux réalisés dans le cadre de la thèse. Trois d'entre eux sont des travaux expérimentaux, le quatrième porte sur une étude clinique conduite chez des patients atteints d'un SDRA en lien avec l'infection par le COVID-19 :

- Le premier travail a fait l'objet d'une publication dans le Journal of Applied Physiology en 2019.
- Le second travail a été soumis en septembre 2021 pour publication au European Journal of Nuclear Medicine and Molecular Imaging.
- Le troisième travail représente des résultats préliminaires non encore soumis pour publication.
- Le quatrième travail a fait l'objet d'une publication dans le Journal of Critical Care en 2020.

Dans la suite de cette thèse, les travaux sont présentés sous le format d'article tel que celui accepté pour publication, ou en préparation, le cas échéant. Chaque travail est précédé d'un résumé en français, comportant un court rationnel, l'objectif, les méthodes, les résultats et une conclusion.

1. TRAVAIL N°1

J Appl Physiol 127: 546–558, 2019.
First published June 6, 2019; doi:10.1152/japplphysiol.00825.2018.

RESEARCH ARTICLE

Noninvasive quantification of macrophagic lung recruitment during experimental ventilation-induced lung injury

Laurent Bitker,[1,2,3] Nicolas Costes,[4] Didier Le Bars,[3,4] Franck Lavenne,[4] Maciej Orkisz,[2,3] Marcela Hernandez Hoyos,[5] Nazim Benzerdjeb,[3,6] Mojgan Devouassoux,[3,6] and Jean-Christophe Richard[1,2,3]

[1]Service de Médecine Intensive et Réanimation, Hôpital de la Croix Rousse, Hospices Civils de Lyon, Lyon, France; [2]Univ Lyon, INSA-Lyon, Université Claude Bernard Lyon 1, UJM-Saint Etienne, Centre National de la Recherche Scientifique, Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale, CREATIS Unité Mixte de Recherche 5220, U1206, Villeurbanne, France; [3]Université Lyon 1 Claude Bernard, Université de Lyon, Lyon, France; [4]CERMEP – Imagerie du Vivant, Bron, France; [5]Systems and Computing Engineering Department, School of Engineering, Universidad de los Andes, Bogota, Colombia; and [6]Centre d'Anatomie et Cytologie Pathologique, Centre Hospitalier Lyon Sud, Hospices Civils de Lyon, Lyon, France

Submitted 18 September 2018; accepted in final form 28 May 2019

a. Rationnel

Les lésions induites par la ventilation mécanique correspondent à la iatrogénie que peut avoir la ventilation mécanique sur des poumons sains. Il est probable que les stratégies de ventilation dites protectrices exercent leur action en diminuant l'intensité du *biotrauma*, soit la réponse inflammatoire pulmonaire et systémique induite par des réglages du respirateur inadaptés. Le macrophage pulmonaire pourrait jouer un rôle prépondérant dans la genèse du *biotrauma*, l'inhibition de son action étant responsable d'une diminution des lésions induites par la ventilation. Il est néanmoins difficile d'étudier l'intensité ou la distribution régionale au sein du parenchyme pulmonaire de ces cellules dans le cadre de l'évaluation de stratégies innovantes de ventilation protectrice.

L'imagerie couplée TEP-scanner permet l'étude non invasive et répétée à la fois des phénomènes physiques responsables d'une agression pulmonaire, ainsi que des phénomènes biologiques comme l'inflammation dès lors qu'un radiotraceur adéquat est sélectionné. De nombreuses données expérimentales ont montré une augmentation du métabolisme cellulaire pulmonaire in vivo à l'aide du [^{18}F]-FDG lors de l'application de réglages ventilatoires générateurs de lésions. Néanmoins, le [^{18}F]-FDG n'a pas la spécificité requise pour s'assurer que cette augmentation du métabolisme soit bien en lien avec une augmentation de la réponse inflammatoire. A l'inverse, le [^{11}C](R)-PK11195

est un radioligand spécifique de la protéine TSPO qui se trouve à la surface des mitochondries du macrophage.

b. Hypothèse et objectif

Nous avons fait l'hypothèse que le radiotraceur [^{11}C](R)-PK11195 permettait la quantification in vivo et de façon répétée du recrutement macrophagique pulmonaire en lien avec les paramètres mécaniques d'agression pulmonaire dans un modèle expérimentale de ventilation à très haut volume courant. L'objectif de notre travail était de démontrer une augmentation significative de la captation pulmonaire du [^{11}C](R)-PK11195 en imagerie couplée TEP-scanner secondaire à l'application d'une ventilation à très haut volume courant.

c. Matériels et méthodes

Six animaux ont été placés sous ventilation mécanique et anesthésie générale avec curarisation, suite à la mise en place d'une prothèse trachéale par trachéotomie, d'un cathéter veineux central, d'un cathéter artériel, et d'un ballon de pression œsophagienne.

A la suite de cela, les animaux étaient ventilés selon des paramètres dits protecteurs, soit un volume courant de 5 ml.kg^{-1}, une PEP à 5 cm H_2O, une fréquence respiratoire de 25 min^{-1} et une F_iO_2 à 0.21. Une première série de mesure de physiologie respiratoire était alors réalisée : pressions des voies aériennes et œsophagiennes de fin d'expiration et de fin d'inspiration. Celles-ci permettaient le calcul de la pression transpulmonaire, des élastances de la paroi thoracique, du poumon et du système respiratoire.

Une première série d'acquisitions TEP-scanner était réalisée, comprenant un scanner de fin d'expiration, un scanner de fin d'inspiration, un scanner à la CRF (par déconnection transitoire du respirateur) et un scanner de transmission qui précédait la TEP. La TEP était d'une durée de 60 minutes et débutait au moment exact de l'injection du [^{11}C](R)-PK11195. Toutes les acquisitions d'imagerie couvraient l'ensemble de la région anatomique pulmonaire.

A la suite de cette première série d'acquisition, la ventilation était modifiée pour devenir potentiellement iatrogène : le volume courant était augmenté en moins de 30 minutes pour obtenir une pression transpulmonaire de fin d'inspiration entre 35 et 40 cm H_2O sans dépasser 50 $ml.kg^{-1}$. La PEP était diminuée à 0 cm H_2O et la fréquence respiratoire diminuée afin de maintenir la PEP intrinsèque < 1 cm H_2O. Ces paramètres étaient appliqués pendant 4 heures, à la suite desquelles une seconde acquisition TEP-scanner était réalisé selon les mêmes modalités que décrites ci-dessus. Les paramètres ventilatoires initiaux étaient rétablis pendant l'acquisition TEP afin de geler le processus lésionnel durant l'acquisition.

Les régions pulmonaires des acquisitions scanner et TEP étaient segmentées en poumon entier, ainsi qu'en 6 sous-régions, réparties en 3 régions antérieures selon l'axe céphalo-caudal et en 3 régions postérieures selon le même schéma. Les données scanners ont permis le calcul des volumes aérés à la FRC, de fin d'expiration, et de fin d'inspiration, ainsi que du volume courant, du volume aéré par la PEP, les volumes pulmonaires recrutés par le volume courant et la PEP, ou encore les étirements (*strain*) dynamique et statiques appliqués aux poumons. La captation du [^{11}C](R)-PK11195 était quant à elle quantifié régionalement et sur poumon entier à l'aide de la *standardized uptake value* (SUV), correspondant à la radioactivité mesurée dans la région d'intérêt entre 40 et 60 minutes après son injection, et était corrigé par la fraction non-gaz (1 – F_{gaz}) de la région.

En fin de protocole, les animaux étaient euthanasiés et 6 fragments du poumons droits, découpées selon un schéma correspondant à la segmentation régionale, étaient envoyé pour analyse anatomo-pathologique. Pour cela, nous avons utilisé un score de lésion pulmonaire ainsi qu'un score semi-quantitatif décrivant le nombre de macrophages pulmonaires visualisés en microscopie optique.

d. Résultats

Le modèle expérimental était responsable, suit à l'agression, à une augmentation majeure de la pression transpulmonaire, ainsi que d'une augmentation significative du volume hyperinflaté en fin d'inspiration, au détriment des volumes normalement aéré, pauvrement aéré et non-aéré. Nous avons aussi observé des niveaux de *strain* total

significativement plus élevés après agression, comparativement à avant agression (0.6±0.0 versus 2.0±0.4, p<0.01), tout comme une augmentation franche de l'hyperinflation intracycle (1±1% versus 43±19%, valeur rapportée au volume courant).

Après 4 heures de ventilation à haut volume courant, nous avons observé un quasi-doublement de la captation du [^{11}C](R)-PK11195 au sein de toutes les régions pulmonaires (SUV pré-agression [moyenne ± écart-type] 1.8±0.5 ; SUV post-agression 2.9±0.5). Il existait une grande hétérogénéité de SUV entre les individus aux 2 temps expérimentaux. Cette captation post-agression était significativement corrélée au nombre de macrophages quantifié en anatomo-pathologie. Pour finir, la captation du traceur était significativement et indépendamment associée à une augmentation du strain dynamique et de l'hyperinflation intracycle.

e. Conclusions du travail n°1

Dans cette étude preuve de concept, nous avons démontré que la captation du [^{11}C](R)-PK11195 était significativement augmentée au sein du parenchyme pulmonaire d'animaux soumis à une ventilation à très haut volume courant, en lien avec l'augmentation significative des marqueurs d'agression mécanique induit par la ventilation que sont l'hyperinflation intracycle et le strain dynamique. Nous avons aussi démontré que la captation du traceur était corrélée au nombre de macrophages recrutés dans les régions étudiées. Néanmoins, la méthode de quantification de la captation n'est probablement pas optimale pour étudier un organe comme le poumon, dont l'anatomie est intrinsèquement responsable d'une grande hétérogénéité des fractions de tissu pulmonaire, de gaz ou de sang. De plus, ce travail n'assure pas de la capacité du radioligand [^{11}C](R)-PK11195 à quantifier *in vivo* l'inflammation pulmonaire induite par la ventilation mécanique dans des modèles expérimentaux moins marqués.

J Appl Physiol 127: 546–558, 2019.
First published June 6, 2019; doi:10.1152/japplphysiol.00825.2018.

RESEARCH ARTICLE

Noninvasive quantification of macrophagic lung recruitment during experimental ventilation-induced lung injury

Laurent Bitker,[1,2,3] Nicolas Costes,[4] Didier Le Bars,[3,4] Franck Lavenne,[4] Maciej Orkisz,[2,3] Marcela Hernandez Hoyos,[5] Nazim Benzerdjeb,[3,6] Mojgan Devouassoux,[3,6] and Jean-Christophe Richard[1,2,3]

[1]*Service de Médecine Intensive et Réanimation, Hôpital de la Croix Rousse, Hospices Civils de Lyon, Lyon, France;* [2]*Univ Lyon, INSA-Lyon, Université Claude Bernard Lyon 1, UJM-Saint Etienne, Centre National de la Recherche Scientifique, Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale, CREATIS Unité Mixte de Recherche 5220, U1206, Villeurbanne, France;* [3]*Université Lyon 1 Claude Bernard, Université de Lyon, Lyon, France;* [4]*CERMEP – Imagerie du Vivant, Bron, France;* [5]*Systems and Computing Engineering Department, School of Engineering, Universidad de los Andes, Bogota, Colombia; and* [6]*Centre d'Anatomie et Cytologie Pathologique, Centre Hospitalier Lyon Sud, Hospices Civils de Lyon, Lyon, France*

Submitted 18 September 2018; accepted in final form 28 May 2019

Bitker L, Costes N, Le Bars D, Lavenne F, Orkisz M, Hernandez Hoyos H, Benzerdjeb N, Devouassoux M, Richard JC. Noninvasive quantification of macrophagic lung recruitment during experimental ventilation-induced lung injury. *J Appl Physiol* 127: 546–558, 2019. First published June 6, 2019; doi:10.1152/japplphysiol.00825.2018.—Macrophagic lung infiltration is pivotal in the development of lung biotrauma because of ventilation-induced lung injury (VILI). We assessed the performance of [^{11}C](R)-PK11195, a positron emission tomography (PET) radiotracer binding the translocator protein, to quantify macrophage lung recruitment during experimental VILI. Pigs ($n = 6$) were mechanically ventilated under general anesthesia, using protective ventilation settings (baseline). Experimental VILI was performed by titrating tidal volume to reach a transpulmonary end-inspiratory pressure (ΔP_L) of 35–40 cmH_2O. We acquired PET/computed tomography (CT) lung images at baseline and after 4 h of VILI. Lung macrophages were quantified in vivo by the standardized uptake value (SUV) of [^{11}C](R)-PK11195 measured in PET on the whole lung and in six lung regions and ex vivo on lung pathology at the end of experiment. Lung mechanics were extracted from CT images to assess their association with the PET signal. ΔP_L increased from 9 ± 1 cmH_2O under protective ventilation, to 36 ± 6 cmH_2O during experimental VILI. Compared with baseline, whole-lung [^{11}C](R)-PK11195 SUV significantly increased from 1.8 ± 0.5 to 2.9 ± 0.5 after experimental VILI. Regional [^{11}C](R)-PK11195 SUV was positively associated with the magnitude of macrophage recruitment in pathology ($P = 0.03$). Compared with baseline, whole-lung CT-derived dynamic strain and tidal hyperinflation increased significantly after experimental VILI, from 0.6 ± 0 to 2.0 ± 0.4, and 1 ± 1 to 43 ± 19%, respectively. On multivariate analysis, both were significantly associated with regional [^{11}C](R)-PK11195 SUV. [^{11}C](R)-PK11195 lung uptake (a proxy of lung inflammation) was increased by experimental VILI and was associated with the magnitude of dynamic strain and tidal hyperinflation.

NEW & NOTEWORTHY We assessed the performance of [^{11}C](R)-PK11195, a translocator protein-specific positron emission tomography (PET) radiotracer, to quantify macrophage lung recruitment during experimental ventilation-induced lung injury (VILI). In this proof-of-concept study, we showed that the in vivo quantification of [^{11}C](R)-PK11195 lung uptake in PET reflected the magnitude of macrophage lung recruitment after VILI. Furthermore, increased [^{11}C](R)-PK11195 lung uptake was associated with harmful levels of dynamic strain and tidal hyperinflation applied to the lungs.

inflammation; mechanical ventilation; medical imaging; positron emission tomography; ventilation-induced lung injury

Address for reprint requests and other correspondence: L. Bitker, Service de Médecine Intensive et Réanimation, Hôpital de la Croix Rousse, Hospices Civils de Lyon, 103 Grande Rue de la Croix Rousse, 69004, Lyon, France (e-mail: laurent.bitker@chu-lyon.fr).

BACKGROUND

Ventilation-induced lung injury (VILI) describes the iatrogenic consequences of artificial ventilation on healthy lungs (7, 23, 27, 61). The benefits of protective ventilation strategies on patients' outcome could be related to the reduction of biotrauma (1, 64), i.e., the biomechanical concept designating the release of mediators induced by injurious mechanical ventilation and leading to primary lung and systemic damage (20). Supporting its existence are an increase in neutrophils, macrophages and lung cytokines after the experimental application of injurious mechanical ventilation (21, 37, 66, 68). Moreover, inflammation downregulation by granulocyte depletion inhibited hyaline membrane formation and deterioration of oxygenation in rabbits undergoing experimental VILI (41).

Macrophages may play an early and critical role in the pathogenesis of VILI and biotrauma. First, macrophage alveolar adhesion occurred within 20 min of high-volume mechanical ventilation in rats (22). Second, in the same model, lung water and capillary permeability was significantly lower in ventilated rats with clodronate-induced lung macrophage depletion, compared with the control group. However, to date, the noninvasive quantification of the intensity, regional lung distribution, and variations of lung macrophage recruitment over time remains challenging when testing multiple ventilation strategies in large animal models.

Coupled positron emission tomography (PET) with computerized tomography (CT) pulmonary imaging has the potential to evaluate alveolar damages and quantify lung biotrauma. Although repeated CT acquisitions under various respiratory conditions allow the computation of regional volumes and

8750-7587/19 Copyright © 2019 the American Physiological Society

Downloaded from www.physiology.org/journal/jappl at Boston Univ (128.197.229.194) on August 20, 2019.

strains, PET enables the in vivo study of the behavior of key inflammatory cells, provided the selection of an appropriate PET radiotracer (24, 25, 54, 55). Our understanding of the effects of mechanical ventilation on lung metabolic activity was markedly improved by PET/CT studies with [^{18}F]-fluorodesoxyglucose ([^{18}F]-FDG) (5, 6, 16, 19). However, [^{18}F]-FDG lacks the required specificity for inflammatory processes to study the pathogenesis of biotrauma.

[*N*-methyl-^{11}C]-1-(2-chlorophenyl)-*N*-(1-methylpropyl)-3-isoquinoline-carboxamide ([^{11}C](R)-PK11195) is a PET radioligand specific to the translocator protein (TSPO), a mitochondrial receptor found in macrophages (36, 58). An increased presence of TSPO has been shown in a rodent liposaccharide-induced model of acute lung injury using another TSPO-specific radioligand, [^{18}F]-FEDAC (*N*-benzyl-*N*-methyl-2-[7,8-dihydro-7-(2-18F-fluoroethyl)-8-oxo-2-phenyl-9*H*-purin-9-yl]acetamide). This increase in TSPO was related to the recruitment of both macrophages and neutrophils (35). [^{11}C](R)-PK11195 lung uptake is also increased in patients with chronic inflammatory lung diseases and has the advantage of being conjugated to a short half-life isotope (^{11}C), allowing repeated measurements over a restricted time window. To date, the potential of [^{11}C](R)-PK11195 to quantify macrophage recruitment in VILI remains unevaluated (39).

We hypothesized that the [^{11}C](R)-PK11195 PET radiotracer allows the in vivo quantification of macrophagic acute lung recruitment caused by experimental VILI. We aimed to assess the relationship of [^{11}C](R)-PK11195 lung uptake with lung macrophage recruitment and CT-derived biomechanical parameters in an experimental model of VILI.

METHODS

The protocol was conducted in accordance with international recommendations and approved by an animal ethics committee (CELYNE, reference no. 2015041015179195).

Animal conditioning. Female pigs, weighing 29 ± 1 kg, underwent surgical preparation under continuous general anesthesia and neuromuscular blockade. The tracheal tube was introduced via median surgical tracheotomy, secured hermetically after cuff inflation, and connected to an eXtend ventilator (Taema, Paris, France). Drugs and radiotracers were injected using a central venous catheter surgically hosted in the right internal jugular vein. Finally, an esophageal balloon (Microtek Medical B.V., Zutphen, The Netherlands), inflated with 1 ml of air, allowed continuous monitoring of esophageal pressures (P_{ES}) for estimation of the pleural and transpulmonary pressures. Its proper position was confirmed by the presence of cardiac artifacts, adequate correlation of airway pressure (P_{AW}) to P_{ES} during an occlusion test (mean slope = 0.94 ± 0.26, $R^2 > 0.90$), and the absence of P_{ES} changes during gentle epigastric compressions (45, 62). The balloon was reinflated every 15 min throughout the experiment.

Experimental protocol. The experimental protocol is presented in Fig. 1. Immediately after animal conditioning, we applied protective ventilation in supine position using the following settings: 6 ml/kg tidal volume (V_T), 5 cmH_2O positive end-expiratory pressure (PEEP), 25 breaths/min respiratory rate, 1:2 inspiratory/expiratory ratio, and 0.21 O_2 inspired fraction. Experimental VILI was then applied for 4 h as follows: V_T was titrated to maintain the release-derived transpulmonary pressure (ΔP_L) at end inspiration between 35 and 40 cmH_2O, without exceeding a 50 ml/kg V_T set on the ventilator (12, 13, 28, 29, 51, 54). PEEP was set to 0 cmH_2O, respiratory rate and inspiratory/expiratory ratio were set to keep the intrinsic PEEP below 1 cmH_2O, and O_2 inspired fraction was set to 1.

Acquisition of respiratory mechanics. Air flow was measured using a small volume pneumotachograph (PN 281637, Hamilton medical AG, Bonaduz, Switzerland). Pressure at the airway opening was measured using a connecting tube with lateral aperture connected between the endotracheal tube and the pneumotachograph. Signals of pressure at the airway opening and air flow were read by transducers (Becton Dickinson, Sandy, UT), connected to an analog-to-digital transducer card (MP 100; Biopac Systems, Santa Barbara, CA), acquired at 200 Hz and analyzed with Acknowledge software (Biopac Systems). Inspired and expired volumes were measured by integration of the air flow signal.

Analysis of respiratory mechanics. Respiratory rate, V_T, PEEP, P_{PLAT}, end expiration esophageal pressure ($P_{ES,EE}$) and end-inspiratory esophageal pressure ($P_{ES,PLAT}$) were recorded immediately after protective ventilation (T1), every 15 min during VILI and 4 h after VILI onset (T2). Total PEEP and $P_{ES,EE}$ were measured at the end of a 3-s expiratory pause. P_{PLAT} and $P_{ES,PLAT}$ were measured at the end of a 3-s inspiratory pause, to avoid significant overestimation of airway pressure by the release of dynamic pressures (3). Esophageal pressure at functional residual capacity ($P_{ES,FRC}$) was measured at T1 and T2 after a 5-s disconnection of the ventilator. These measurements were used to compute ΔP_L at T1 and T2 (12, 13, 28, 54):

$$\Delta P_L = \Delta P_{AW} - \Delta P_{ES} = P_{PLAT} - P_{AW,FRC} - (P_{ES,PLAT} - P_{ES,FRC}) = P_{PLAT} - (P_{ES,PLAT} - P_{ES,FRC}) \quad (1)$$

Elastances were calculated as follows:

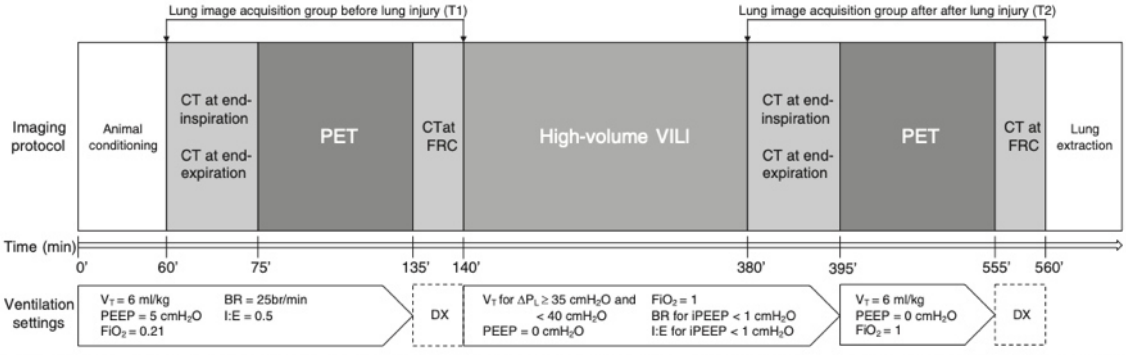


Fig. 1. Experimental protocol flowchart. ΔP_L, transpulmonary pressure; BR, breath rate; CT, computerized tomography; DX, disconnection of the ventilator; FiO_2, inspired fraction in oxygen; FRC, functional residual capacity; I:E, inspiratory on expiratory duration ration; iPEEP, intrinsic PEEP; PEEP, positive end-expiratory pressure; PET, positron emission tomography; T1, acquisition set under protective ventilation; T2, acquisition set after 4 h of injurious ventilation; VILI, ventilation-induced lung injury; V_T, tidal volume set on ventilator.

J Appl Physiol • doi:10.1152/japplphysiol.00825.2018 • www.jappl.org
Downloaded from www.physiology.org/journal/jappl at Boston Univ (128.197.229.194) on August 20, 2019.

$$\text{Respiratory system elastance} = \left(P_{PLAT} - \text{total PEEP}\right)/V_T \quad (2)$$

$$\text{Lung elastance} = \left[\left(P_{PLAT} - \text{total PEEP}\right) - \left(P_{ES,PLAT} - P_{ES,EE}\right)\right]/V_T \quad (3)$$

$$\text{Chest wall elastance} = \left(P_{ES,PLAT} - P_{ES,EE}\right)/V_T \quad (4)$$

PET/CT protocol. Two groups of combined PET/CT images were acquired, one under protective ventilation and one after 4 h of experimental VILI, using a BioGraph TruePoint PET/CT camera (Siemens, Munich, Germany). Each group was composed of one CT at both end expiration and end inspiration, one PET acquisition, and one CT at FRC. Longitudinal field-of-view extended over the whole lung area. The CT scanner was set as follows: voltage of 120 keV, intensity of 66 mAs, pitch of 0.8, field-of-view diameter of 780 mm, image reconstruction using a B31f smooth filter, slice thickness of 2 mm, matrix size of 512 × 512, and pixel size of 1.52 mm × 1.52 mm.

Radiotracer synthesis and PET acquisition protocol. [^{11}C](R)-PK11195 synthesis was performed on site as previously described (iPHASE, Melbourne, Victoria, Australia) (34). Radiochemical purity at the end of radiosynthesis was >99%. PET acquisitions lasted 60 min, starting at the onset of the [^{11}C](R)-PK11195 injection (5.6 ± 1.1 MBq/kg over 30 s at a constant rate). PET acquisition parameters were the following: slice thickness of 2 mm, matrix size of 128 × 128, and consecutive frames of 10 × 6 s, 4 × 60 s, 7 × 300 s, and 2 × 600 s. PET reconstructions were corrected for random coincidences, attenuation (using a preceding transmission CT with similar reconstruction parameters), scatter, and decay. Finally, transmission CT images were registered to match the resolution of CT images. Respiratory settings were kept unchanged during all imaging procedures, except during the last PET acquisition during which protective ventilation was restored, as an attempt to stabilize VILI during image acquisitioning.

CT image segmentation. Lung regions of interests (ROIs) were drawn on CT scans, using OsiriX (Bernex, Switzerland), excluding intrathoracic large vessels and large airways. Initial drawing was automatically segmented using the MiaLite module for OsiriX (using a radiological attenuation frame between −950 and −50 Hounsfield units) and secondarily hand-corrected in lung regions that had been erroneously excluded by automatic segmentation (70). ROIs were then divided in half along the anteroposterior axis, and then each half was equally divided in three thirds along the cephalo-caudal axis, resulting in six lung regions (Fig. 2). Bullae and pneumothorax were excluded from the ROI.

CT lung analysis. Aeration and CT-derived volumes were computed using MatLab dedicated scripts (Natick, Massachusetts) on the whole lung and in the six lung regions, using X-ray attenuation [(A_X) in Hounsfield units] for the calculation of the tissue and gas voxel fractions (F_{Tis} and F_{Gas}):

$$F_{Tis} = \left(1,000 + A_X\right)/1,000 \quad (5)$$

$$F_{Gas} = -A_X/1,000 \quad (6)$$

Voxel indexation was based on aeration level, as previously described [nonaerated (−100 to +100), poorly aerated (−500 to −101), normally aerated (−900 to −501), and hyperinflated (−1,000 to −901)] (24, 63).

CT-derived volumes. On the whole lung and for each regional ROI, we computed all the following volumes: CT-derived FRC (V_{FRC}) was defined as the total gas volume at FRC. CT-derived end-expiratory aerated volume ($V_{Gas,EE}$) and end-inspiratory aerated volume were defined as the total gas volume at end expiration and end inspiration, respectively. ROI lung weight was estimated by the product of the ROI volume by its tissue fraction, assuming a tissue density of 1 g/ml (26).

CT-derived V_T was the increase in total gas volume between end inspiration and end expiration. CT-derived PEEP-related increase in gas volume (V_{PEEP}) was the increase in gas volume between FRC and end expiration. Tidal hyperinflation was the difference in hyperinflated aerated volumes between end inspiration and end expiration in all lung voxels and was normalized to the CT-derived V_T (9, 18, 63).

CT analysis of V_T and PEEP-related alveolar recruitment. Tidal recruitment ($V_{REC,VT}$, in ml) was estimated by the difference in tissue volume of the nonaerated compartment ($V_{Tis,NA}$) between end expiration and end inspiration, adjusted to the mean gas fraction of the ROI at end inspiration ($F_{Gas,Aer,EI}$), assuming that recruitment would lead to a similar degree of aeration in the ROI (52):

$$V_{REC,VT} = \left(V_{Tis,NA,EE} - V_{Tis,NA,EI}\right) \times F_{Gas,Aer,EI}/\left(1 - F_{Gas,Aer,EI}\right) \quad (7)$$

Likewise, CT-derived PEEP-related recruitment ($V_{REC,PEEP}$, in ml) was estimated as the difference in tissue volume of the nonaerated noninflated compartment between FRC and end expiration, corrected for the mean gas fraction of the ROI at end expiration (52):

$$V_{REC,PEEP} = \left(V_{Tis,NA,FRC} - V_{Tis,NA,EE}\right) \times F_{Gas,Aer,EE}/\left(1 - F_{Gas,Aer,EE}\right) \quad (8)$$

CT-derived lung strains. Lung strain is formulated as the increase in gas volume induced by the application of PEEP and/or the insufflation of V_T, normalized to the reference aerated volume (9, 12, 25). It may be divided into two components: dynamic strain related to V_T inflation; and static strain related to PEEP-related increase in gas volume (V_{PEEP}) (54, 55). Here, the components of lung strain were calculated both on the whole lung and for the six distinct lung ROIs, using the following equations, accounting for the existence of alveolar recruitment (9, 52):

$$\text{Dynamic strain} = \left(V_T - V_{REC,VT}\right)/V_{Gas,EE} \quad (9)$$

$$\text{Static strain} = \left(V_{PEEP} - V_{REC,PEEP}\right)/V_{FRC} \quad (10)$$

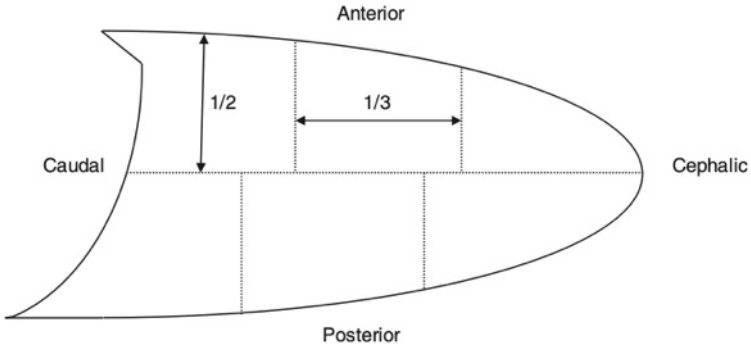


Fig. 2. Division pattern of lung regions of interest used for regional CT, PET, and pathology analyses. The lung parenchyma was first divided in half along the antero-posterior axis, taking the greatest length along this axis. Then, it was divided in thirds along the cephalo-caudal axis (using the maximum distance between the apex and the caudal extremity of the parenchyma). CT, computerized tomography; PET, positron emission tomography; ROI, region of interest.

J Appl Physiol • doi:10.1152/japplphysiol.00825.2018 • www.jappl.org
Downloaded from www.physiology.org/journal/jappl at Boston Univ (128.197.229.194) on August 20, 2019.

Table 1. *Lung pathology scores*

Score	Macrophage Recruitment	Acute Lung Injury
0	Absence of alveolar macrophage	Normally appearing lung or atelectasis (atelectasis per se is disregarded and not scored as abnormality)
1	Mild macrophage recruitment, following a scattered pattern	Mild congestion, interstitial edema, and neutrophilic infiltrate, with red blood cells and/or neutrophils only occasionally in the alveolar spaces
2	Moderate macrophage recruitment, organized in clusters	Moderate congestion and interstitial edema, with neutrophils partially filling the alveolar spaces but without consolidation
3	Major macrophage recruitment, diffusely distributed	Marked congestion and interstitial edema, with neutrophilic infiltrate nearly or completely filling the alveolar spaces (consolidation)

For each regional sample, the percentage of extent of histological acute lung injury was multiplied by the histologic score to calculate a weighted lung injury score.

$$\text{Total strain} = \text{Dynamic strain} + \text{Static strain} \quad (11)$$

Finally, specific lung elastance was derived from the ratio of stress to strain (53, 55).

[^{11}C](R)-PK11195 lung uptake. PET lung ROI were drawn on the corresponding transmission CT scan and divided as described above. [^{11}C](R)-PK11195 lung uptake was quantified by the standardized uptake value (SUV), measured at equilibrium between 40 min and 60 min after tracer injection (44, 65). Because tissue- or blood-dense regions will induce an overestimation of the PET signal compared with regions with a higher gas fraction, whole-lung and regional raw SUVs were normalized to the tissue fraction measured at mean airway pressure in the corresponding ROI of the transmission CT to account for such regional lung disparities in lung aeration (11). Hence, the SUVs used in all analyses were calculated as follows:

$$\text{SUV} = \text{raw SUV value}/F_{Tis} \quad (12)$$

Pathology protocol. At end experiment, both lungs were surgically extracted. The right lung was divided in six parts following the aforementioned dividing pattern, and a cubic-centimeter sample of each region was prepared for pathology analysis with hematoxylin and eosin stain. Lung injury and alveolar macrophage presence were

Table 2. *Respiratory mechanics and computed tomography-derived parameters (whole-lung measurements)*

Variables	Protective Ventilation, $n = 6$	Injurious Ventilation, $n = 6$	P Value
Respiratory mechanics			
Tidal volume, ml/kg[a]	6 ± 1	57 ± 6	<0.01
Respiratory rate, breaths/min	25 ± 0	15 ± 2	<0.01
Plateau pressure, cmH_2O	12 ± 1	44 ± 5	<0.01
Driving pressure, cmH_2O	7 ± 1	43 ± 5	<0.01
ΔP_{ES}, cmH_2O	4 ± 1	8 ± 4	0.08
ΔP_L, cmH_2O	9 ± 1	36 ± 6	<0.01
Total PEEP, cmH_2O	6 ± 2	1 ± 1	<0.01
Respiratory system resistance, $cmH_2O \cdot l^{-1} \cdot s^{-1}$	13 ± 8	20 ± 5	0.05
Respiratory system elastance, cmH_2O/l	35 ± 8	30 ± 2	0.26
Lung elastance, cmH_2O/l	29 ± 12	24 ± 2	0.24
Chest wall elastance, cmH_2O/l	6 ± 7	7 ± 2	0.83
CT-derived parameters			
Functional residual capacity, ml	497 ± 44	526 ± 145	0.68
End-expiratory aerated volume, ml	659 ± 72	682 ± 108	0.71
End-inspiratory aerated volume, ml	847 ± 84	2,091 ± 140	<0.01
Lung tissue weight, g	466 ± 31	447 ± 42	0.19
Lung tissue fraction	0.39 ± 0.03	0.34 ± 0.03	0.03
V_T, ml	188 ± 20	1,409 ± 162	<0.01
Tidal volume, ml/kg	7 ± 1	50 ± 5	<0.01
Tidal recruitment, ml	11 ± 16	253 ± 155	0.01
Fraction of V_T, %	6 ± 9	17 ± 10	0.15
Tidal hyperinflation, %[b]	1 ± 1	43 ± 19	<0.01
V_{PEEP}, ml	162 ± 39	156 ± 133	0.92
PEEP-related alveolar recruitment, ml	2 ± 14	48 ± 54	0.08
Fraction of V_{PEEP}, %	1 ± 8	61 ± 86	0.15
Lung strains			
Total strain	0.6 ± 0.0	2.0 ± 0.4	<0.01
Dynamic strain			
Absolute value	0.3 ± 0.0	1.7 ± 0.3	<0.01
Fraction of total strain, %	46 ± 10	88 ± 13	<0.01
Static strain			
Absolute value	0.3 ± 0.1	0.3 ± 0.3	0.68
Fraction of total strain, %	54 ± 10	12 ± 13	<0.01
Lung specific elastance, cmH_2O[c]	15 ± 2	18 ± 3	0.10

Values are mean ± SD. Values reported under injurious ventilation were those measured after 4 h of high-volume ventilation. CT, computerized tomography; ΔP_{ES}, difference in esophageal pressure between functional residual capacity and end inspiration; ΔP_L, release-derived transpulmonary pressure; $P_{ES,PLAT}$, end-inspiratory esophageal pressure; PEEP, positive end-expiratory pressure; V_{PEEP}, PEEP-related increase in gas volume; V_T, tidal volume. [a]Measured from the airflow signal; [b]normalized to the V_T; [c]calculated as the ratio of stress (ΔP_L) to total strain.

J Appl Physiol • doi:10.1152/japplphysiol.00825.2018 • www.jappl.org
Downloaded from www.physiology.org/journal/jappl at Boston Univ (128.197.229.194) on August 20, 2019.

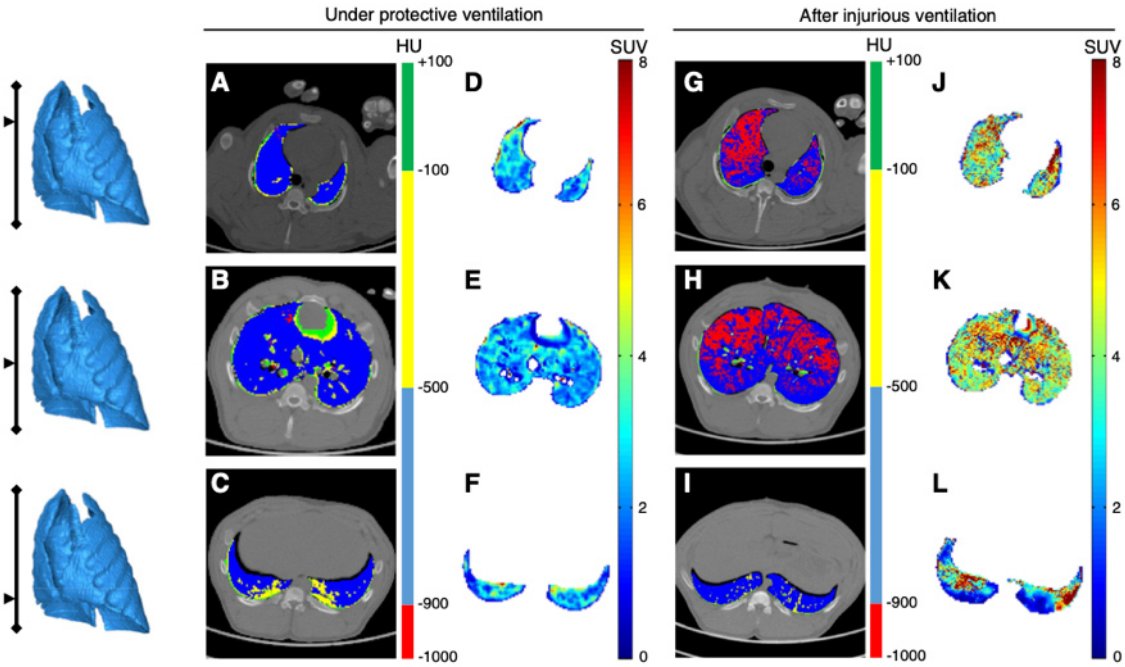


Fig. 3. Parametric images of [^{11}C](R)-PK11195 lung uptake, before and after experimental VILI, at three different anatomic levels. Levels of CT and PET transversal slices along the cephalo-caudal axis are represented on the left-most three-dimensional lung image. *A*, *B*, *C*, *G*, *H*, and *I*: end-inspiratory CT parametric images, meaning each voxel color is a function of lung aeration as follows: nonaerated lung (+100 to −100 HU) represented in green, poorly aerated lung (−500 to −101 HU) in yellow, normally aerated lung (−900 to −501 HU) in blue and hyperinflated lung (−1,000 to −901 HU) in red). *D*, *E*, *F*, *J*, *K*, and *L*: parametric PET images show the voxel-level SUV corrected for tissue fraction. CT, computed tomography; HU, Hounsfield units; PET, positron emission tomography; SUV, standardized uptake value; VILI, ventilation-induced lung injury.

quantified using semiquantitative scores by two lung pathologists blinded to the study's protocol (Table 1) (8).

Statistics. A *P* value below 0.05 was chosen for statistical significance. Quantitative variables are reported as mean ± standard deviation if normally distributed, and as median with interquartile range if not. Categorical variables are reported as count (percentage). All analyses were performed using R software and associated packages (4, 56).

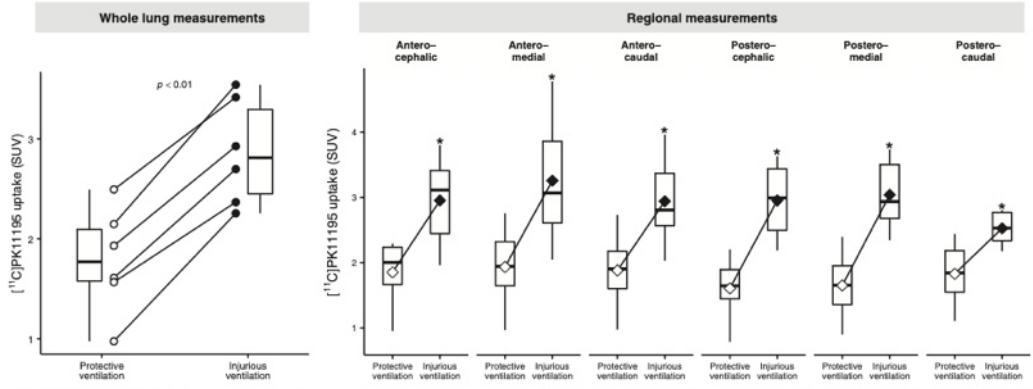


Fig. 4. [^{11}C](R)-PK11195 whole-lung and regional uptake, before and after experimental VILI. *Left*, whole-lung measurements of [^{11}C](R)-PK11195 uptake. Data are boxplots and individual whole-lung [^{11}C](R)-PK11195 SUV per animal (circles) at each experimental time. Whole-lung SUV significantly increased between experimental conditions. *Right*, [^{11}C](R)-PK11195 uptake data measured in the six lung regions, using boxplots and mean SUV (diamonds) under protective ventilation and after experimental VILI. Regional SUV significantly increased across all regions between experimental conditions and between regions ($P < 0.01$ − significant interaction). *$P < 0.05$ between protective ventilation and experimental VILI within each lung region. Regional SUV was significantly different between postero-medial and postero-caudal regions after experimental VILI. SUV, standardized uptake value corrected for tissue fraction; VILI, ventilation-induced lung injury.

J Appl Physiol • doi:10.1152/japplphysiol.00825.2018 • www.jappl.org
Downloaded from www.physiology.org/journal/jappl at Boston Univ (128.197.229.194) on August 20, 2019.

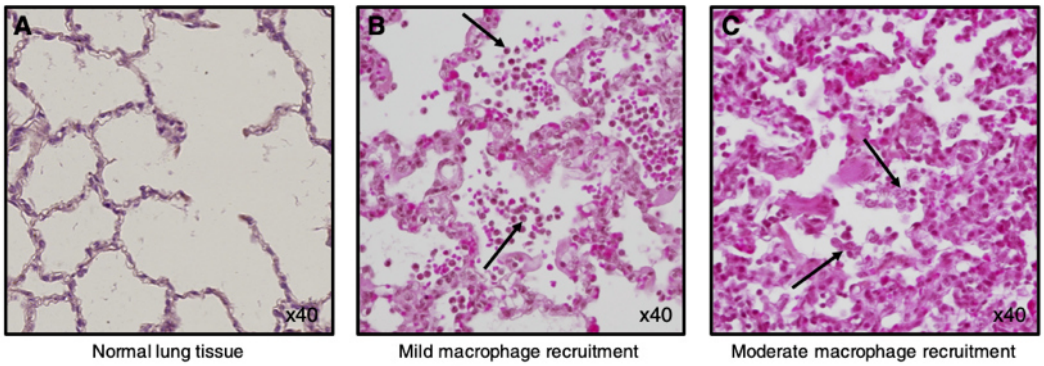


Fig. 5. Examples of lung macrophage recruitment in pathology. The figure shows normal pulmonary tissue (*A*), pulmonary tissue with moderate ALI and mild macrophage recruitment (*B*), and tissue with mild ALI and moderate macrophage recruitment (*C*). All samples were colorized using hematoxylin eosin staining and magnified ×40. No sample had a score of 3. The sample presented in *A* was taken in the antero-cephalic region, *B* in the postero-caudal region, and *C* in the antero-caudal region. All samples show a moderate degree of tissue congestion. ALI, acute lung injury.

On the whole lung, variables were compared between T1 and T2 using the Student's paired *t*-test. Comparison between *1*) experimental conditions and *2*) lung regional measurements of both PET- and CT-derived variables was performed by mixed-effects linear regression models (using "animal" as the random effect), followed by pairwise regional comparisons between experimental conditions, when appropriate (14). Comparison of the regional scores of lung injury and macrophage recruitment was carried out using ANOVA. Associations between lung pathology scores and regional SUV at T2 were assessed using univariate linear regression models. The association of each regional CT-derived variables with regional [^{11}C](R)-PK11195 SUV was tested using a univariate linear mixed-effect model, using "lung region" nested in "animal" as the random effect; this way we accounted for the repetition of regional measurements in a given animal under each experimental condition. Variables with a *P* value below 0.2 in the univariate analyses were considered for inclusion in a multivariable mixed-effect model, using backward stepwise descending selection, and using the same random effect.

RESULTS

Eleven animals were studied, of which six successfully completed the whole protocol: two animals died from refractory shock during experimental VILI, and [^{11}C](R)-PK11195 radiochemical synthesis failed in three others (one because of ^{11}C radiotracer synthesizer system failure and two because of malfunction of the hydriodic acid [HI] transfer valve). ΔP_L significantly increased between T1 and T2 from 9 ± 1 to 36 ± 6 cmH_2O. Table 2 reports whole-lung respiratory mechanics and CT-derived measurements.

Analysis of [^{11}C](R)-PK11195 lung uptake. After 4 h of VILI, PET images showed a diffuse distribution of radioactivity in a scattered patchwork-like pattern (Fig. 3). On the whole lung, SUV increased significantly from 1.8 ± 0.5 to 2.9 ± 0.5 after experimental VILI (Fig. 4). The absolute change in SUV between experimental conditions was similar between animals (absolute increase in SUV: 1.1 ± 0.2, coefficient of variation = 0.18), yet we observed a notable interindividual variability (SUV coefficients of variation at T1 and T2: 0.29 and 0.19, respectively). Regional SUV significantly increased between T1 and T2 in all regions, and significantly differed at T2 between the postero-medial and postero-caudal lung regions (Fig. 4).

Relationship with lung pathology findings. A majority of histological regions presented mild ($n = 20$) or moderate ($n = 6$) macrophage alveolar recruitment (Fig. 5 and Fig. 6). Mean lung injury pathology score was 0.7 ± 0.8 and was significantly higher in the antero- and postero-caudal lung regions, compared with all others (Fig. 7). Regional SUV after VILI was significantly and positively associated with the magnitude of macrophage recruitment (Fig. 8) but not with the lung injury pathology score ($P = 0.14$).

Analysis of CT-derived parameters. After 4 h of VILI, intrapulmonary bullae were detected in three animals, and a

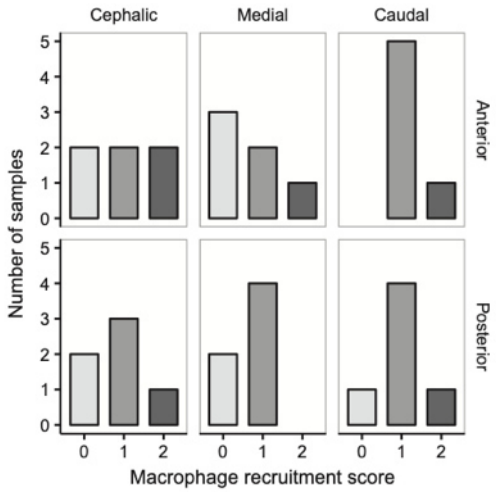


Fig. 6. Regional distribution of macrophage recruitment score. The figure shows the distribution of the macrophage recruitment pathology score (0 to 3) in each lung region, all measured after experimental ventilation-induced lung injury. No samples had a macrophage recruitment score of 3, and no significant differences existed in macrophage recruitment scores across lung regions (*P* value = 0.77).

J Appl Physiol • doi:10.1152/japplphysiol.00825.2018 • www.jappl.org
Downloaded from www.physiology.org/journal/jappl at Boston Univ (128.197.229.194) on August 20, 2019.

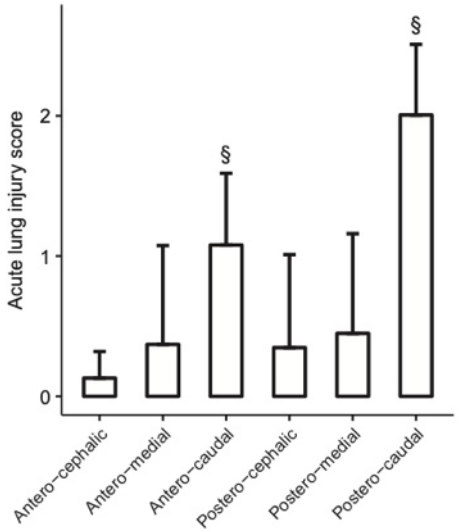


Fig. 7. Regional distribution of the acute lung injury score. The figure shows the mean (with standard deviation) of the regional acute lung injury score. The histological score was significantly higher in the antero- and postero-caudal regions, compared with the other 4 (§$P < 0.05$, compared with antero-cephalic, antero-medial, postero-cephalic, and postero-medial regions).

unilateral pneumothorax was observed in one pig. No significant change in estimated lung tissue weight was observed on the whole lung (Table 2). On the whole lung, total strain significantly increased from 0.6 ± 0.0 at T1 to 2.0 ± 0.4 at T2 and tidal hyperinflation from 1 ± 1% to 43 ± 19%. V_{PEEP}, $V_{REC,PEEP}$, or static strain did not significantly change between experimental conditions (Table 2).

Regional aeration was significantly modified by experimental VILI. At end inspiration, normally, poorly, and nonaerated volumes significantly decreased and hyperinflated volumes significantly increased at T2 in all regions, except in the postero-cephalic and postero-medial regions in which the normally aerated volume did not vary significantly (Table 3). At end inspiration, the hyperinflated lung compartment accounted for more than one-third of the aerated volume in antero-medial and antero-caudal regions.

Regional analysis of CT-derived parameters is presented in Table 4. Regional CT-derived V_T, $V_{REC,VT}$, tidal hyperinflation, V_{PEEP}, and dynamic strain varied significantly between experimental conditions and regions, whereas $V_{REC,PEEP}$ and static strain did not (Table 4). Total strain was >2 in 52% of lung regions ($n = 19$) during experimental VILI, whereas tidal hyperinflation was >50% of V_T in 64% of lung regions ($n = 23$).

Association of [^{11}C](R)-PK11195 lung uptake with CT-derived parameters. In univariate analysis, regional SUV was significantly associated with regional tidal hyperinflation and dynamic strain (Fig. 9). In the multivariate analysis, dynamic strain and tidal hyperinflation were the only variables significantly associated with regional SUV (Table 5). This association persisted after exclusion of the animal with the pneumothorax (Table 6).

DISCUSSION

The main findings of our study were that *1*) [^{11}C](R)-PK11195 lung uptake is significantly increased after 4 h of high-volume mechanical ventilation compared with protective ventilation, *2*) macrophage lung influx in pathology is significantly associated with the PET signal, suggesting the potential of [^{11}C](R)-PK11195 to quantify noninvasively acute lung inflammatory processes related to macrophages lung influx, and *3*) the intensity of regional volutrauma, quantified by tidal hyperinflation and dynamic strain, is associated with [^{11}C](R)-PK11195 lung regional uptake.

To our knowledge, the present study is the first to evaluate the performance of [^{11}C](R)-PK11195, a TSPO-specific PET radiotracer, in the context of experimental VILI. Thanks to the short half-life of its synthon, it enabled the in vivo and repeated quantification of a marker of the inflammatory cellular response (40). Our findings suggest the existence of a cellular activation in response to volutrauma, supporting the pathogenic conceptualization of a mechanical triggering of acute inflammation as a key step in the development of biotrauma.

Increased macrophage lung influx was observed after only 4 h of experimental VILI, when changes in lung CT densities (i.e., edema formation) are usually first observed after twice that time of injurious ventilation (17). Others have shown an increased lung uptake of ^{18}F-FDG at even earlier time points (90 min) (50). Taken together, this suggests that the onset of mechanical trauma is rapidly followed by a metabolic and inflammatory response (50). [^{11}C](R)-PK11195 uptake was increased across all lung regions, consistent with homogenous macrophage distribution in pathology. Besides, the differences between the regional distribution of CT-derived parameters and inflammation could indicate that different forms of mechanical

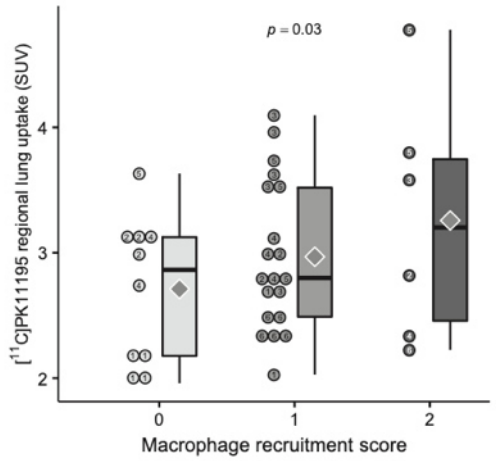


Fig. 8. Association of lung macrophage recruitment intensity with [^{11}C](R)-PK11195 regional lung uptake after experimental VILI. The figure shows the individual regional [^{11}C](R)-PK11195 SUV (circles with animal identification number), SUV boxplots, and mean SUV (shaded diamonds) for each score level, all measured after experimental VILI. Regional [^{11}C](R)-PK11195 lung uptake was significantly associated with macrophage recruitment. SUV: standardized uptake value corrected for tissue fraction. SUV, standardized uptake value; VILI, ventilation-induced lung injury.

Downloaded from www.physiology.org/journal/jappl at Boston Univ (128.197.229.194) on August 20, 2019.

Table 3. *Distribution of CT-derived lung aeration in each lung region and at in each experimental condition, measured at end expiration and end inspiration*

		Protective Ventilation, % volume				Injurious Ventilation, % volume			
Lung region	Respiratory phase	Hyperinflated	Normally aerated	Poorly aerated	Nonaerated	Hyperinflated	Normally aerated	Poorly aerated	Nonaerated
Antero-cephalic	End expiration	0 ± 0	85 ± 4	14 ± 3	2 ± 1	1 ± 0	87 ± 1	11 ± 1*	2 ± 1
	End inspiration	0 ± 0	87 ± 2	12 ± 2	1 ± 0	29 ± 12*	64 ± 12*	6 ± 1*	1 ± 0
Antero-medial	End expiration	0 ± 0	86 ± 4	12 ± 3	1 ± 1	1 ± 1	88 ± 1	10 ± 1	1 ± 0
	End inspiration	1 ± 1	89 ± 2	10 ± 2	1 ± 0	43 ± 17*	53 ± 16*	4 ± 1*	0 ± 0*
Antero-caudal	End expiration	0 ± 1	87 ± 3	11 ± 2	2 ± 1	1 ± 1	88 ± 2	10 ± 1	1 ± 0
	End inspiration	1 ± 0	89 ± 1	9 ± 1	1 ± 0	43 ± 18*	52 ± 18*	4 ± 0*	0 ± 0*
Postero-cephalic	End expiration	0 ± 0	81 ± 9	18 ± 8	1 ± 1	0 ± 0	82 ± 9	16 ± 8	1 ± 1
	End inspiration	0 ± 0	87 ± 6	13 ± 6	1 ± 0	21 ± 11*	74 ± 11	5 ± 1*	0 ± 0*
Postero-medial	End expiration	0 ± 0	78 ± 6	20 ± 6	1 ± 1	0 ± 0	71 ± 15	25 ± 10	4 ± 4
	End inspiration	0 ± 0	87 ± 4	12 ± 4	1 ± 0	24 ± 14*	73 ± 13	3 ± 0*	0 ± 0*
Postero-caudal	End expiration	0 ± 0	48 ± 10	44 ± 9	7 ± 6	0 ± 0*	23 ± 15*	48 ± 5	29 ± 17*
	End inspiration	0 ± 0	68 ± 7	28 ± 6	4 ± 3	6 ± 5*	84 ± 6*	9 ± 4*	1 ± 1*

Data are means ± SD. Data refer to the volume of the aeration category, normalized to the total volume of the related region at a given respiratory phase and experimental condition, and are expressed in %. Lung aeration is categorized as follows based on X-ray attenuation in CT: nonaerated lung (100 to −100 HU), poorly aerated lung (−500 to −101 HU), normally aerated lung (−900 to −501 HU), and hyperinflated lung (−1,000 to −901 HU). CT, computerized tomography; HU, Hounsfield units. *$P < 0.05$ between protective and injurious ventilation for same aeration level, same respiratory phase, and same lung region.

trauma (stress, strain, tidal hyperinflation) can trigger a similar inflammatory response.

The present experimental model of VILI, using the titration of V_T to reach a transpulmonary pressure between 35 and 40 cmH_2O in healthy lungs, allowed the application of high degrees of recognized surrogates of volutrauma, with subsequent observation of lung macrophage recruitment (68). Our model allowed observing high levels of the dynamic component of strain, whereas total strain reached the cut-off value associated with lung injury and edema formation coined by Protti et al. (54, 55). Finally, hyperinflation and tidal hyperinflation were largely observed in the most anterior regions and in proportions similar to patients with acute respiratory distress syndrome at high risk of VILI (63).

We exposed lungs to PEEP at 0 cmH_2O during injurious ventilation as a way to potentiate alveolar collapse and atelectrauma, to study this potential mechanism of lung injury (32, 33). PEEP has shown protective effects against atelectrauma in surfactant-depleted experimental models of acute lung injury with high lung recruitment potential, in relation with the application of static strain (7, 38, 48, 54). Yet others have challenged the injurious potential of atelectrauma by observing the absence of inflammatory response (as assessed by PET or broncho-alveolar lavage), in experimental models of cyclic

Table 4. *Comparison of regional computerized tomography-derived parameters before and after injurious ventilation*

		Lung Regions of Interest						*P* Value Interaction Condition × Region
Variables	Experimental Condition	Antero-cephalic	Antero-medial	Antero-caudal	Postero-cephalic	Postero-medial	Postero-caudal	
Functional residual capacity (V_{FRC}), ml	Protective ventilation	50 ± 12	88 ± 18	106 ± 7	43 ± 9	165 ± 18	44 ± 13	
	Injurious ventilation	55 ± 18	102 ± 32	124 ± 31	39 ± 16	155 ± 41	51 ± 46	0.59
End-expiratory aerated volume, ml	Protective ventilation	61 ± 14	118 ± 17	140 ± 14	52 ± 13	206 ± 32	82 ± 27	
	Injurious ventilation	69 ± 8	148 ±21	147 ± 30	57 ± 10	215 ± 47	46 ± 25*	0.01
End-inspiratory aerated volume, ml	Protective ventilation	77 ± 16	164 ± 25	168 ± 15	62 ± 15	239 ± 38	138 ± 35	
	Injurious ventilation	163 ± 24*	433 ± 41*	291 ± 43*	167 ± 18*	619 ± 55*	418 ± 42*	<0.01
Lung weight, g	Protective ventilation	33 ± 5	64 ± 6	68 ± 10	35± 5	149 ± 20	116 ± 24	
	Injurious ventilation	29 ± 3	63 ± 10	61 ± 8	27 ± 4	118 ± 15*	148 ± 19*	<0.01
Lung tissue fraction	Protective ventilation	0.33 ± 0.03	0.32 ± 0.03	0.31 ± 0.03	0.39 ± 0.04	0.40 ± 0.03	0.53 ± 0.05	
	Injurious ventilation	0.25 ± 0.04*	0.24 ± 0.03*	0.25 ± 0.02*	0.31 ± 0.05*	0.34 ± 0.03	0.58 ± 0.10	<0.01
Tidal volume (V_T), ml	Protective ventilation	16 ± 3	46 ± 10	27 ± 8	9 ± 2	33 ± 13	57 ± 10	
	Injurious ventilation	94 ± 19*	286 ± 50*	144 ± 31*	110 ± 17*	405 ± 47*	371 ± 51*	<0.01
Tidal recruitment ($V_{REC,VT}$), ml	Protective ventilation	1 ± 2	1 ± 3	1 ± 4	1 ± 1	4 ± 4	3 ± 4	
	Injurious ventilation	1 ± 4	4 ± 5	9 ± 4	4 ± 4	67 ± 80*	111 ± 66*	<0.01
Tidal hyperinflation, %	Protective ventilation	0 ± 0	2 ± 2	1 ± 3	0 ± 0	−2 ± 4	0 ± 0	
	Injurious ventilation	54 ± 23*	69 ± 26*	91 ± 35*	34 ± 20*	38 ± 23*	9 ± 6	<0.01
PEEP-related increase in gas volume (V_{PEEP}), ml	Protective ventilation	11 ± 4	29 ± 10	34 ± 9	9 ± 6	41 ± 15	38 ± 14	
	Injurious ventilation	14 ± 16	46 ± 49	23 ± 28	18 ± 12	60 ± 39	−4 ± 41*	0.01
PEEP-related alveolar recruitment ($V_{REC,PEEP}$), ml	Protective ventilation	−1 ± 1	−2 ± 2	−2 ± 4	0 ± 1	1 ± 2	2 ± 4	
	Injurious ventilation	0 ± 4	1 ± 6	0 ± 5	5 ± 12	7 ± 15	9 ± 6	0.63
Dynamic strain	Protective ventilation	0.3 ± 0	0.4 ± 0.1	0.2 ± 0.1	0.2 ± 0	0.1 ± 0.1	0.7 ± 0.2	
	Injurious ventilation	1.3 ± 0.2*	2 ± 0.6*	1 ± 0.3	1.9 ± 0.5*	1.6 ± 0.2*	6.3 ± 2.1*	<0.01
Static strain	Protective ventilation	0.2 ± 0.1	0.4 ± 0.2	0.3 ± 0.1	0.2 ± 0.1	0.2 ± 0.1	0.8 ± 0.2	
	Injurious ventilation	0.4 ± 0.6	0.7 ± 1.0	0.2 ± 0.2	0.3 ± 0.4	0.4 ± 0.3	0.2 ± 0.8	0.06

Data are means ± SD. PEEP, positive end-expiratory pressure. *P value < 0.05 between protective and injurious ventilation within lung region.

J Appl Physiol • doi:10.1152/japplphysiol.00825.2018 • www.jappl.org
Downloaded from www.physiology.org/journal/jappl at Boston Univ (128.197.229.194) on August 20, 2019.

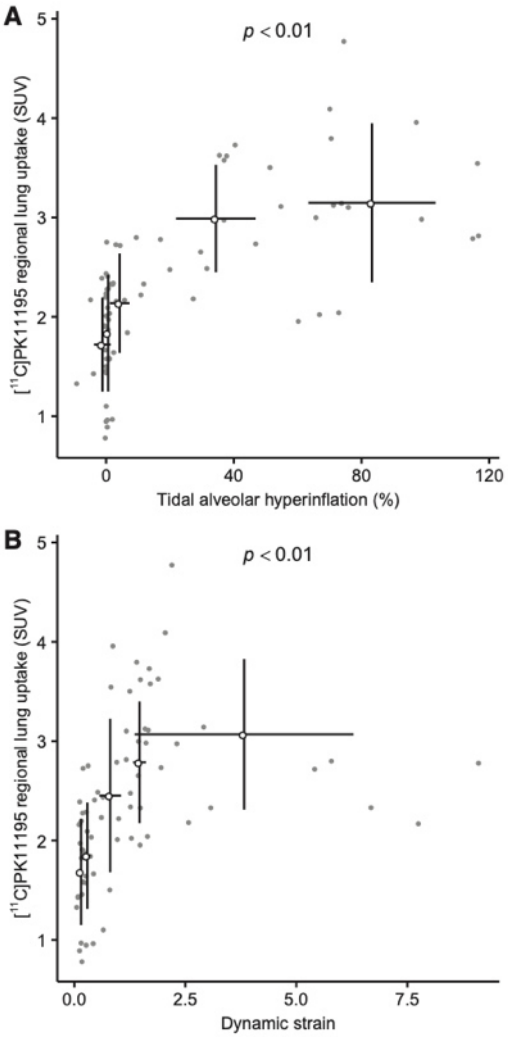


Fig. 9. Association of regional [^{11}C](R)-PK11195 lung uptake with computed tomography-derived parameters. Data shown are individual regional measurements of [^{11}C](R)-PK11195 standardized uptake value as a function of mean tidal hyperinflation (*A*) or mean dynamic strain (*B*) (gray dots). We also present the mean value of regional [^{11}C](R)-PK11195 SUV ± SD (*y*-axis) as a function of the mean CT-derived parameter ± SD (*x*-axis). Tidal hyperinflation and dynamic strain means were computed by dividing the data into quintiles. The *P* values correspond to a fitted mixed-effects regression model. CT, computed tomography; SUV, standardized uptake value corrected for tissue fraction.

recruitment-derecruitment (30, 68). In the present model, tidal recruitment was at its highest in the postero-caudal region, which was also the region showing the highest degree of dynamic strain and histologic lung injury. This finding relates to the specific structure of the pig chest, in which lung inflation is distributed toward the abdomen, inducing an elongation of the lungs mainly along the cephalo-caudal axis (51). Hence, our experimental model seemingly applied its maximum kinetic deformation effects on the most caudal lung regions.

Conversely, [^{11}C](R)-PK11195 regional uptake (and macrophage recruitment in histology) was not significantly higher in the caudal regions, as compared with other lung territories, nor was it associated with tidal recruitment or with the acute lung injury score. Although increased TSPO presence may have been induced by atelectrauma, we hypothesize that this discrepancy may be the result of *1*) the PET signal may have been underestimated in this region because of diaphragm proximity and partial-volume effect, and *2*) the PET signal may be underestimated in this region in relation with overcorrection by the CT-calculated tissue fraction. This hypothesis is, however, unlikely because lung tissue weight was not associated with [^{11}C](R)-PK11195 regional uptake. Further refinement of [^{11}C](R)-PK11195 kinetic analysis using 3- or 4-compartment pharmacokinetic models accounting for the presence of extravascular lung water and blood volume in the ROI may circumvent this problem.

We observed that high-V_T ventilation was not associated with a significant change in the respiratory system elastance at 4 h (as compared with protective ventilation), differing from what has been previously observed in similar models (54, 55). One could argue that our model did not reach the plateau portion of the pressure-volume curve. However, this seems unlikely, as we applied transpulmonary pressures corresponding to total lung capacity in pigs and observed major lung hyperinflation (51, 53). This absence of significant change in elastance may be related to the timing at which we assessed respiratory mechanics; indeed, measurements were probably performed at an early stage of experimental VILI, before extensive edema formation and alveolar consolidation had time to appear, as compared with longer-running models (43, 67).

Specific lung elastance values of the present study were significantly higher that reported by Protti et al. (53–55, 59) but congruent with that observed in younger pigs (10, 67). First, this may be explained by an overestimation of ΔP_L because of the use of smaller volumes to prime the esophageal balloon (29, 47). However, we used a validated method for esophageal balloon confirmation of placement, with satisfactory correlation between P_{AW} and P_{ES} (28, 71). Second, animals in the present work were ventilated in supine position, whereas the animals studied by Protti et al. (54, 55) were all ventilated in prone position. This difference in ventilation protocol (supine vs. prone) has important effects on P_{ES} values, as the esophagus is situated closer to the posterior pleura in the swine thorax and is impacted by intrathoracic organs' weight (71). Finally, our results are in line with previous work showing consistent elastic (i.e., stress/strain) characteristics across various large mammalian species, because of similar proportions and distribution of elastin and collagen in the alveolar wall (46).

Limitations specific to experimental lung injury must be acknowledged. First, V_T had to be titrated well above usual ranges, limiting the translatability of our results to the clinical setting. However, our experimental model was titrated on physiological markers and produced stress and strain levels, mirroring that met in both the preclinical and clinical setting (15, 55, 63). Consequently, further work will be required to assess the performance of the biomarker when the magnitude of mechanical injury is lower, or in the context of a second-hit model.

J Appl Physiol • doi:10.1152/japplphysiol.00825.2018 • www.jappl.org
Downloaded from www.physiology.org/journal/jappl at Boston Univ (128.197.229.194) on August 20, 2019.

Table 5. *Association of regional CT-derived lung parameters with regional [^{11}C]PK11195 lung uptake*

	Regional Sandardized Uptake Value, n = 72			
	Univariate analysis		Multivariate analysis	
Regional variables	β estimate ± SE	P value	β estimate ± SE	P value
CT-derived volumes				
Functional residual capacity, per 100 ml	0.2 ± 0.2	0.21		
End-expiratory aerated volume, per 100 ml	0.1 ± 0.1	0.40		
End-inspiratory aerated volume, per 100 ml	0.2 ± 0.0	<0.01		
Lung weight, at mean airway pressure, per 100 g	−0.2 ± 2.0	0.27		
Tidal volume, per 100 ml	0.3 ± 0.0	<0.01		
Tidal recruitment, per 100 ml	0.3 ± 0.2	0.07		
Tidal hyperinflation, per 10%	0.2 ± 0.0	<0.01	0.2 ± 0.0	<0.01
PEEP-related increase in gas volume, per 100 ml	−0.1 ± 0.3	0.76		
PEEP-related alveolar recruitment, per 100 ml	1.8 ± 1.2	0.17		
Lung strains				
Total strain, per 1 unit	0.1 ± 0.0	<0.01		
Dynamic strain, per 1 unit	0.2 ± 0.0	<0.01	0.1 ± 0.0	<0.01
Static strain, per 1 unit	−0.1 ± 0.2	0.69		

Association was evaluated with the use of linear mixed-effects models, using "lung region" nested in "animal" as the random effect, to account for the repetition of regional measurements in a given animal. We first performed a univariate analysis of parameters associated with the regional SUV. Variables with a P value < 0.20 in univariate analysis were then included in the multivariate model. End-inspiratory aerated volume, tidal volume, and total strain were not inserted in the multivariate mixed-effects model, to limit potential collinearity with dynamic strain. No collinearity was detected between dynamic strain and tidal hyperinflation. Total number of measurements used to assess the association corresponded to the number of studied animals (n = 6) × number of experimental conditions (n = 2) × number of regional lung measurements per animal (n = 6) i.e., 72 measurements. All volumes and strains are extracted from CT images. SUV was corrected for tissue fraction of the studied region of interest. CT, computed tomography; PEEP, positive end-expiratory pressure; SUV, standardized uptake value.

Second, the radiotracer's uptake showed high interindividual variability when estimated using the SUV. These elements may be directly related to PET—and more specifically lung PET—methodology. Indeed, spill-over and partial-volume effects (related to the radiotracer's uptake by surrounding organs), and low PET spatial resolution may bias the signal (2). Also, heterogeneities in pulmonary perfusion, amplified cardio-pulmonary interactions, and altered metabolism could also have modified the radiotracer's regional bioavailability (49). Also, the SUV may have been contaminated by [^{11}C](R)-PK11195 radio-metabolites by a free fraction of the radiotracer present within the ROI (i.e., not bound to the TSPO receptor) or by its distribution in lung edema (42). These elements were circumvented by the intraindividual repetition of PET measures in all animals and could be controlled by the development of multicompartmental pharmacokinetic models of [^{11}C](R)-PK11195 lung uptake (31, 60).

Table 6. *Association of regional CT-derived parameters with regional [^{11}C]PK11195 SUV, after exclusion of the animal with a pneumothorax (multivariate analysis)*

	Standardized Uptake Value, n = 60	
Regional variables	β estimate ± SE	P value
Functional residual capacity, per 100 ml	0.1 ± 0.1	0.43
Tidal hyperinflation, per 10% increase	0.1 ± 0.0	<0.01
Dynamic strain, per 1 unit increase	0.1 ± 0.0	<0.01
Static strain, per 1 unit increase	0.0 ± 0.2	0.90

Association was evaluated with the use of linear mixed-effects models, using "lung region" nested in "animal" as the random effect, to account for the repetition of regional measurements in a given animal. Variables with a P value < 0.20 in univariate analysis were included in the multivariate model. Total number of measurements used to assess the association corresponded to the number of studied animals (n = 5) × number of experimental conditions (n = 2) × number of regional lung measurements per animal (n = 6) i.e., 60 measurements. All volumes and strains are extracted from CT images. SUV was corrected for tissue fraction of the studied region of interest. CT, computerized tomography; SUV, standardized uptake value.

This variability translated into an important overlap when confronted to the semiquantification of macrophages in histology. Apart from the flaws in the analysis of the PET signal described above, the semiquantitative score of macrophage recruitment may have been inferior to a quantitative method corrected for lung surface (69). Yet, Jones et al. (39, 40) concluded in the specificity of PK11195 for macrophage activation/recruitment during acute inflammation using autoradiography techniques. On the other hand, [^{18}F]-FEDAC, another TSPO-binding radiotracer, showed affinity for neutrophils, which implies a potential signal bias by neutrophils in our model (35). Future work with [^{11}C](R)-PK11195 will require immunohistochemistry techniques and autoradiography to confirm these hypotheses.

The analysis of volumes and strains using quantitative CT analysis must also be cautious. First, differences and variability in certain CT-derived parameters (e.g., static strain) may be related to spatial registration errors (e.g., a voxel classified in the postero-caudal region at end expiration is classified in the postero-medial region at end inspiration), because of major lung distortion induced by high tidal volume ventilation in our model. Second, the attenuation signal in the ROI may be altered by the region's density in vessels, the formation of bullae or the proximity with surrounding moving tissues (heart, diaphragm). Third, modalities of CT image reconstruction may be responsible for a systematic error in the tissue attenuation quantification (57).

In this proof-of-concept study, high-volume experimental VILI increased the uptake of [^{11}C](R)-PK11195 (used as a

Downloaded from www.physiology.org/journal/jappl at Boston Univ (128.197.229.194) on August 20, 2019.

surrogate for lung inflammation), which was associated with the magnitude of dynamic strain and tidal hyperinflation. Whether the radiotracer has the ability to quantify lung acute inflammatory response to mild VILI in the clinical environment remains to be confirmed.

ACKNOWLEDGMENTS

The authors are grateful to Frederic Bonnefoi, Thibaut Iecker, and the rest of the cyclotron staff at Centre d'Etude et de Recherche Multimodal et Pluridisciplinaire (CERMEP) for isotopes preparation.

This work was presented in abstract form and oral presentation at the 29th Congress of the European Society of Intensive Care Medicine in Milano, Italy, on October 4, 2016 and at the annual congress of the French Intensive Care Society, Paris, France, on January 13, 2017.

GRANTS

This work was funded by grants from the Fondation pour la Recherche Médicale (grant no. DEA20140630499) and from the Société de réanimation de langue française (Bourse de recherche expérimentale).

DISCLOSURES

No conflicts of interest, financial or otherwise, are declared by the authors.

AUTHOR CONTRIBUTIONS

L.B. and J.-C.R. conceived and designed research; L.B., D.L.B., F.L., and J.-C.R. performed experiments; L.B., N.C., D.L.B., N.B., and M.D. analyzed data; L.B., N.C., M.O., N.B., M.D., and J.-C.R. interpreted results of experiments; L.B. prepared figures; L.B. drafted manuscript; L.B., D.L.B., M.O., M.H.H., and J.-C.R. edited and revised manuscript; L.B., N.C., D.L.B., F.L., M.O., M.H.H., N.B., M.D., and J.-C.R. approved final version of manuscript.

REFERENCES

1. **Amato MB, Barbas CS, Medeiros DM, Magaldi RB, Schettino GP, Lorenzi-Filho G, Kairalla RA, Deheinzelin D, Munoz C, Oliveira R, Takagaki TY, Carvalho CR.** Effect of a protective-ventilation strategy on mortality in the acute respiratory distress syndrome. *N Engl J Med* 338: 347–354, 1998. doi:10.1056/NEJM199802053380602.
2. **Aston JA, Cunningham VJ, Asselin MC, Hammers A, Evans AC, Gunn RN.** Positron emission tomography partial volume correction: estimation and algorithms. *J Cereb Blood Flow Metab* 22: 1019–1034, 2002. doi:10.1097/00004647-200208000-00014.
3. **Barberis L, Manno E, Guérin C.** Effect of end-inspiratory pause duration on plateau pressure in mechanically ventilated patients. *Intensive Care Med* 29: 130–134, 2003. doi:10.1007/s00134-002-1568-z.
4. **Bates D, Mächler M, Bolker B, Walker S.** Fitting linear mixed-effects models using lme4. *J Stat Softw* 67: 1–48, 2015. doi:10.18637/jss.v067.i01.
5. **Bellani G, Guerra L, Musch G, Zanella A, Patroniti N, Mauri T, Messa C, Pesenti A.** Lung regional metabolic activity and gas volume changes induced by tidal ventilation in patients with acute lung injury. *Am J Respir Crit Care Med* 183: 1193–1199, 2011. doi:10.1164/rccm.201008-1318OC.
6. **Bellani G, Messa C, Guerra L, Spagnolli E, Foti G, Patroniti N, Fumagalli R, Musch G, Fazio F, Pesenti A.** Lungs of patients with acute respiratory distress syndrome show diffuse inflammation in normally aerated regions: a [18F]-fluoro-2-deoxy-D-glucose PET/CT study. *Crit Care Med* 37: 2216–2222, 2009. doi:10.1097/CCM.0b013e3181aab31f.
7. **Bilek AM, Dee KC, Gaver DP III.** Mechanisms of surface-tension-induced epithelial cell damage in a model of pulmonary airway reopening. *J Appl Physiol (1985)* 94: 770–783, 2003. doi:10.1152/japplphysiol.00764.2002.
8. **Broccard AF, Shapiro RS, Schmitz LL, Ravenscraft SA, Marini JJ.** Influence of prone position on the extent and distribution of lung injury in a high tidal volume oleic acid model of acute respiratory distress syndrome. *Crit Care Med* 25: 16–27, 1997. doi:10.1097/00003246-199701000-00007.
9. **Caironi P, Cressoni M, Chiumello D, Ranieri M, Quintel M, Russo SG, Cornejo R, Bugedo G, Carlesso E, Russo R, Caspani L, Gattinoni L.** Lung opening and closing during ventilation of acute respiratory distress syndrome. *Am J Respir Crit Care Med* 181: 578–586, 2010. doi:10.1164/rccm.200905-0787OC.
10. **Caironi P, Langer T, Carlesso E, Protti A, Gattinoni L.** Time to generate ventilator-induced lung injury among mammals with healthy lungs: a unifying hypothesis. *Intensive Care Med* 37: 1913–1920, 2011. doi:10.1007/s00134-011-2388-9.
11. **Chen DL, Cheriyan J, Chilvers ER, Choudhury G, Coello C, Connell M, Fisk M, Groves AM, Gunn RN, Holman BF, Hutton BF, Lee S, MacNee W, Mohan D, Parr D, Subramanian D, Tal-Singer R, Thielemans K, van Beek EJ, Vass L, Wellen JW, Wilkinson I, Wilson FJ.** Quantification of lung PET images: challenges and opportunities. *J Nucl Med* 58: 201–207, 2017. doi:10.2967/jnumed.116.184796.
12. **Chiumello D, Carlesso E, Cadringher P, Caironi P, Valenza F, Polli F, Tallarini F, Cozzi P, Cressoni M, Colombo A, Marini JJ, Gattinoni L.** Lung stress and strain during mechanical ventilation for acute respiratory distress syndrome. *Am J Respir Crit Care Med* 178: 346–355, 2008. doi:10.1164/rccm.200710-1589OC.
13. **Chiumello D, Cressoni M, Colombo A, Babini G, Brioni M, Crimella F, Lundin S, Stenqvist O, Gattinoni L.** The assessment of transpulmonary pressure in mechanically ventilated ARDS patients. *Intensive Care Med* 40: 1670–1678, 2014. doi:10.1007/s00134-014-3415-4.
14. **Cnaan A, Laird NM, Slasor P.** Using the general linear mixed model to analyse unbalanced repeated measures and longitudinal data. *Stat Med* 16: 2349–2380, 1997. doi:10.1002/(SICI)1097-0258(19971030)16:20<2349:AID-SIM667>3.0.CO;2-E.
15. **Cressoni M, Chiumello D, Algieri I, Brioni M, Chiurazzi C, Colombo A, Colombo A, Crimella F, Guanziroli M, Tomic I, Tonetti T, Luca Vergani G, Carlesso E, Gasparovic V, Gattinoni L.** Opening pressures and atelectrauma in acute respiratory distress syndrome. *Intensive Care Med* 43: 603–611, 2017. doi:10.1007/s00134-017-4754-8.
16. **Cressoni M, Chiumello D, Chiurazzi C, Brioni M, Algieri I, Gotti M, Nikolla K, Massari D, Cammaroto A, Colombo A, Cadringher P, Carlesso E, Benti R, Casati R, Zito F, Gattinoni L.** Lung inhomogeneities, inflation and [18F]2-fluoro-2-deoxy-D-glucose uptake rate in acute respiratory distress syndrome. *Eur Respir J* 47: 233–242, 2016. doi:10.1183/13993003.00885-2015.
17. **Cressoni M, Chiurazzi C, Gotti M, Amini M, Brioni M, Algieri I, Cammaroto A, Rovati C, Massari D, di Castiglione CB, Nikolla K, Montaruli C, Lazzerini M, Dondossola D, Colombo A, Gatti S, Valerio V, Gagliano N, Carlesso E, Gattinoni L.** Lung inhomogeneities and time course of ventilator-induced mechanical injuries. *Anesthesiology* 123: 618–627, 2015. doi:10.1097/ALN.0000000000000727.
18. **Crotti S, Mascheroni D, Caironi P, Pelosi P, Ronzoni G, Mondino M, Marini JJ, Gattinoni L.** Recruitment and derecruitment during acute respiratory failure: a clinical study. *Am J Respir Crit Care Med* 164: 131–140, 2001. doi:10.1164/ajrccm.164.1.2007011.
19. **de Prost N, Costa EL, Wellman T, Musch G, Tucci MR, Winkler T, Harris R, Venegas JG, Kavanagh BP, Vidal Melo MF.** Effects of ventilation strategy on distribution of lung inflammatory cell activity. *Crit Care* 17: R175, 2013. doi:10.1186/cc12854.
20. **de Prost N, Ricard JD, Saumon G, Dreyfuss D.** Ventilator-induced lung injury: historical perspectives and clinical implications. *Ann Intensive Care* 1: 28, 2011. doi:10.1186/2110-5820-1-28.
21. **Dreyfuss D, Saumon G.** Ventilator-induced lung injury: lessons from experimental studies. *Am J Respir Crit Care Med* 157: 294–323, 1998. doi:10.1164/ajrccm.157.1.9604014.
22. **Frank JA, Wray CM, McAuley DF, Schwendener R, Matthay MA.** Alveolar macrophages contribute to alveolar barrier dysfunction in ventilator-induced lung injury. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 291: L1191–L1198, 2006. doi:10.1152/ajplung.00055.2006.
23. **Futier E, Constantin JM, Paugam-Burtz C, Pascal J, Eurin M, Neuschwander A, Marret E, Beaussier M, Gutton C, Lefrant JY, Allaouchiche B, Verzilli D, Leone M, De Jong A, Bazin JE, Pereira B, Jaber S; IMPROVE Study Group.** A trial of intraoperative low-tidal-volume ventilation in abdominal surgery. *N Engl J Med* 369: 428–437, 2013. doi:10.1056/NEJMoa1301082.
24. **Gattinoni L, Caironi P, Valenza F, Carlesso E.** The role of CT-scan studies for the diagnosis and therapy of acute respiratory distress syndrome. *Clin Chest Med* 27: 559–570, 2006. doi:10.1016/j.ccm.2006.06.002.
25. **Gattinoni L, Carlesso E, Caironi P.** Stress and strain within the lung. *Curr Opin Crit Care* 18: 42–47, 2012. doi:10.1097/MCC.0b013e32834f17d9.
26. **Gattinoni L, Pesenti A, Bombino M, Baglioni S, Rivolta M, Rossi F, Rossi G, Fumagalli R, Marcolin R, Mascheroni D, Torresin A.** Rela-

Downloaded from www.physiology.org/journal/jappl at Boston Univ (128.197.229.194) on August 20, 2019.

tionships between lung computed tomographic density, gas exchange, and PEEP in acute respiratory failure. *Anesthesiology* 69: 824–832, 1988. doi:10.1097/00000542-198812000-00005.

27. **Gattinoni L, Protti A, Caironi P, Carlesso E.** Ventilator-induced lung injury: the anatomical and physiological framework. *Crit Care Med* 38, *Suppl*: S539–S548, 2010. doi:10.1097/CCM.0b013e3181f1fcf7.
28. **Grieco DL, Chen L, Brochard L.** Transpulmonary pressure: importance and limits. *Ann Transl Med* 5: 285, 2017. doi:10.21037/atm.2017.07.22.
29. **Guérin C, Richard JC.** Comparison of 2 correction methods for absolute values of esophageal pressure in subjects with acute hypoxemic respiratory failure, mechanically ventilated in the ICU. *Respir Care* 57: 2045–2051, 2012. doi:10.4187/respcare.01883.
30. **Güldner A, Braune A, Ball L, Silva PL, Samary C, Insorsi A, Huhle R, Rentzsch I, Becker C, Oehme L, Andreeff M, Vidal Melo MF, Winkler T, Pelosi P, Rocco PR, Kotzerke J, Gama de Abreu M.** Comparative effects of volutrauma and atelectrauma on lung inflammation in experimental acute respiratory distress syndrome. *Crit Care Med* 44: e854–e865, 2016. doi:10.1097/CCM.0000000000001721.
31. **Gunn RN, Gunn SR, Turkheimer FE, Aston JA, Cunningham VJ.** Positron emission tomography compartmental models: a basis pursuit strategy for kinetic modeling. *J Cereb Blood Flow Metab* 22: 1425–1439, 2002. doi:10.1097/01.wcb.0000045042.03034.42.
32. **Halter JM, Steinberg JM, Gatto LA, DiRocco JD, Pavone LA, Schiller HJ, Albert S, Lee HM, Carney D, Nieman GF.** Effect of positive end-expiratory pressure and tidal volume on lung injury induced by alveolar instability. *Crit Care* 11: R20, 2007. doi:10.1186/cc5695.
33. **Halter JM, Steinberg JM, Schiller HJ, DaSilva M, Gatto LA, Landas S, Nieman GF.** Positive end-expiratory pressure after a recruitment maneuver prevents both alveolar collapse and recruitment/derecruitment. *Am J Respir Crit Care Med* 167: 1620–1626, 2003. doi:10.1164/rccm.200205-435OC.
34. **Hashimoto K, Inoue O, Suzuki K, Yamasaki T, Kojima M.** Synthesis and evaluation of ^{11}C-PK 11195 for *in vivo* study of peripheral-type benzodiazepine receptors using position emission tomography. *Ann Nucl Med* 3: 63–71, 1989. doi:10.1007/BF03164587.
35. **Hatori A, Yui J, Yamasaki T, Xie L, Kumata K, Fujinaga M, Yoshida Y, Ogawa M, Nengaki N, Kawamura K, Fukumura T, Zhang MR.** PET imaging of lung inflammation with [18F]FEDAC, a radioligand for translocator protein (18 kDa). *PLoS One* 7: e45065, 2012. doi:10.1371/journal.pone.0045065.
36. **Hirvonen J, Roivainen A, Virta J, Helin S, Någren K, Rinne JO.** Human biodistribution and radiation dosimetry of ^{11}C-(R)-PK11195, the prototypic PET ligand to image inflammation. *Eur J Nucl Med Mol Imaging* 37: 606–612, 2010. doi:10.1007/s00259-009-1298-3.
37. **Imanaka H, Shimaoka M, Matsuura N, Nishimura M, Ohta N, Kiyono H.** Ventilator-induced lung injury is associated with neutrophil infiltration, macrophage activation, and TGF-beta 1 mRNA upregulation in rat lungs. *Anesth Analg* 92: 428–436, 2001. doi:10.1213/00000539-200102000-00029.
38. **Jain SV, Kollisch-Singule M, Satalin J, Searles Q, Dombert L, Abdel-Razek O, Yepuri N, Leonard A, Gruessner A, Andrews P, Fazal F, Meng Q, Wang G, Gatto LA, Habashi NM, Nieman GF.** The role of high airway pressure and dynamic strain on ventilator-induced lung injury in a heterogeneous acute lung injury model. *Intensive Care Med Exp* 5: 25, 2017. doi:10.1186/s40635-017-0138-1.
39. **Jones HA, Marino PS, Shakur BH, Morrell NW.** In vivo assessment of lung inflammatory cell activity in patients with COPD and asthma. *Eur Respir J* 21: 567–573, 2003. doi:10.1183/09031936.03.00048502.
40. **Jones HA, Valind SO, Clark IC, Bolden GE, Krausz T, Schofield JB, Boobis AR, Haslett C.** Kinetics of lung macrophages monitored in vivo following particulate challenge in rabbits. *Toxicol Appl Pharmacol* 183: 46–54, 2002. doi:10.1006/taap.2002.9462.
41. **Kawano T, Mori S, Cybulsky M, Burger R, Ballin A, Cutz E, Bryan AC.** Effect of granulocyte depletion in a ventilated surfactant-depleted lung. *J Appl Physiol (1985)* 62: 27–33, 1987. doi:10.1152/jappl.1987.62.1.27.
42. **Keyes JW JR.** SUV: standard uptake or silly useless value? *J Nucl Med* 36: 1836–1839, 1995.
43. **Kolobow T, Moretti MP, Fumagalli R, Mascheroni D, Prato P, Chen V, Joris M.** Severe impairment in lung function induced by high peak airway pressure during mechanical ventilation. An experimental study. *Am Rev Respir Dis* 135: 312–315, 1987. doi:10.1164/arrd.1987.135.2.312.
44. **Kropholler MA, Boellaard R, Elzinga EH, van der Laken CJ, Maruyama K, Kloet RW, Voskuyl AE, Dijkmans BA, Lammertsma AA.** Quantification of (R)-[^{11}C]PK11195 binding in rheumatoid arthritis. *Eur J Nucl Med Mol Imaging* 36: 624–631, 2009. doi:10.1007/s00259-008-0987-7.
45. **Lanteri CJ, Kano S, Sly PD.** Validation of esophageal pressure occlusion test after paralysis. *Pediatr Pulmonol* 17: 56–62, 1994. doi:10.1002/ppul.1950170110.
46. **Mercer RR, Russell ML, Crapo JD.** Alveolar septal structure in different species. *J Appl Physiol (1985)* 77: 1060–1066, 1994. doi:10.1152/jappl.1994.77.3.1060.
47. **Milic-Emili J, Mead J, Turner JM, Glauser EM.** Improved technique for estimating pleural pressure from esophageal balloons. *J Appl Physiol* 19: 207–211, 1964. doi:10.1152/jappl.1964.19.2.207.
48. **Muscedere JG, Mullen JB, Gan K, Slutsky AS.** Tidal ventilation at low airway pressures can augment lung injury. *Am J Respir Crit Care Med* 149: 1327–1334, 1994. doi:10.1164/ajrccm.149.5.8173774.
49. **Musch G, Bellani G, Vidal Melo MF, Harris RS, Winkler T, Schroeder T, Venegas JG.** Relation between shunt, aeration, and perfusion in experimental acute lung injury. *Am J Respir Crit Care Med* 177: 292–300, 2008. doi:10.1164/rccm.200703-484OC.
50. **Musch G, Venegas JG, Bellani G, Winkler T, Schroeder T, Petersen B, Harris RS, Melo MF.** Regional gas exchange and cellular metabolic activity in ventilator-induced lung injury. *Anesthesiology* 106: 723–735, 2007. doi:10.1097/01.anes.0000264748.86145.ac.
51. **Mutoh T, Lamm WJ, Embree LJ, Hildebrandt J, Albert RK.** Volume infusion produces abdominal distension, lung compression, and chest wall stiffening in pigs. *J Appl Physiol (1985)* 72: 575–582, 1992. doi:10.1152/jappl.1992.72.2.575.
52. **Paula LF, Wellman TJ, Winkler T, Spieth PM, Güldner A, Venegas JG, Gama de Abreu M, Carvalho AR, Vidal Melo MF.** Regional tidal lung strain in mechanically ventilated normal lungs. *J Appl Physiol (1985)* 121: 1335–1347, 2016. doi:10.1152/japplphysiol.00861.2015.
53. **Protti A, Andreis DT, Milesi M, Iapichino GE, Monti M, Comini B, Pugni P, Melis V, Santini A, Dondossola D, Gatti S, Lombardi L, Votta E, Carlesso E, Gattinoni L.** Lung anatomy, energy load, and ventilator-induced lung injury. *Intensive Care Med Exp* 3: 34, 2015. doi:10.1186/s40635-015-0070-1.
54. **Protti A, Andreis DT, Monti M, Santini A, Sparacino CC, Langer T, Votta E, Gatti S, Lombardi L, Leopardi O, Masson S, Cressoni M, Gattinoni L.** Lung stress and strain during mechanical ventilation: any difference between statics and dynamics? *Crit Care Med* 41: 1046–1055, 2013. doi:10.1097/CCM.0b013e31827417a6.
55. **Protti A, Cressoni M, Santini A, Langer T, Mietto C, Febres D, Chierichetti M, Coppola S, Conte G, Gatti S, Leopardi O, Masson S, Lombardi L, Lazzerini M, Rampoldi E, Cadringher P, Gattinoni L.** Lung stress and strain during mechanical ventilation: any safe threshold? *Am J Respir Crit Care Med* 183: 1354–1362, 2011. doi:10.1164/rccm.201010-1757OC.
56. **R Core Team.** *R: A Language and Environment for Statistical Computing* (Online). Vienna, Austria: R Foundation for Statistical Computing, 2017. https://www.r-project.org.
57. **Reske AW, Busse H, Amato MB, Jaekel M, Kahn T, Schwarzkopf P, Schreiter D, Gottschaldt U, Seiwerts M.** Image reconstruction affects computer tomographic assessment of lung hyperinflation. *Intensive Care Med* 34: 2044–2053, 2008. doi:10.1007/s00134-008-1175-8.
58. **Roivainen A, Någren K, Hirvonen J, Oikonen V, Virsu P, Tolvanen T, Rinne JO.** Whole-body distribution and metabolism of [N-methyl-^{11}C](R)-1-(2-chlorophenyl)-N-(1-methylpropyl)-3-isoquinolinecarboxamide in humans; an imaging agent for in vivo assessment of peripheral benzodiazepine receptor activity with positron emission tomography. *Eur J Nucl Med Mol Imaging* 36: 671–682, 2009. doi:10.1007/s00259-008-1000-1.
59. **Santini A, Protti A, Langer T, Comini B, Monti M, Sparacino CC, Dondossola D, Gattinoni L.** Prone position ameliorates lung elastance and increases functional residual capacity independently from lung recruitment. *Intensive Care Med Exp* 3: 17, 2015. doi:10.1186/s40635-015-0055-0.
60. **Schroeder T, Vidal Melo MF, Musch G, Harris RS, Venegas JG, Winkler T.** Image-derived input function for assessment of 18F-FDG uptake by the inflamed lung. *J Nucl Med* 48: 1889–1896, 2007. doi:10.2967/jnumed.107.041079.
61. **Slutsky AS, Ranieri VM.** Ventilator-induced lung injury. *N Engl J Med* 369: 2126–2136, 2013. doi:10.1056/NEJMra1208707.
62. **Talmor D, Sarge T, Malhotra A, O'Donnell CR, Ritz R, Lisbon A, Novack V, Loring SH.** Mechanical ventilation guided by esophageal pressure in acute lung injury. *N Engl J Med* 359: 2095–2104, 2008. doi:10.1056/NEJMoa0708638.

Downloaded from www.physiology.org/journal/jappl at Boston Univ (128.197.229.194) on August 20, 2019.

63. **Terragni PP, Rosboch G, Tealdi A, Corno E, Menaldo E, Davini O, Gandini G, Herrmann P, Mascia L, Quintel M, Slutsky AS, Gattinoni L, Ranieri VM.** Tidal hyperinflation during low tidal volume ventilation in acute respiratory distress syndrome. *Am J Respir Crit Care Med* 175: 160–166, 2007. doi:10.1164/rccm.200607-915OC.
64. **The Acute Respiratory Distress Syndrome Network.** Ventilation with lower tidal volumes as compared with traditional tidal volumes for acute lung injury and the acute respiratory distress syndrome. *N Engl J Med* 342: 1301–1308, 2000. doi:10.1056/NEJM200005043421801.
65. **Thie JA.** Understanding the standardized uptake value, its methods, and implications for usage. *J Nucl Med* 45: 1431–1434, 2004.
66. **Tremblay L, Valenza F, Ribeiro SP, Li J, Slutsky AS.** Injurious ventilatory strategies increase cytokines and c-fos m-RNA expression in an isolated rat lung model. *J Clin Invest* 99: 944–952, 1997. doi:10.1172/JCI119259.
67. **Tsuno K, Miura K, Takeya M, Kolobow T, Morioka T.** Histopathologic pulmonary changes from mechanical ventilation at high peak airway pressures. *Am Rev Respir Dis* 143: 1115–1120, 1991. doi:10.1164/ajrccm/143.5_Pt_1.1115.
68. **Wakabayashi K, Wilson MR, Tatham KC, O'Dea KP, Takata M.** Volutrauma, but not atelectrauma, induces systemic cytokine production by lung-marginated monocytes. *Crit Care Med* 42: e49–e57, 2014. doi:10.1097/CCM.0b013e31829a822a.
69. **Wallace WA, Gillooly M, Lamb D.** Intra-alveolar macrophage numbers in current smokers and non-smokers: a morphometric study of tissue sections. *Thorax* 47: 437–440, 1992. doi:10.1136/thx.47.6.437.
70. **Wang C, Frimmel H, Smedby Ö.** Fast level-set based image segmentation using coherent propagation. *Med Phys* 41: 073501, 2014. doi:10.1118/1.4881315.
71. **Yoshida T, Amato MBP, Grieco DL, Chen L, Lima CAS, Roldan R, Morais CCA, Gomes S, Costa ELV, Cardoso PFG, Charbonney E, Richard JM, Brochard L, Kavanagh BP.** Esophageal manometry and regional transpulmonary pressure in lung injury. *Am J Respir Crit Care Med* 197: 1018–1026, 2018. doi:10.1164/rccm.201709-1806OC.

Downloaded from www.physiology.org/journal/jappl at Boston Univ (128.197.229.194) on August 20, 2019.

2. TRAVAIL N°2

European Journal of Nuclear Medicine and Molecular Imaging

Non-invasive quantification of acute macrophagic lung inflammation with [11C](R)-PK11195 using a three-tissue tissue compartment kinetic model in experimental acute respiratory distress syndrome

--Manuscript Draft--

Manuscript Number:	
Full Title:	Non-invasive quantification of acute macrophagic lung inflammation with [11C](R)-PK11195 using a three-tissue tissue compartment kinetic model in experimental acute respiratory distress syndrome
Article Type:	Original Article
Keywords:	acute respiratory distress syndrome; positron emission tomography; [11C](R)-PK11195; inflammation; ventilator-induced lung injury; tissue compartment kinetic model
Corresponding Author:	Laurent Bitker Hôpital de la Croix-Rousse Lyon, Rhône-Alpes FRANCE

a. Rationnel

Le développement de stratégies de ventilation innovantes requiert le développement de modalités d'imagerie spécifique de l'inflammation pulmonaire à haut niveau de performance. Notre groupe de recherche a précédemment démontré le potentiel de [^{11}C](R)-PK11195 pour quantifier le recrutement macrophagique pulmonaire induit par une ventilation pourvoyeuse de lésions pulmonaire. Cependant, le développement d'une méthodologie de quantification de sa captation à l'aide de modèles pharmacocinétiques multicompartimentaux est rendu obligatoire par la fraction élevée de gaz et de sang contenu dans un région d'intérêt pulmonaire, en sus du tissu pulmonaire étudié.

La captation tissulaire en [^{11}C](R)-PK11195 est habituellement modélisée à l'aide d'un modèle à deux compartiments tissulaires. Il est néanmoins connu que le [^{11}C](R)-PK11195 est une molécule hautement lipophile ayant la caractéristique d'être piégée entre les 2 couches de lipides composant la membrane cellulaire. Ce phénomène pourrait être responsable d'une captation irréversible et non spécifique du traceur, comme précédemment identifiée dans la littérature. De plus, cette captation non spécifique pourrait être modélisée par l'ajout d'un compartiment tissulaire supplémentaire au modèle conventionnel à deux compartiments.

b. Hypothèse et objectif

Notre hypothèse de travail était qu'un modèle pharmacocinétique à trois compartiments tissulaires était plus pertinent pour décrire la captation pulmonaire du [^{11}C](R)-PK11195 qu'un modèle à deux compartiments, dans le cadre de l'étude de l'inflammation pulmonaire aiguë associée à un SDRA expérimental.

c. Matériels et méthodes

La captation pulmonaire du [^{11}C](R)-PK11195 était décrite par le modèle à trois compartiments, à l'aide d'une fonction d'entrée plasmatique du composé parent (non métabolisé), et de la courbe temps-activité mesurée dans la région d'intérêt pulmonaire. Le modèle contenait trois compartiments tissulaires, décrits par les 3 concentrations radioactives suivantes : la concentration radioactive de composé parent libre dans le tissu, la concentration radioactive de composé parent lié spécifiquement à son récepteur TSPO, et la concentration de composé parent piégé de façon irréversible et non spécifique dans le tissu. Le modèle était résolu à l'aide de cinq micro-paramètres que sont : K_1, la constante cinétique d'entrée du composé parent dans le tissu (en ml de plasma.min^{-1}.ml^{-1} de tissu) ; k_2, la constante de sortie du tissu vers le sang (en min^{-1}) ; k_3, la constante de fixation du [^{11}C](R)-PK11195 à son récepteur TSPO (en min^{-1}) ; k_4, la constante de dissociation du [^{11}C](R)-PK11195 de son récepteur TSPO (en min^{-1}) ; et k_5, la constante de fixation irréversible du [^{11}C](R)-PK11195 dans le compartiment non-spécifique. A ces paramètres s'ajoute la fraction de sang total contenu dans la région d'intérêt. Le modèle à deux compartiments était défini à l'aide des mêmes compartiments et microparamètres, en dehors de k_5 et du compartiment non-spécifique bien entendu. Le macroparamètre de sortie des deux modèles était le potentiel de liaison non déplaçable BP_{ND}, défini comme le rapport de k_3 et k_4.

Chacun des deux modèles était ensuite appliqué au même jeu de données mesurées dans une région pulmonaire, puis comparés entre eux à l'aide du critère d'information d'Akaike corrigé (AICc). Ce paramètre utilise la somme des carrés des résidus pour déterminer le modèle décrivant le mieux les données, et y ajoute un élément pénalisant tenant compte du nombre de paramètres du modèle. Le modèle décrivant le mieux les données mesurées était celui dont la valeur de l'AICc était la plus basse. Nous

avons adjoint à cette méthode de sélection du meilleur modèle un second critère : dans le cas où le modèle à deux compartiments tissulaires était préféré dans une région d'intérêt, mais que le microparamètre k_4 de celui-ci était de très faible valeur numérique ($<10^{-6}$ min^{-1}), le modèle à trois compartiments était alors préféré même si son AICc était plus élevée. Ceci permettait de « forcer » l'algorithme de sélection à ne pas choisir le modèle à deux compartiments si sa résolution laissant entendre une captation irréversible du traceur. Dans chaque région d'intérêt, un modèle était donc identifié comme le meilleur modèle au décours de partir de l'application de l'algorithme de sélection, et son paramètre BP_{ND} choisi pour décrire la captation du [^{11}C](R)-PK11195.

Afin de tester les modèles pharmacocinétique multicompartimentaux et l'algorithme de sélection, nous avons utilisé les données d'imagerie TEP de 21 animaux ayant été inclus dans des protocoles précédents ou en cours, comprenant 38 examens TEP au [^{11}C](R)-PK11195. Les acquisitions TEP étaient réalisées sur des animaux aux poumons sains pour certaines (N=12), ou agressés par un modèle expérimental de SDRA à l'acide chlorhydrique (N=26).

Chaque TEP au [^{11}C](R)-PK11195 était un examen dynamique de 60 minutes, centré sur la région pulmonaire. Elle était associée à un scanner de transmission, permettant d'une part de segmenter la région pulmonaire de l'examen en six régions distinctes réparties en 3 régions antérieures selon l'axe céphalo-caudal et trois régions postérieures réparties selon le même axe. Le scanner de transmission permettait aussi la mesure de la fraction non-gaz ($1 - F_{gaz}$) des régions d'intérêt, ainsi que la caractérisation du niveau d'aération de chaque voxel à l'aide sa valeur en UH et selon la classification suivante : hyperinflaté pour une UH entre – 1000 et -901, normalement aéré pour une UH entre -900 et -501, pauvrement aéré pour une UH entre -500 et -101, et non aéré pour une UH entre -100 et +100 UH. Aussi, nous avons calculé dans chaque région d'intérêt pulmonaire la valeur de la SUV mesurée entre 40 et 60 minutes après l'injection du traceur, corrigée pour la fraction non-gaz de la région, ceci afin de la comparer à la valeur du BP_{ND} obtenue par la modélisation.

La validité de notre méthodologie de modélisation a été évalué au cours de quatre étapes. Tout d'abord, en évaluant la fréquence à laquelle le modèle à trois

compartiments était choisi. Puis, en confrontant les valeurs de BP_{ND} au nombre de macrophages présents dans la région d'intérêt en anatomo-pathologie chez les animaux chez lesquels cet examen était disponible. Enfin, nous avons réalisé des simulations de Monte Carlo afin d'évaluer le biais induit par une série d'erreurs variables sur le macroparamètre BP_{ND} du modèle.

d. Résultats

Dans cette étude, nous avons montré que le modèle à trois compartiments était plus fréquemment choisi que le modèle à deux compartiments pour décrire la captation pulmonaire du [^{11}C](R)-PK11195. De plus, la captation du radiotraceur telle que mesurée par le BP_{ND} était significativement associée au nombre de macrophages quantifiés en anatomo-pathologie. Cette association n'était plus présente si le modèle à deux compartiments était exclusivement utilisé pour calculer le BP_{ND}. De même, la corrélation du BP_{ND} déterminé par le meilleur modèle avec la SUV du traceur corrigé pour la fraction non-gaz était significative mais de mauvaise qualité.

Le BP_{ND} du [^{11}C](R)-PK11195 était significativement plus élevée chez les animaux atteints d'un SDRA expérimental comparativement aux animaux indemnes de SDRA. Aussi nous avons observé une augmentation significative du BP_{ND} dans le compartiment non aéré (et jugé comme étant donc le plus gravement atteint par le modèle expérimental de SDRA), et le compartiment hyperinflaté (jugé comme étant celui soumis à la surdistension induite par la ventilation), comparativement au compartiment normalement aéré.

Pour finir, les simulations ont permis de démontrer l'impact modéré des erreurs touchant les paramètres correcteurs de la fonction d'entrée du modèle (phénomène de *spillover*, délai d'arrivée dans le tissu ou erreur sur le degré de métabolisation en fin d'acquisition TEP). Par contre, le biais induit par des variations importantes de la fraction non-gaz de la région d'intérêt n'impactait en aucun manière la valeur du BP_{ND} déterminé par le modèle.

e. Conclusions du travail n°2

Dans cette étude, nous avons développé la méthodologie nécessaire à la quantification de la captation du [^{11}C](R)-PK11195 à l'aide de modèles pharmacocinétique et multicompartimentaux. Nous avons démontré que le modèle à trois compartiments était plus pertinent pour décrire l'inflammation pulmonaire aiguë dans un modèle expérimental de SDRA, en lien avec la sévérité du modèle expérimental et l'impact délétère de la surdistension induite par la ventilation mécanique sur le parenchyme. De plus, cette méthodologie permettait de s'affranchir du biais inhérent à l'hétérogénéité en densité du tissu étudié. Couplée au scanner quantitatif, cette méthode innovante pourrait permettre d'explorer *in vivo* les mécanismes physiopathologiques du SDRA et des lésions induites par la ventilation mécanique, et ainsi développer de nouvelles stratégies de ventilation protectrice.

Le *online supplement* de ce travail se trouve à la fin du manuscrit de la thèse.

European Journal of Nuclear Medicine and Molecular Imaging

Non-invasive quantification of acute macrophagic lung inflammation with [11C](R)-PK11195 using a three-tissue tissue compartment kinetic model in experimental acute respiratory distress syndrome

--Manuscript Draft--

Manuscript Number:	
Full Title:	Non-invasive quantification of acute macrophagic lung inflammation with [11C](R)-PK11195 using a three-tissue tissue compartment kinetic model in experimental acute respiratory distress syndrome
Article Type:	Original Article
Keywords:	acute respiratory distress syndrome; positron emission tomography; [11C](R)-PK11195; inflammation; ventilator-induced lung injury; tissue compartment kinetic model
Corresponding Author:	Laurent Bitker Hôpital de la Croix-Rousse Lyon, Rhône-Alpes FRANCE
Corresponding Author Secondary Information:	
Corresponding Author's Institution:	Hôpital de la Croix-Rousse
Corresponding Author's Secondary Institution:	
First Author:	Laurent Bitker
First Author Secondary Information:	
Order of Authors:	Laurent Bitker
	Francois Dhleft
	Sophie Lancelot
	Didier Le Bars
	Nicolas Costes
	Nazim Benzerdjeb
	Maciej Orkisz
	Jean-Christophe Richard
Order of Authors Secondary Information:	
Funding Information:	Société de Réanimation de Langue Française (Bourse de Recherche Expérimentale) — Pr Jean-Christophe Richard Hospices Civils de Lyon (Bourse Jeune Chercheur 2019) — Dr. Laurent Bitker
Abstract:	Purpose: Imaging of acute lung inflammation is pivotal to evaluate innovative ventilation strategies. We aimed to develop and validate a three-tissue compartment kinetic model (3TCM) of [11C](R)-PK11195 lung uptake in experimental acute respiratory distress syndrome (ARDS) to help quantify macrophagic inflammation, while accounting for the impact of its non-specific and irreversible uptake in lung tissues. Material and methods: We analyzed the data of 38 positron emission tomography (PET) studies performed in 21 swines with or without experimental ARDS, receiving general anesthesia and mechanical ventilation. Model input function was a plasma, metabolite-corrected, image-derived input function measured in the main pulmonary artery. Regional lung analysis consisted in applying both the 3TCM and the two-tissue compartment model (2TCM); in each region, the best model was selected using a

Powered by Editorial Manager® and ProduXion Manager® from Aries Systems Corporation

	selection algorithm with a goodness-of-fit criterion. Regional best model binding potentials (BPND) were compared to lung macrophage presence, semi-quantified in pathology. Results: The 3TCM was preferred in 142 lung regions (62%, 95% confidence interval: 56 to 69%). BPND determined by the 2TCM was significantly higher than the value computed with the 3TCM (overall median with interquartile range: 0.81 [0.44–1.33] vs. 0.60 [0.34–0.94], p<0.02). Regional macrophage score was significantly associated with the best model BPND (p=0.03). Regional BPND was significantly increased in the hyperinflated lung compartment, compared to the normally aerated one (median with interquartile range: 0.8 [0.6–1.7] vs. 0.6 [0.3–0.8], p=0.03). Conclusion: To assess the intensity and spatial distribution of acute lung inflammation in the context of experimental ARDS with mechanical ventilation, PET quantification of lung macrophages using [11C](R)-PK11195 lung uptake was significantly improved in most lung regions using the 3TCM. This new methodology offers the opportunity to non-invasively evaluate innovative ventilatory strategies aiming at controlling acute lung inflammation.
Suggested Reviewers:	Nicolas de Prost nicolas.de-prost@aphp.fr
	Marc A Kropholler m.a.kropholler@gmail.com
	Tobias Schroeder tobias.schroeder@vqpet.mgh.harvard.edu
Opposed Reviewers:	

Powered by Editorial Manager® and ProduXion Manager® from Aries Systems Corporation

Manuscript

Click here to access/download;Manuscript;PK3M - manuscript.v5.docx

Click here to view linked References

TITLE PAGE

Title: Non-invasive quantification of acute macrophagic lung inflammation with [^{11}C](R)-PK11195 using a three-tissue tissue compartment kinetic model in experimental acute respiratory distress syndrome

Running head: PET kinetic model of macrophagic lung inflammation

Authors: Laurent Bitker[1,2,3], François Dhelft[1], Sophie Lancelot[3,4,5], Didier Le Bars[3,4,5], Nicolas Costes[3,4], Nazim Benzerdjeb[6], Maciej Orkisz[2], Jean-Christophe Richard[1,2,3]

Affiliations:

1. Service de Médecine Intensive – Réanimation, Hôpital de la Croix Rousse, Hospices Civils de Lyon, Lyon, France
2. Univ Lyon, INSA-Lyon, Université Claude Bernard Lyon 1, UJM-Saint Etienne, CNRS, Inserm, CREATIS UMR 5220, U1294, F-69621, Villeurbanne, France
3. Université Lyon 1 Claude Bernard, Lyon, France
4. CERMEP – Imagerie du Vivant, Lyon, France
5. Hospices Civils de Lyon, Lyon, France
6. Centre d'Anatomie et Cytologie Pathologique, Centre Hospitalier Lyon Sud, Hospices Civils de Lyon, Lyon, France

Corresponding author: Dr Laurent Bitker, Service de Médecine Intensive – Réanimation, Hôpital de la Croix Rousse, Hospices Civils de Lyon, 103 Grande Rue de la Croix Rousse, 69004, Lyon, France; Email: laurent.bitker@chu-lyon.fr; ORCID : orcid.org/0000-0002-4698-053X

Keywords: acute respiratory distress syndrome, positron emission tomography, [^{11}C](R)-PK11195, inflammation, ventilator-induced lung injury, tissue compartment kinetic model

Word count: [4987]

ABSTRACT

Purpose: Imaging of acute lung inflammation is pivotal to evaluate innovative ventilation strategies. We aimed to develop and validate a three-tissue compartment kinetic model (3TCM) of [^{11}C](R)-PK11195 lung uptake in experimental acute respiratory distress syndrome (ARDS) to help quantify macrophagic inflammation, while accounting for the impact of its non-specific and irreversible uptake in lung tissues.

Material and methods: We analyzed the data of 38 positron emission tomography (PET) studies performed in 21 swines with or without experimental ARDS, receiving general anesthesia and mechanical ventilation. Model input function was a plasma, metabolite-corrected, image-derived input function measured in the main pulmonary artery. Regional lung analysis consisted in applying both the 3TCM and the two-tissue compartment model (2TCM); in each region, the best model was selected using a selection algorithm with a goodness-of-fit criterion. Regional best model binding potentials (BP_{ND}) were compared to lung macrophage presence, semi-quantified in pathology.

Results: The 3TCM was preferred in 142 lung regions (62%, 95% confidence interval: 56 to 69%). BP_{ND} determined by the 2TCM was significantly higher than the value computed with the 3TCM (overall median with interquartile range: 0.81 [0.44–1.33] vs. 0.60 [0.34–0.94], p<0.02). Regional macrophage score was significantly associated with the best model BP_{ND} (p=0.03). Regional BP_{ND} was significantly increased in the hyperinflated lung compartment, compared to the normally aerated one (median with interquartile range: 0.8 [0.6–1.7] vs. 0.6 [0.3–0.8], p=0.03).

Conclusion: To assess the intensity and spatial distribution of acute lung inflammation in the context of experimental ARDS with mechanical ventilation, PET quantification of lung macrophages using [^{11}C](R)-PK11195 lung uptake was significantly improved in most lung regions using the 3TCM. This new methodology offers the opportunity to non-invasively evaluate innovative strategies aiming at controlling acute lung inflammation induced.

INTRODUCTION

The development of novel ventilatory strategies aiming at reducing ventilator-induced lung inflammation requires high-performance functional imaging of acute lung inflammation. [^{11}C](R)-PK11195 is a specific ligand of the translocator protein (TSPO, or peripheral benzodiazepine receptor), expressed by the mitochondria of macrophages (*1*). The radiotracer has been mostly used to evaluate macrophagic inflammation in clinical and experimental models of central nervous system, vascular or articular inflammation (*1*-*6*). To date, [^{11}C](R)-PK11195 studies have used a plasma-input two-tissue compartment kinetic model (2TCM) to describe the tracer's uptake (*4*-*7*).

Our research group recently published the first usage of [^{11}C](R)-PK11195 to evaluate acute lung inflammation triggered by high tidal volume ventilation in healthy swine lungs, quantified by the mean of standardized uptake values (SUV) (*8*). However, since the lung has a large blood compartment and major regional tissue heterogeneity, kinetic model may be a more appropriate to effectively quantify macrophage inflammation. Development of a kinetic model is also warranted by the high non-specific uptake of [^{11}C](R)-PK11195 in tissues due to its high lipophilicity (*7*,*9*).

We hypothesized that [^{11}C](R)-PK11195 is prone to irreversible and non-specific accumulation in tissues, trapped in the cellular bilayer lipidic membrane due to its high lipophilicity (*9*). Tracer kinetics would then be better described using a plasma-input 3-tissue compartment kinetic model (3TCM) with an irreversible compartment, compared to the traditional 2TCM that is usually used to describe this radiotracer's uptake in tissues (*5*,*7*). The main objectives of our study was to develop and validate a 3TCM of [^{11}C](R)-PK11195 lung uptake in a swine experimental model of acute respiratory distress syndrome.

MATERIALS AND METHODS

3TCM of [^{11}C](R)-PK11196 lung uptake

Lung [^{11}C](R)-PK11195 uptake is described using a three-tissue compartment pharmacokinetic model (**Supplemental figure 1**), using a [^{11}C](R)-PK11195 parent plasma input function (IF) $C_{PK}(t)$, and the PET time-activity curve (TAC) in the lung region-of-interest $C_{ROI}(t)$ as the model inputs . The model encompasses 3 tissue compartments representing the concentration of [^{11}C](R)-PK11195 free in tissue, $C_f(t)$, TSPO-bound in tissue, $C_b(t)$, and irreversibly and non-specifically bound in tissue, $C_{ns}(t)$ (presumably by liphophilic compounds such as cell membranes). An additional parameter F_{WB} relates the vascular whole blood fractional concentration $C_{wb}(t)$ in the region-of-interest (ROI).

The model requires determination of F_{WB} and five rate constants K_1, k_2, k_3, k_4 and k_5 which are: the entry rate constant from blood to tissue, (K_1 in ml of plasma.min^{-1}.ml^{-1} of lung, the backward rate constant of transfer from tissue to blood (k_2 in min^{-1}), the rate constant representing [^{11}C](R)-PK11195 binding to the TSPO receptor (k_3 in min^{-1}), the rate constant corresponding to its dissociation from its receptor (k_4 in min^{-1}), and the rate constant of irreversible uptake by the non-specific compartment (k_5 in min^{-1}). The non-displaceable binding potential BP_{ND} of [^{11}C](R)-PK11195 by the 3TCM was computed as the ratio of k_3 to k_4. BP_{ND} corresponds to the ratio of specifically bound [^{11}C](R)-PK11195 to its non-displaceable concentration in tissue at equilibrium (*10*).

2TCM of [^{11}C](R)-PK11196 lung uptake

To evaluate the performance of the 3TCM, we used the 2TCM (Sokoloff) model, which is the most commonly used kinetic model to describe the reversible association of [^{11}C](R)-PK11195 to TSPO in tissues (**Supplemental figure 1**) (*7*).The 2TCM was similar to the 3TCM, with the exception of the non-specific irreversible compartments, and requires the determination of 4 rate constants K_1, k_2, k_3, k_4, and F_{WB}, which have the same definition as for the 3TCM.

Model comparison

To determine the model that best described the lung regional TACs of [^{11}C](R)-PK11195, we applied the 3TCM and the 2TCM to all lung ROIs, and then applied a 2-step model selection algorithm. We first calculated their respective value of the corrected Akaike Information Criterion (AICc); the best model was that with the lowest AICc value (*11*). Second, for ROIs in which the value of k_4 determined by the 2TCM was near zero (*i.e.* k_4<10^{-6} min^{-1}, leading to unrealistically high values of BP_{ND} incompatible with reversible binding), 3TCM was considered as the most appropriate model, even if AICc favored the 2TCM over the 3TCM. From this point onwards, the model selected by the algorithm is designated as the "best model", and ROIs are characterized as being of 2TCM- or 3TCM-type. To assess the magnitude of the deviation in goodness-of-fit, their difference was calculated for each ROI ($\Delta AICc = AICc_{2TCM} - AICc_{3TCM}$). In case of a 2TCM-type TAC, k_5 was considered as equal to 0 min^{-1}.

Description of experimental protocols

We used the data from 2 studies evaluating the effects of various ventilatory strategies on lung mechanics and inflammation in animals with experimental ARDS. The protocols were approved by an animal ethics committee (CELYNE, reference no. 2015041015179195 and 201907311141381). Details on animal conditioning, experimental ARDS, and mechanical ventilation are presented in **Supplemental methods 1**. The first lung PET acquisition (T1) was performed either before (no ARDS) or immediately after experimental ARDS (early ARDS), and again 4h later (T2, late ARDS, **Supplemental figure 2**).

PET acquisition protocol and PET-CT post-processing

For all PET acquisitions, we used a Siemens BioGraph TruePoint PET/CT (Siemens, Germany). PET acquisitions lasted 60 min, starting at the onset of the [^{11}C](R)-PK11195 injection. PET acquisitions were a dynamic series of 18 frames with increasing durations.

Transmission CTs were used to draw and segment PET data. From this, we computed PET TACs in 6 distinct lung regions (anatomical segmentation in the antero-posterior and cephalon-caudal axes, **Supplemental Figure 3**), and in 4 aeration compartments (hyperinflated, normally, poorly, and nonaerated). F_D was computed using the X-ray attenuation of the transmission CT scan (*12*). Details on PET acquisition, radiotracer synthesis, image post-processing are presented in **Supplemental methods 2**.

Resolution method of the 3TCM and 2TCM models

The 3TCM can be expressed and resolved using the differential equations presented in **Supplementary methods 3**. Using convolution, non-linear least-square resolution was performed using the [^{11}C](R)-PK11195 parent plasma input function $C_{PK}(t)$, and the lung ROI TAC $C_{ROI}(t)$. The initial guesses of rate constants K_1, k_2, k_3, k_4, k_5 and F_{WB} were 1 ml.min^{-1}.ml lung^{-1}, 0.4 min^{-1}, 0.01 min^{-1}, 0.04 min^{-1}, 0.001 min^{-1}, and 0.05, respectively. The initial guess of K_1 was corrected for the computerized tomography (CT) -measured lung density F_D to account for its heterogeneity in different ROIs (*12*). k_2 initial guess was changed to 0.25 min^{-1} in case of out-of-range values of microparameters k_3 (>100 min^{-1}) *(13)*. The regression algorithm used trust-region reflective algorithm, aiming to minimize the sum of squares between fitted and observed values, *i.e.* $C_{ROI}(t)$, with weighting by PET frame length. Fitted parameters, including F_{WB} were all constrained between 0 and +∞. Non-linear least-square resolution of the 2TCM was performed using the exact same methodology as for the 3TCM (using the same initial guesses and constraints of rate constants, with the exclusion of k_5). BP_{ND} was computed similarly to the 3TCM. The methodology of input function $C_{PK}(t)$ determination is fully described in **Supplemental methods 4.**

Regional SUV in each lung ROIs was computed using the mean radioactivity measured between 40 and 60 minutes after injection (*14*), and was corrected by F_D, to take into account lung aeration (*15*).

Monte Carlo error simulations

Simulations were performed to investigate the effects of regional F_D and 3 determinant corrections applied to model input functions (tissue arrival delay, spillover coefficient [SC] and [^{11}C](R)-PK11195 parent fraction α) on BP_{ND} bias, using a representative input function and set of model parameters to generate a simulated 3TCM TAC (*7*). Gaussian noise (5 and 10%) was added to the simulated TAC and models were re-applied for resolution, and bias computation. The full description of simulation methods is presented in **Supplemental methods 5**.

Pathology study

At experiment end, the right lung was surgically extracted and divided into 6 regions. Macrophage presence and histologic lung injury were evaluated using semi-quantitative scores, following an ordinal scale ranging from 0 to 3 (**Supplementary methods 4**) (*16*). Pathology scores were compared to BP_{ND} measured on the second PET acquisition.

Statistics

A *p* value below 0.05 was chosen for statistical significance. All analysies were performed using R *(17)*. All quantitative variables are reported using median and interquartile range in brackets, except stated otherwise, and categorical variables with count and percentage in parenthesis. We reported the ratio of median absolute deviation to median as an indicator of the variable dispersion.

Association of lung regions, experimental conditions, aeration levels, or pathology results with regional BP_{ND} (or other regionally measured variables of interest) were performed using mixed effects regression models to evaluate the association of variables of interest (fixed effects) with the dependent variable, using the animal number as random effect to account for the repetition of regional measurements in each animal. Interactions were systematically evaluated; in the case of a significant interaction, a post-hoc analysis using pairwise

comparison adjusted for the repetition of statistical tests was performed using the Tukey method . In the case of a linear association between 2 variables in a model including a random effect, we produced the marginal R^2 value evaluating the strength of the correlation between the fixed effect and the dependent variable, independently from the random effect. In the case of post-hoc multiple comparisons to a single reference level, we used the Dunnett adjustment method. Finally, all model *p* values were calculated using parametric bootstrapping with 500 simulated values.

RESULTS

Twelve animals were included, comprising 38 PET acquisitions (**Supplemental figure 2**). The details of parent plasma input function determination of [^{11}C](R)-PK11195 is presented in **Supplemental Results 1**.

Performance of model selection using the algorithm

Based on the selection algorithm, the 3TCM was preferred in 62% (N=142/228, 95% confidence interval: 56 to 69%) of lung ROIs (**Supplemental figure 4**). 3TCM was selected based on the negligible k_4 criterion in 7% (N=16/142) of 3TCM-type ROIs. **Figure 1** shows illustrative fits with both models (**Supplemental figure 5** for residual analysis of all fitted regional TAC).

Frequency of 3TCM selection significantly differed between lung regions, but not between experimental conditions (**Supplemental figure 4**). In 2TCM-type ROIs, the k_5 constant rate computed by the 3TCM was not significantly different from 0 (0 [0–1.10^{-6}], p=0.09). Finally, increasing 3TCM-derived regional k_5 values were linearly associated with increasing ΔAICc values (**Supplemental Figure 6**)

Best model parameters

Best model estimates (with ratio of median absolute deviation to median between parenthesis) were the following: K_1=2.4 [1.3–3.8] ml.min^{-1}.ml lung^{-1} (0.48); k_2=0.7 [0.5–0.9] min^{-1} (0.30); k_3=0.07 [0.03–0.17] min^{-1} (0.69); k_4=0.13 [0.06–0.27] min^{-1} (0.64); k_5=0.002 [0.00–0.008] min^{-1} (1.23); BP_{ND}=0.56 [0.31–0.90] (0.50); F_{WB}=0.06 [0.04–0.10] (0.49). **Supplemental Figure 7** shows the correlation between best model rate constants and the 2TCM rate constants in all ROIs. BP_{ND} values estimated by the 2TCM were significantly higher than those estimated by the 3TCM (0.81 [0.44–1.33] vs. 0.60 [0.34–0.94]), or that of the best model (0.56 [0.31–0.90], p=0.02 for both comparisons to the 2TCM value). Finally, BP_{ND} showed a weak correlation with F_D-corrected SUV (**Figure 2**).

Association of best model BP_{ND} with pathology

Macrophage and lung injury scores (N=102 samples) significantly varied between lung regions (**Supplemental Figure 8**). The macrophage score was significantly associated with the best model BP_{ND} (**Figure 3**, panel A). The association of BP_{ND} with the macrophage score was not significant if using exclusively 2TCM-derived BP_{ND} (**Supplemental Figure 9**).

Effect of experimental ARDS and lung aeration on BP_{ND}

At T1, best model BP_{ND} was significantly increased in case of *early ARDS,* compared to normal lungs, and significantly varied between lung ROIs (**Supplemental table 1**). Best model BP_{ND} was significantly higher in the hyperinflated and the non-aerated lung compartments, compared to the normally aerated compartment (**Figure 4**).

Results of Monte Carlo error simulations

BP_{ND} bias resulting from simulated TACs are presented in **Supplemental Figure 10**. First, the 2TCM led to 27±6% overestimation of BP_{ND} value when applied to a 3TCM-type simulated TAC. Also, BP_{ND} bias was kept constant across all F_D values. Mean BP_{ND} bias was

within ±15% with varying tissue arrival delay, and reached a maximum of -40% with the highest SC values. Low and high values of parent fraction α led to the highest degree of BP_{ND} bias.

DISCUSSION

In the present study, we evaluated the performance of a plasma-input 3TCM pharmacokinetic model of [^{11}C](R)-PK11195 uptake in the lungs of animals with and without experimental ARDS. Our results show that 1- the 3TCM was more frequently selected as the most appropriate model, compared to the conventional 2TCM; 2- regional BP_{ND} significantly increased with lung macrophage infiltration in pathology, supporting the radioligand's specificity to evaluate acute macrophagic lung inflammation in PET; 3- regional BP_{ND} was significantly increased in hyperinflated lung regions, suggesting its performance to evaluate VILI.

Experience of plasma-input kinetic models of [^{11}C](R)-PK11195 in the lung is poor. To date, this is the first study to evaluate multiple plasma-input kinetic models of [^{11}C](R)-PK11195 in lungs with or without experimental ARDS. PET imaging of the lungs is especially challenging due to the heterogeneity of the studied tissue (amplified in case of ARDS), due to the presence of air and blood in the ROI, the very large size of ROI when studying the whole organ, and finally the existence of movement during image acquisition, among others (*18*).

Our results show that, with our methodology, BP_{ND} was superior to SUV and F_D-corrected SUV to quantify [^{11}C](R)-PK11195 lung uptake, which strongly supports that compartmental modeling is warranted to accurately quantify specific [^{11}C](R)-PK11195 lung uptake. Also, our results were independent from lung density variations, which is a major asset when evaluating a high heterogenous organ such as the lung. Furthermore, we demonstrate the superiority of the 3TCM over the 2TCM, as the latter led to an estimated 27% bias in the radioligand lung uptake in our simulation study. Extrinsic validity of the model is supported by the fact that region BP_{ND} was significantly increased in case of experimental ARDS, but also augmented in the most hyperinflated lung regions, as well as in nonaerated ones.

Our work demonstrates the frequent superiority of the 3TCM in terms of fit quality and model selection by the algorithm, compared to the 2TCM. Multiple factors may explain the benefits of adding a third, irreversible et non-specific, compartment to the kinetic model of [^{11}C](R)-PK11195 lung uptake. First, [^{11}C](R)-PK11195 is a highly lipophilic compound, thought to diffuse quickly in tissues. Recent data suggests that the synthetic parent compound PK11195 may interact with planar lipid bilayer membranes and be trapped in-between (*9*). This would explain the non-specific uptake in tissues previously reported in studies that used the 2-tissue compartment reversible model to describe [^{11}C](R)-PK11195 kinetics in the brain or joints (*3,7*). This phenomenon had already been suspected by Kropholler et al., who concluded that it would inevitably lead to the overestimation of BP_{ND}; this we confirmed in our simulation study where we observed a mean BP_{ND} bias of 27% if the 2TCM was applied.

Importance of the non-specific uptake of the tracer is confirmed by the association of BP_{ND} computed using the best model with the semi-quantitative score of macrophage presence in lung tissues, which was not the case when using exclusively the 2TCM to compute BP_{ND}. Also, model quality of fit was improved by the addition of k_5 to the model, with a linear association between k_5 and improved fit quality.

Model selection based on our algorithm led to the selection of the 3TCM in more than two thirds of ROIs. In most cases, model selection was based on the lowest AICc value and not on the negligible 2TCM k_4 value. Although infrequent, it is in our sense justified to select the 3TCM over the 2TCM, despite its higher AICc, when 2TCM k_4 is so low that it should be assimilated to an irreversible uptake in the second compartment. Indeed, we interpret the irreversible uptake that it implies as the consequence of an unaccounted-for extra compartment by the 2TCM in which the tracer is trapped irreversibly.

The best model BP_{ND} showed acceptable association with the macrophage pathology score, sufficient to help quantify non-invasively the course of macrophagic inflammation in this experimental setting. However, the model-determined parameters were not evaluated against

direct quantification of the compound target, that is the TSPO receptor (using ELISA for example). This also implies that we cannot assert without doubt that some of the uptake quantified by the BP_{ND} was at least partly non-specific. However, others have demonstrated that the specificity of [^{11}C](R)-PK11195 for TSPO and macrophages is high in the context of an acute lung injury (*19,20*).

Simulations showed that the best model BP_{ND} was only limitedly affected by noise, and not by errors in lung ROI density. The fact that ROI density did not generate a significant bias in BP_{ND} computation is of major importance, as it is pivotal issue in lung PET studies, with no uncontroversial method to adjust for its impact (*15*). Furthermore, it provides a solution that is superior in robustness compared to the computation of regional SUV, even if the latter is corrected for regional lung densities. Also, our results show that F_D-corrected SUV cannot predict with sufficient quality the uptake of [^{11}C](R)-PK11195. Indeed, regional SUV does not account for the quantity of blood present in the ROI, nor for the specific binding of the tracer to its receptor . Hence, our methodology offers the opportunity of quantifying tracer binding with relative independence from the presence of gas and blood in the studied ROI.

An unexpected finding of our work is the relatively high values of K_1 computed with both models, compared to previously published work, more than 10 times higher than values previously reported in the brain (*7*). Firstly, this may be explained by the increase in tissue permeability and/or regional lung perfusion induced by acute inflammation in our model, as compared to chronic inflammatory states that are usually studied with [^{11}C](R)-PK11195 PET (*3-7*). Against this hypothesis is the fact that we observed significantly lower K_1 values in animals with experimental ARDS compared to uninjured animals, although we cannot eliminate the potential impact on the pulmonary circulation of hypoxia or ventilatory parameters such as high PEEP. Second, high K_1 values may be the consequence of the very large available surface of transfer between plasma and tissue in the lung, in direct relationship with the fact that it is the sole organ to receive 100% of blood flow. Third, it is possible that the computed K_1 may have been affected and overestimated by the radiotracer's dispersion in the

pulmonary vasculature (*21*), an error well described in PET brain studies, although of lesser amplitude.

Despite our efforts to optimize initial guesses for model resolution, fit results produced very high values of k_3 in a limited number of ROIs. Errors in microparameter determination is a well-known issue of PET modeling, especially present in brain [^{18}F]-fluorodeoxyglucose studies, which does not usually impact the value of macroparameters such as BP_{ND} derived thereof (*13*). Different methods exists to decrease the dispersion and variability of determined microparameters, including optimization of initial guesses and adaptive weighed nonlinear resolution (*13*).

Quantification of [^{11}C](R)-PK11195 metabolites required the use of a population-based fit, due to the logistic and technical difficulty to obtain individual curves at each PET acquisitions. Like in humans, we observed fast metabolization of [^{11}C](R)-PK11195, with 15% of parent compound remaining at 60 minutes of PET study start (*6*). Simulations showed that accounting for metabolization is of major importance, and that overestimation of the parent fraction would lead to substantial underestimation of BP_{ND}. Referencing BP_{ND} to the circulating plasma parent fraction would help decrease this error, similar to the computation of BP_F, *i.e.* the ratio of bound radioligand concentration to free ligand concentration in tissue, assuming that it is in equilibrium with plasma (*10*). Finally, we hypothesize that the suspected error induced by increases in metabolization would only limitedly impact model results, as it would draw parent fraction towards lower values at equilibrium. This is in line with the conclusions of Lamare et al. and Kropholler et al. in humans (*3,6*).

CONCLUSIONS

To assess acute lung inflammation in the context of experimental ARDS, PET quantification of lung macrophages using [^{11}C](R)-PK11195 lung uptake was significantly improved using a three-tissue compartment kinetic model, accounting for a non-specific and irreversible binding of the radiotracer in tissues. Combined with quantitative CT acquisitions,

this new methodology offers the opportunity to non-invasively explore mechanisms of ARDS and ventilator-induced lung injuries, and evaluate innovative strategies aiming to control acute lung inflammation.

DECLARATIONS

Funding

The present work was funded by grants of the Société de Réanimation de Langue Française (Bourse de Recherche Expérimentale), and of the Hospices Civils de Lyon (Bourse Jeune Chercheur 2019).

Conflicts of interest/Competing interests

No conflicts of interest, financial or otherwise, are declared by the authors.

Availibility of data

Data will be made available upon reasonable request.

Availibility of code

Code will be made available upon reasonable request.

Authors' contributions

LB designed the study, collected, analyzed and interpreted the data, drafted the manuscript. FD collected and analyzed the data. SL collected and analyzed the data, made substantial revisions to the manuscript. DLB collected and analyzed the data, made substantial revisions to the manuscript. NC interpreted the data, made substantial revisions to the manuscript. NB analyzed and interpreted the data, made substantial revisions to the manuscript. MO interpreted the data, made substantial revisions to the manuscript. JCR designed the study, collected, analyzed and interpreted the data, made substantial revisions to the manuscript. All authors approved the final version of the manuscript, agree to be accountable for all aspects of the work.

Ethics approval

The protocols were approved by an animal ethics committee (CELYNE, reference no. 2015041015179195 and 201907311141381).

Consent to participate

Not applicable

Consent for publication

Not applicable

Acknowledgments

The authors are grateful to Frederic Bonnefoi, Thibaut Iecker, Christian Tourvieille, Franck Lavenne, Jérôme Redouté, and Jean-Baptiste Langlois, all at Centre d'Etude et de Recherche Multimodal et Pluridisciplinaire (CERMEP), for their help.

REFERENCES

1. Jones HA, Valind SO, Clark IC, et al. Kinetics of lung macrophages monitored in vivo following particulate challenge in rabbits. *Toxicol Appl Pharmacol.* 2002;183:46-54.

2. Pugliese F, Gaemperli O, Kinderlerer AR, et al. Imaging of vascular inflammation with [11C]-PK11195 and positron emission tomography/computed tomography angiography. *J Am Coll Cardiol.* 2010;56:653-661.

3. Kropholler MA, Boellaard R, Elzinga EH, et al. Quantification of (R)-[11C]PK11195 binding in rheumatoid arthritis. *Eur J Nucl Med Mol Imaging.* 2009;36:624-631.

4. van der Laken CJ, Elzinga EH, Kropholler MA, et al. Noninvasive imaging of macrophages in rheumatoid synovitis using 11C-(R)-PK11195 and positron emission tomography. *Arthritis Rheum.* 2008;58:3350-3355.

5. Jucaite A, Cselenyi Z, Arvidsson A, et al. Kinetic analysis and test-retest variability of the radioligand [11C](R)-PK11195 binding to TSPO in the human brain - a PET study in control subjects. *EJNMMI Res.* 2012;2:15.

6. Lamare F, Hinz R, Gaemperli O, et al. Detection and quantification of large-vessel inflammation with 11C-(R)-PK11195 PET/CT. *J Nucl Med.* 2011;52:33-39.

7. Kropholler MA, Boellaard R, Schuitemaker A, et al. Development of a tracer kinetic plasma input model for (R)-[11C]PK11195 brain studies. *J Cereb Blood Flow Metab.* 2005;25:842-851.

8. Bitker L, Costes N, Le Bars D, et al. Noninvasive quantification of macrophagic lung recruitment during experimental ventilation-induced lung injury. *J Appl Physiol (1985).* 2019;127:546-558.

9. Hatty CR, Le Brun AP, Lake V, et al. Investigating the interactions of the 18kDa translocator protein and its ligand PK11195 in planar lipid bilayers. *Biochim Biophys Acta.* 2014;1838:1019-1030.

10. Innis RB, Cunningham VJ, Delforge J, et al. Consensus nomenclature for in vivo imaging of reversibly binding radioligands. *J Cereb Blood Flow Metab.* 2007;27:1533-1539.

11. Golla SSV, Adriaanse SM, Yaqub M, et al. Model selection criteria for dynamic brain PET studies. *EJNMMI Phys.* 2017;4:30.

12. Gattinoni L, Pesenti A, Bombino M, et al. Relationships between lung computed tomographic density, gas exchange, and PEEP in acute respiratory failure. *Anesthesiology.* 1988;69:824-832.

13. Huang S-C, Wu L-C, Lin W-C, Lin K-P, Liu R-S. Adaptive Weighted Nonlinear Least Squares Method for Fluorodeoxyglucose Positron Emission Tomography Quantification. *Journal of Medical and Biological Engineering.* 2018;38:63-75.

14. van den Hoff J, Oehme L, Schramm G, et al. The PET-derived tumor-to-blood standard uptake ratio (SUR) is superior to tumor SUV as a surrogate parameter of the metabolic rate of FDG. *EJNMMI Res.* 2013;3:77.

15. Lambrou T, Groves AM, Erlandsson K, et al. The importance of correction for tissue fraction effects in lung PET: preliminary findings. *Eur J Nucl Med Mol Imaging.* 2011;38:2238-2246.

16. Broccard AF, Shapiro RS, Schmitz LL, Ravenscraft SA, Marini JJ. Influence of prone position on the extent and distribution of lung injury in a high tidal volume oleic acid model of acute respiratory distress syndrome. *Crit Care Med.* 1997;25:16-27.

17. *R: A language and environment for statistical computing* [computer program]. Version. Vienna, Austria: R Foundation for Statistical Computing; 2008.

18. Chen DL, Cheriyan J, Chilvers ER, et al. Quantification of Lung PET Images: Challenges and Opportunities. *J Nucl Med.* 2017;58:201-207.

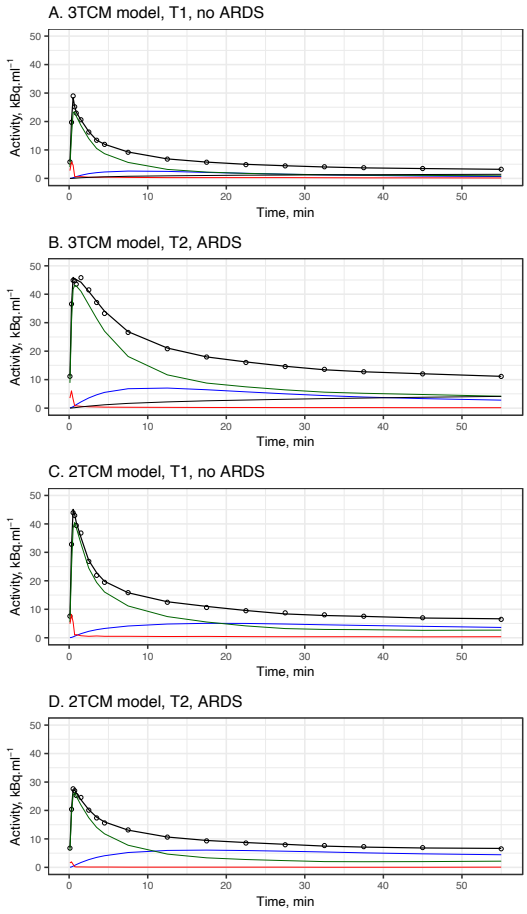
19. Jones H. Kinetics of Lung Macrophages Monitored in Vivo Following Particulate Challenge in Rabbits. *Toxicology and Applied Pharmacology.* 2002;183:46-54.

20. Hatori A, Yui J, Yamasaki T, et al. PET imaging of lung inflammation with [18F]FEDAC, a radioligand for translocator protein (18 kDa). *PLoS One.* 2012;7:e45065.

21. Clough AV, Haworth ST, Hanger CC, et al. Transit time dispersion in the pulmonary arterial tree. *J Appl Physiol (1985).* 1998;85:565-574.

FIGURE LEGENDS

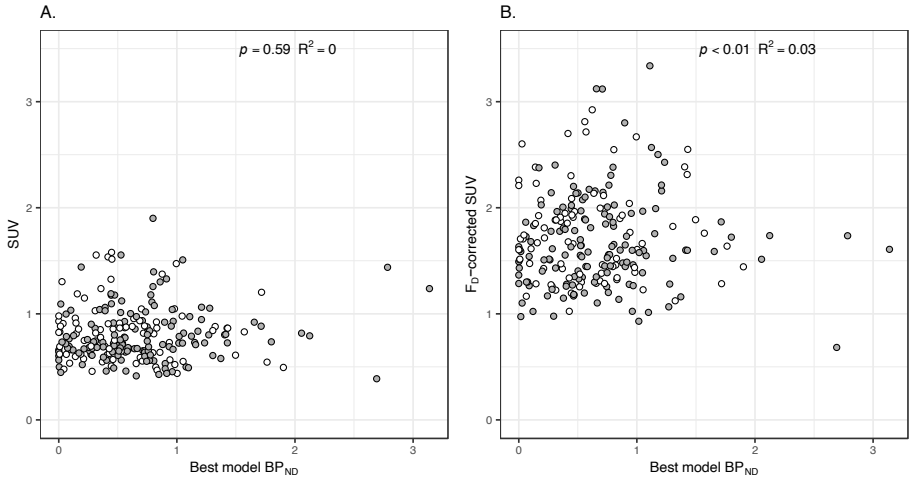
Figure 1, Curve fits with the 3TCM and 2TCM models



The figure shows the fits obtained using the 3TCM in a 3TCM-type ROI (A and B), and using the 2TCM model in 2TCM-type ROI (C and D). Panels A and C correspond to fits performed on ROIs without experimental ARDS at T1, and panels B and D in ROIs with experimental ARDS at T2 (late ARDS). The green line is the concentration of free parent tracer in lung tissue $C_f(t)$, the blue line is the concentration of parent compound bound to the TSPO receptor in the ROI $C_b(t)$, and the red line is the amount of radioactivity in the whole blood

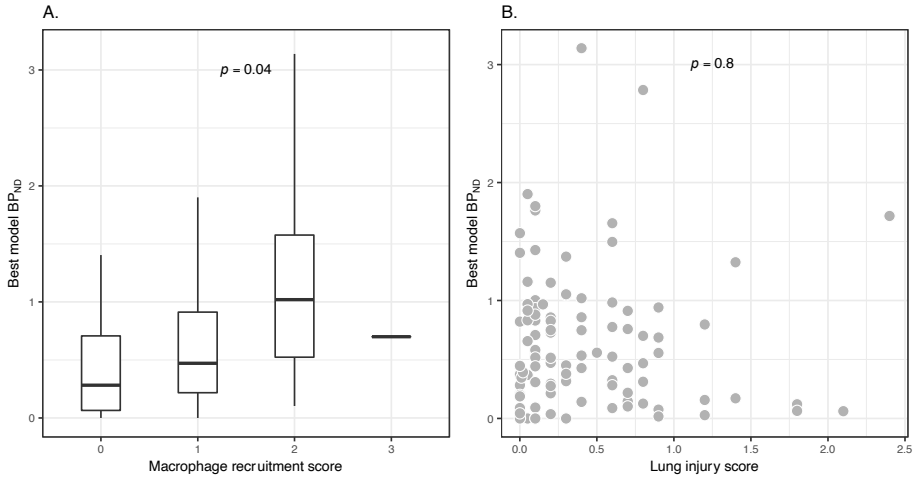
within the ROI $C_{wb}(t)$. In panel A and B, the light black line is the concentration of tracer non-specifically and irreversibly trapped in the tissue $C_{ns}(t)$. The open dots are the lung ROI PET radioactivity measurements, and the heavy black line is the sum of the individual compartmental concentrations computed over time. ARDS: acute respiratory distress syndrome; PET: positron emission tomography; ROI: region of interest; 2TCM: two-tissue compartment model; 3TCM: three-tissue compartment kinetic model.

Figure 2, Association of [^{11}C](R)-PK11195 binding potential with region SUV with or without normalization to lung ROI density



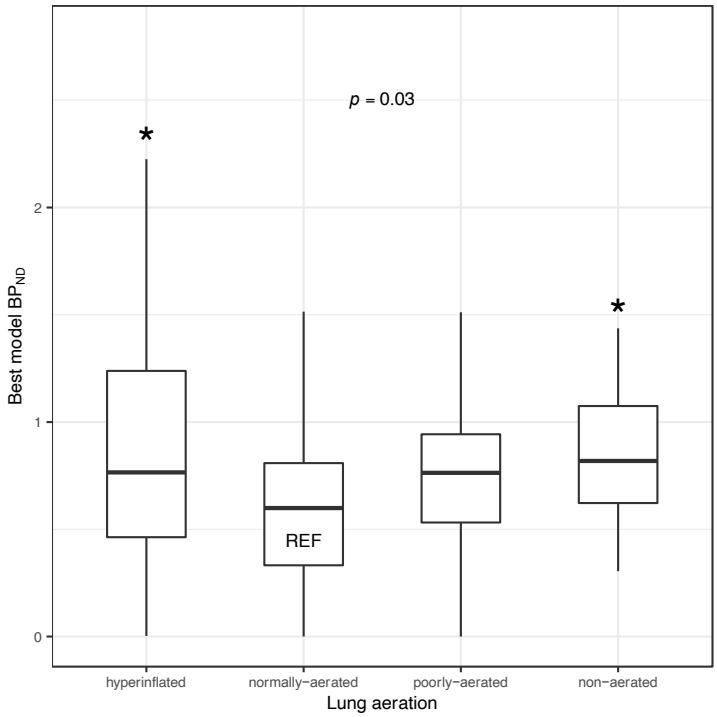
The figure shows the association of regional best model BP_{ND} with uncorrected (panel A) and F_D-corrected SUV (B). Each regional estimate is represented, in grey for BP_{ND} derived from the 3TCM model, and in white for those derived from the 2TCM model. The *p* value examines the linear association between BP_{ND} and the variable of interest. BP_{ND}: binding potential; F_D: lung ROI density; SUV: standardized uptake value.

Figure 3, Association of [^{11}C](R)-PK11195 binding potential with lung pathology scores



The figure shows regional best model BP_{ND} values (grey dots) as a function of the macrophage recruitment score (panel A) and of the lung injury score (panel B). The *p* value examines the linear association of pathology scores with BP_{ND} regional values. BP_{ND}: binding potential.

Figure 4. Association of [^{11}C](R)-PK11195 binding potential with lung aeration



The figure shows boxplots of best model BP_{ND} as a function of 4 lung aeration levels: hyperinflated, normally, poorly, and nonaerated. The normally aerated compartment was defined as the reference compartment. The *p* value indicates the result of the overall association of aeration levels with best model BP_{ND} (*: $p<0.05$ versus the reference level, Dunnett test). BP_{ND}: binding potential

3. TRAVAIL N°3

Nota bene : ce travail est en cours de rédaction et de nouvelles analyses sont en attente. Le manuscrit en langue anglaise est présenté ici afin de montrer le potentiel des outils développé au cours de la thèse. Il n'a pas été à ce jour soumis pour publication

a. Rationnel

Le décubitus ventral est devenu l'une des stratégies thérapeutiques centrales de la prise en charge des SDRA modérément sévère à sévère. Son utilisation pendant plus de 16h chez les patients en SDRA dont le rapport P_aO_2/F_iO_2 est inférieur à 150 mm Hg est associé à un doublement de la survie, comparativement aux patients en décubitus dorsal permanent. Sur le plan physiopathologique, le décubitus ventral améliore l'adéquation ventilation-perfusion régionale, l'oxygénation et le recrutement alvéolaire. Le décubitus ventral modifie aussi la statique de la paroi thoracique, qui implique une homogénéisation de l'élastance de celle-ci et probablement une amélioration de l'homogénéité de distribution de la ventilation au sein du parenchyme pulmonaire ventilé. L'impact de ces phénomènes mécaniques induits par le décubitus ventral sur la réponse inflammatoire pulmonaire reste incertain, car indirectement étudié par le biais de la mesure des cytokines pro-inflammatoires présentes dans le lavage broncho-alvéolaire de patients en SDRA.

Nous avons précédemment démontré que l'imagerie couplée TEP-scanner au [^{11}C](R)-PK11195 permettait l'étude non invasive des mécanismes d'agression mécanique et inflammatoire ayant trait à la ventilation mécanique. A l'aide d'une méthodologie de quantification de la captation du traceur basée sur la modélisation compartimentale, nous avons maintenant les moyens d'étudier les effets du décubitus ventral sur la distribution et l'intensité de la réponse inflammatoire liée aux macrophages associée à la ventilation mécanique.

b. Hypothèse et objectif

Notre hypothèse était que le décubitus ventral était responsable d'une diminution de l'inflammation pulmonaire aiguë, en lien avec une amélioration de l'homogénéisation de la ventilation. Notre objectif était de quantifier la réponse

inflammatoire pulmonaire régionale chez des animaux soumis à un SDRA expérimental, et placés pendant 4 heures en décubitus dorsal ou en décubitus ventral.

c. Matériels et méthodes

Onze animaux étaient placés sous ventilation mécanique et anesthésie générale avec curarisation. Tous les animaux étaient porteurs, à la suite du conditionnement pré-expérimental, d'une prothèse trachéale positionnée par trachéotomie chirurgicale et connectée au respirateur, d'un cathéter artériel dans la carotide gauche, d'une cathéter veineux central dans la veine jugulaire gauche, d'un cathéter artériel pulmonaire dans la veine jugulaire droite, et d'un ballonnet de pression œsophagienne. Dès la fin du conditionnement, la ventilation était débutée et poursuivie selon les réglages suivants : volume courant 6 $ml.kg^{-1}$, PEP 5 cm H_2O, fréquence respiratoire 25 min^{-1} et F_iO_2 0.21.

Le SDRA expérimental était induit par l'instillation intra-trachéale de 3 $ml.kg^{-1}$ d'acide chlorhydrique (HCl), à la concentration de 0.1 M, afin d'obtenir un ratio P_aO_2/F_iO_2 à 30 minutes inférieur à 300 mm Hg. En cas d'objectif non atteint, une nouvelle instillation de 1 $ml.kg^{-1}$ de HCl pouvait être répétée deux fois afin d'obtenir le niveau d'hypoxémie désirée. Une fois le SDRA expérimental induit, les animaux étaient randomisés pour être placé en décubitus ventral pendant 4 heures, ou être maintenu en position de décubitus dorsal pendant la même durée. Pendant tout le protocole, nous avons collectés les variables suivantes : pression plateau et PEP totale et les pressions œsophagiennes ($P_{œso}$) de fin d'inspiration et d'expiration. A partir de celles-ci, nous avons calculé les pressions motrices des voies aériennes (pression plateau – PEP totale) et de la pression œsophagienne ($P_{œso}$ de fin d'inspiration — $P_{œso}$ de fin d'expiration). Celles-ci permirent le calcul des élastances du système respiratoire, de la paroi thoracique et du poumon. A partir du rapport des élastances, nous avons aussi estimé la pression transpulmonaire de fin d'inspiration.

Le protocole d'imagerie était composé de 3 séries de scanners thoraciques réalisées respectivement avant l'induction du SDRA expérimental, immédiatement à sa suite, et 4 heures après. Chaque série de scanner était composée d'un scanner de fin d'inspiration, un scanner de fin d'expiration et d 'un scanner à la CRF (après déconnection transitoire du respirateur). La région pulmonaire était ensuite segmentée et divisée en 8

sections d'épaisseurs égales et réparties dans l'axe antéro-postérieur, permettant le calcul de paramètres quantitatifs sur le poumon entier et dans chacune des 8 sections. Ces paramètres étaient le volume courant et le volume aéré par la PEP, le volume recruté par le volume courant (recrutement intracycle) et par la PEP, et l'hyperinflation intracycle. Les fractions non aérée (UH entre -100 et +100), pauvrement aérée (UH entre -500 et -101), normalement aérée (UH entre -900 et -501) et hyperinflatée (UH entre -1000 et -901) étaient aussi déterminées dans chacune des sections pulmonaires.

Après 4 heures d'application de la stratégie (décubitus ventral ou dorsal), une acquisition dynamique en TEP au [^{11}C](R)-PK11195 de 60 minutes était obtenue sur la région thoracique. L'imagerie TEP était segmentée selon le même schéma que les scanners thoraciques. Des courbes temps-activités étaient ainsi mesurées sur le poumon entier et les 8 sections pulmonaires ainsi que dans les 4 compartiments d'aération tel qu'identifié à l'aide de la valeur UH de chaque voxel du scanner de transmission.

La quantification de la captation pulmonaire du [^{11}C](R)-PK11195 comme estimateur de la réponse inflammatoire liée au macrophages était réalisée à l'aide d'une modélisation pharmacocinétique multicompartimentale à fonction d'entrée plasmatique. Brièvement, un modèle à trois compartiments tissulaires (dont un compartiment représentant la captation irréversible et non spécifique du [^{11}C](R)-PK11195 dans le tissu) et un modèle à deux compartiments tissulaires (sans le compartiment de fixation non spécifique sus-cité) étaient appliqués à chaque courbe temps-activité pulmonaire. Chaque modèle comportait un microparamètre k_3 décrivant la fixation du [^{11}C](R)-PK11195 à son récepteur, et un microparamètre k_4 décrivant sa dissociation de celui-ci (exprimés tous deux en min^{-1}). Le macroparamètre de sortie des modèles était le potentiel de liaison non déplaçable (BP_{ND}), représentant la densité de récepteur TSPO disponible pour la liaison du [^{11}C](R)-PK11195, et calculé par le ration de k_3 sur k_4.

La valeur de BP_{ND} retenue pour l'analyse dans chaque région pulmonaire correspondait à celle déterminée par le modèle décrivant le mieux les données mesurées. Pour cela, nous avons calculé le Critère d'Information d'Akaike corrigée (AICc) et sélectionné le modèle et le BP_{ND} dont l'AICc était la plus basse. Dans le cas où le modèle

à deux compartiments était sélectionné comme le meilleur modèle du fait d'un AICc plus bas, mais que son paramètre k_4 était d'une valeur numérique excessivement faible (inférieurd à 10^{-6} min^{-1}) suggérant une fixation irréversible du traceur, alors le modèle à trois compartiments était alors préféré même si son AICc était plus élevée.

d. Résultats

Six animaux ont été randomisés dans le groupe décubitus ventral, et cinq maintenu en décubitus dorsal. Le SDRA expérimental était associée à une augmentation significative de la pression plateau (médiane [écart interquartile] : 12 [12–13] à 21 [19–24] mmHg, p<0.05) et du poids pulmonaire estimé au scanner (419 [391–474] à 512 [509–625] g, p<0.05) et une diminution significative de capacité fonctionnelle résiduelle, comparativement aux mesures effectuées avant l'induction du SDRA.

Le décubitus ventral était responsable d'une redistribution vers les régions antérieures des fractions non-aérée et pauvrement aérée, et d'une augmentation significative de la fraction normalement aérée dans les régions postérieures. De même, la capacité résiduelle fonctionnelle régionale était plus élevée et l'index d'hétérogénéité régionale significativement plus bas dans les régions postérieures des animaux en décubitus ventral, comparativement aux animaux en décubitus dorsal. Le *strain* dynamique régionale était lui aussi plus faible dans les régions postérieures des animaux en décubitus ventral.

Au terme de 4 heures d'application des stratégies, l'inflammation pulmonaire régionale était significativement plus basse dans le groupe décubitus ventral en comparaison avec celle mesurée dans le groupe décubitus dorsal (valeurs régionales moyennées : 0.24 [0.10–0.51] versus 0.47 [0.25–0.89], p=0.04). De plus, une augmentation du BP_{ND} régional était significativement et positivement associée au strain dynamique régional, après élimination régressive des variables du modèle multivarié.

e. Conclusions du travail n°3

Dans ce travail non encore soumis pour publication, nous avons observé une diminution globale et régionale de l'inflammation pulmonaire liée aux macrophages chez les animaux en décubitus ventral et porteurs d'un SDRA expérimental, comparativement

aux animaux en décubitus dorsal. Dans ce modèle, le décubitus ventral était associée à une amélioration de la mécanique respiratoire, à l'homogénéisation de l'aération pulmonaire et à une plus faible intensité du *strain* dynamique régional. L'atténuation de la réponse inflammatoire était associée à la baisse du *strain* dynamique en lien avec l'intervention. Ce travail démontre la capacité de [^{11}C](R)-PK11195 a identifié des variations significatives de l'inflammation pulmonaire liée aux macrophages dans des situations expérimentales dans lesquelles l'impact régional de la ventilation était d'intensité comparable à celle observée en pratique clinique.

Nous sommes en train de mettre en place sur le plan analytique la quantification régionale et paramétrique des *stress raisers* à l'aide d'une méthode déjà publiée (Cressoni et al. 2014), ainsi que la quantification voxel par voxel du *strain* à l'aide de technique de recalage des imageries scanners.

Le *online supplement* de ce travail se trouve à la fin du manuscrit de la thèse.

TITLE PAGE

Title: Prone position decreases regional acute lung inflammation assessed by PET quantification of [^{11}C](R)-PK11195 lung uptake in animals with experimental ARDS

Running head: Prone position and acute lung inflammation

Authors: François Dhleft[1,2,3], Didier Le Bars[3,4,5], Emmanuel Roux[2], Maciej Orkisz[2], Nazim Benzerdjeb[6], Jean-Christophe Richard[1,2,3], Laurent Bitker[1,2,3]

Affiliations:

1. Service de Médecine Intensive – Réanimation, Hôpital de la Croix Rousse, Hospices Civils de Lyon, Lyon, France
2. Univ Lyon, INSA-Lyon, Université Claude Bernard Lyon 1, UJM-Saint Etienne, CNRS, Inserm, CREATIS UMR 5220, U1294, F-69621, Villeurbanne, France
3. Université Lyon 1 Claude Bernard, Lyon, France
4. CERMEP – Imagerie du Vivant, Lyon, France
5. Hospices Civils de Lyon, Lyon, France
6. Centre d'Anatomie et Cytologie Pathologique, Centre Hospitalier Lyon Sud, Hospices Civils de Lyon, Lyon, France

Keywords: acute respiratory distress syndrome, positron emission tomography, [^{11}C](R)-PK11195, inflammation, ventilator-induced lung injury

Word count: 5036

INTRODUCTION

Prone positioning is an accepted cornerstone therapeutic in the management of patients with severe to moderately severe acute respiratory distress syndrome (1). When associated with protective ventilation, it significantly improves the survival of these patients, potentially by improving ventilation-perfusion mismatch, oxygenation, alveolar recruitment, and by homogenizing the distribution of histologic damage (2-5). Prone position also alters the chest wall compliance and is suspected to decrease ventilator-induced lung injuries by making the ventilation more uniform throughout lung regions (6-8). However, it remains uncertain whether this improvement in regional lung mechanics would translate into a decrease of the acute inflammatory response that is triggered by the ventilator (biotrauma) (9).

Lung positron emission tomography (PET) allows the non-invasive exploration of specific biological processes if the right radioligand is chosen (10-12). [^{11}C](R)-PK11195 is a specific ligand of the translocator protein (TSPO), expressed by the mitochondria of macrophages (13). Our research group recently published the first usage of [^{11}C](R)-PK11195 to evaluate acute lung inflammation triggered by high tidal volume ventilation in healthy swine lungs (14). Coupled with computerized tomography (CT), [^{11}C](R)-PK11195 lung PET may help identify which parameters measured in CT are associated with an increased lung inflammatory response.

We hypothesized that prone position would decrease acute lung inflammation in animals with experimental ARDS, in relation with regional homogenization of lung aeration and lung ventilation by the ventilator. The main objective of the study was to measure regional lung inflammation assessed non-invasively by the tissue uptake of

[^{11}C](R)-PK11195 along the dorso-ventral axis, in animals with experimental ARDS placed in the prone or the supine position.

MATERIALS AND METHODS

Animal conditioning

The protocol was approved by an animal ethics committee (CELYNE, reference no. 2015041015179195). Female pigs, weighting 28 [25–30] kg, underwent surgical preparation under continuous general anesthesia and neuromuscular blockade. The tracheal tube was introduced *via* median surgical tracheotomy, secured hermetically after cuff inflation, and connected to an eXtend ventilator (Taema, France). Drugs and radiotracers were injected using a central venous catheter surgically hosted in the right internal jugular vein. The animal was also equipped with arterial catheter placed in the left carotid artery for hemodynamic monitoring, and a pulmonary artery catheter placed in the right jugular vein used to perform invasive sampling of the PET tracer input function.

An esophageal balloon (Marquat Gbm, France), inflated with 1 ml of air, allowed continuous monitoring of esophageal pressures (P_{ES}). Its proper position was confirmed by the presence of cardiac artifacts, adequate correlation of airway pressure (P_{AW}) to esophageal pressure (P_{ES}) during an occlusion test, and the absence of P_{ES} changes during gentle epigastric compressions (15). The balloon was re-inflated every 30 minutes throughout the experiment.

Experimental protocol

Immediately after animal conditioning (T1), we applied protective ventilation in supine position using the following settings: tidal volume (V_T) 6 ml.kg^{-1}, external positive

end-expiratory pressure (PEEP) 5 cmH_2O, respiratory rate 25 breaths.min^{-1}, 1:2 inspiratory/expiratory ratio (I/E), constant inspiratory flow, and 0.21 O_2 inspired fraction (16).

Experimental ARDS was induced within 1h after the end of animal conditioning (T2), by the intra-tracheal instillation of 0.1 M chlorohydric acid (body weight dose 3 ml.kg^{-1}) to obtain a ratio of arterial O_2 partial pressure (P_aO_2) to inspired O_2 fraction (F_iO_2) < 300 mmHg measured on arterial blood gas after a 30 min stabilization period (17). If the degree of hypoxia was insufficient (P_aO_2 to F_iO_2 ratio > 300 mm Hg), then another 2 ml.kg^{-1} of HCl was administered intra-tracheally. Arterial blood gases were measured on blood drawn from the carotid catheter, and analyzed on a ABL800 FLEX blood gas analyzer (Radiometer, France), and results were corrected for temperature.

Once experimental ARDS was achieved, animals were randomized to be placed in the prone position during 4 hours (T3), or to remain in the supine position during the same period of time, using a pre-determined random list managed by a staff not involved in the research project. Mechanical ventilation settings were left unchanged after ARDS induction and randomization, except for the increase in FiO2 up to 1 to maintain correct blood O_2 saturation. The protocol is summarized in **Figure 1**.

Respiratory mechanics

Pressure at the airway opening was measured using a connecting tube with lateral aperture connected between the endotracheal tube and the pneumotachograph. Signals of pressure at the airway opening, and air flow were acquired at 200 Hz and analyzed with the Acqknowledge® software (Biopac Systems, Santa Barbara, CA, USA).

Respiratory rate, V_T, total PEEP, P_{PLAT} and esophageal pressures were monitored throughout the protocol. Total PEEP and end-expiratory P_{ES} ($P_{ES,EE}$) were measured at the end of a 3-sec expiratory pause. P_{PLAT} and end-inspiratory P_{ES} ($P_{ES,PLAT}$) were measured at the end of a 3-sec inspiratory pause (18). From these, we calculated the difference in end-inspiratory and end-expiratory airway (ΔP_{AW}) and esophageal pressures (ΔP_{ES}), respectively. This allowed the computation of the respiratory system elastance (El_{RS}), chest wall elastance (El_{CW}), and lung elastance (El_L), by dividing ΔP_{AW}, ΔP_{ES} and the difference between them, by V_T, respectively. Lung end-inspiratory transpulmonary driving pressures $P_{L,PLAT}$ were estimated using the ratio of El_L to El_{RS}, as previously published (19).

PET/CT imaging protocol

Three groups of CT acquisitions were acquired in all animals: one before experimental ARDS (T1), one immediately after ARDS induction (T2), and a third 4 hours later (T3), using a BioGraph TruePoint® PET/CT camera (Siemens, Munich, Germany). Each group was composed of one CT at both end-expiration and end-inspiration and one CT after transient disconnection of the endotracheal tube from the respiratory circuit (i.e. at functional residual capacity [FRC]). End-expiration and end-inspiration CTs were performed by using the hold function of the respirator, and followed by the hermetical clamping of the tracheal tube with 2 Kocher clamps. Respiratory settings were kept unchanged during all imaging procedures.

Longitudinal field-of-view extended over the whole lung area, from the most caudal extremity in sagittal view to the apex. The CT scanner was set as follows: voltage of 120 keV, intensity of 66 mAs, pitch of 0.8, field-of-view diameter of 780 mm, image

reconstruction using a B31f smooth filter, slice thickness of 2 mm, matrix size of 512×512, and pixel size of 1.52×1.52 mm.

Lung CT acquisition protocol

Lung regions of interest (ROIs) were drawn on all CT scans, using OsiriX (Bernex, Switzerland), excluding intrathoracic large vessels and large airways (20). Initial drawing was automatically segmented using the Mialite module for OsiriX (using a radiological attenuation frame between –950 and –50 Hounsfield units [HU]) and secondarily hand-corrected in lung regions that had been erroneously excluded by the automatic segmentation algorithm. Bullae and pneumothorax were excluded from the ROIs. Correct alignment of volumetric ROI mask with PET images was checked visually. Then, 10 lung levels were defined by dividing the lung ROI in 10 equally sized sections along the ventro-dorsal axis (**Figure S1**); the 2 most extreme lung levels (#1 and #10) were excluded to avoid excessively small ROIs, resulting in 8 lung levels for sectional analysis.

Quantitative lung CT analysis

Aeration and CT-derived volumes were computed using MatLab dedicated scripts (Natick, Massachusetts, USA) on the whole lung and in the 8 lung levels, using X-ray attenuation, to compute non-gas and gas voxel fractions (21). ROI lung weight was estimated by the product of the ROI volume by its non-gas fraction, assuming a tissue density of 1 $g.ml^{-1}$. Also, the end-expiratory CT voxels were indexed using their HU value, to define 4 lung aeration compartments in each lung level, as previously described [nonaerated (-100 to +100), poorly aerated (-500 to -101), normally aerated (-900 to -501), and hyperinflated (-1000 to -901)] (22). This allowed the computation of 4 aeration compartment fractions in each ROI, and their volumes in each ROI. We also computed

in each lung ROI, the gas volume at FRC, end-expiration (EELV), and end-inspiration gas lung volumes, by multiplying each ROI volume by its gas fraction on each CT, respectively (23). In a given ROI, we used the ratio the variance of the gas fraction to its squared mean as a representation of the ROI heterogeneity of aeration (24).

Then, we calculated several dynamic CT-derived parameters that would help assess regional mechanical forces associated with VILI. First, V_T and PEEP-related increase in gas volume (V_{PEEP}) corresponded to the difference between end-inspiratory and end-expiratory, and end-expiratory and FRC gas volumes, respectively. Tidal lung recruitment and PEEP-related lung recruitment were calculated in each ROI as the difference in non-aerated non-gas volume induced by V_T and PEEP administration, and corrected by the gas fraction measured at end-inspiration and end-expiration, respectively (25). Tidal hyperinflation was computed as the difference in hyperinflated volume in each ROI at end-inspiration and end-expiration. Finally, dynamic strain was regionally computed as the ratio of V_T to EELV, and static strain as the ratio of V_{PEEP} to FRC, and accounted for the volume recruited by VT and PEEP, respectively (14).

[11C](R)-PK11195 PET acquisition protocol

A combined [^{11}C](R)-PK11195 PET/CT acquisition was also performed at T3 in all animals, using the same PET/CT camera as for other acquisitions. The 216-mm longitudinal field-of-view extended over the whole lung area, from the most caudal extremity in sagittal view to the apex. PET acquisitions lasted 60 min, starting at the onset of the [^{11}C](R)-PK11195 injection (body weight dose of 6.3 [5.3–7.0] MBq.kg^{-1}). The radiotracer was administered on the proximal port of the central venous line, at a rate of 20 ml.min^{-1} over 30 seconds.

PET acquisitions were a dynamic series of 18 frames with increasing durations: 5×12 s, 4×60 s, 7×300 s, and 2×600 s. PET frames were reconstructed in 3D volumes of 112 slices (thickness 2 mm) with in-plane 128×128 matrices (2.1×2.1 mm pixel size). Data were corrected for random coincidences, attenuation (using the preceding transmission CT with similar reconstruction parameters), scatter, and ^{11}C isotope decay. Volumetric ROI masks (8 lung levels and whole lung) drawn on the transmission CT as described above were then applied to all PET frames, allowing the computation of sectional PET time-activity curves (TAC) for the 8 lung levels and for the whole lung.

Quantification of [11C](R)-PK11195 lung uptake

The full methodology of [^{11}C](R)-PK11195 lung uptake quantification is developed in the **Supplemental Methods**. In short, [^{11}C](R)-PK11195 lung uptake was quantified using plasma-input multi-tissue compartment kinetic models applied to whole lung, lung levels, and lung aeration TACs. The models' output was the non-displaceable binding potential of [^{11}C](R)-PK11195 (BP_{ND}), a value independent of lung density (26). Model resolution required the measurement of a parent plasma non-invasive input function corresponding to the whole blood radioactivity measured on PET images in the pulmonary artery, corrected for spill-over and partial volume effects, the plasma fraction over time, the parent compound fraction over time, and regional tissue arrival delay (27-29).

We applied a 2-tissue-compartment (2TCM) reversible model and 3-tissue-compartment model (3TCM) to all PET TACs. The 3TCM may improve the description and specific quantification of the radioligand in tissues as it involves a non-specific and irreversible compartment in which the tracer may be trapped (30). [^{11}C](R)-PK11195

BP_{ND} corresponded to the ratio of the rate constants k_3 (representing [^{11}C](R)-PK11195 binding to its receptor) and k_4 (corresponding to its dissociation from its receptor) computed by each model (26).

To determine the model that best described the lung TACs of [^{11}C](R)-PK11195 and its associated BP_{ND} value, we then applied a 2-step model selection algorithm, based on 1- the comparison of models' corrected Akaike Information Criterion (AICc) (31), and 2- exclusion of 2TCM-type ROIs with k_4 values < 10^{-6} min^{-1}.

Pathology protocol

After the second PET acquisition, animals were euthanized, and their lungs were surgically extracted for pathology analysis. The right lung was divided into an anterior region and a posterior region. In each region, 3 samples of a cubic centimeter (sampled each in the cephalic, medial and caudal tiers of the region, respectively) were prepared for pathology analysis with hematoxylin and eosin staining. Macrophage presence and histologic lung injury were evaluated using semi-quantitative scores, following an ordinal scale ranging from 0 to 3 (3, 14). These scores were evaluated on 5 to 10 field-of-view at 10x and 40x magnification by a pathologist blinded to study protocol (**Table S1**). The lung injury score was multiplied by the extent of observed tissue damage (ranging from 0 to 100%) to give an extension-weighted lung injury score, which was used in all analyses.

Statistics

A *p* value below 0.05 was chosen for statistical significance. All analyses were performed using R *(32)*. All quantitative variables are reported using median and interquartile range in brackets, except stated otherwise. Comparison of whole lung

measurements (such as respiratory mechanics) between groups at all study time point was performed using mixed effects linear regression, with study group and study time point as independent variables, and animal number as random effect.

Association of lung levels, aeration levels, CT-derived parameters, or pathology results with regional BP_{ND} were performed using mixed effects regression models to evaluate the association of variables of interest (fixed effects) with the dependent variable, using the animal number as random effect to account for the repetition of regional measurements in each animal (33). Multicollinearity and interactions were systematically evaluated in multivariate models; in the case of a significant interaction, a post-hoc analysis using pairwise comparison adjusted for the repetition of statistical tests was performed using the Tukey method.

We also performed a multivariate analysis of the CT-derived parameters associated with lung level BP_{ND}, using the variables with a p value ≤ 0.20 in univariate analysis, and the same random effects as describe above. Model selection and reduction was performed using the backward stepwise selection, following the Satterwaithe method.

RESULTS

Effect of experimental ARDS and randomization

Eleven pigs were included; six animals were randomized to be placed in the prone position after T2, the rest was left in the supine position (n=5). Median P_{PLAT} was 21 [19–24] cm H_2O after ARDS induction (T2), and was significantly higher in both groups compared to T1 (**Table 1** for respiratory mechanics at each study time points). P_aO_2/F_iO_2

ratio was comparable in prone and supine animals (99 [89–135] vs. 192 [155–225] mmHg, *p*=0.22) At T3, animals in the prone position had significantly lower P_{PLAT}, lung elastance and $P_{L,PLAT}$ compared to the supine group (**Table 1**).

Between T1 and T3, there was a significant drop in the whole lung FRC and EELV, and a significant increase in lung weight, and lung heterogeneity in both groups (**Tables S2**). Also, whole lung tidal recruitment was significantly increased at T3, and V_{PEEP} significantly decreased, compared to T1 in both groups (**Table S3**). Finally, histology showed mild or moderate lung injury and macrophage recruitment, with significantly higher scores in the dorsal regions of both groups (**Figure S2**).

Effect of prone position of CT-derived parameters at T3

None of the CT-derived parameters measured on the whole lung differed between groups at T3, except for V_{PEEP} which was significantly lower in prone animals compared to supine animals (**Tables S2** and **S3**). There was a significant decrease in the regional non-aerated compartment fraction at end-expiration in the most dorsal lung levels of animals in the prone group, and a significant redistribution of the normally aerated compartment in 6 of the 8 lung levels (**Figure 2**). The regional hyperinflated volume was low in both groups. Regional FRC, EELV and gas fraction at end-expiration were significantly redistributed to, and the heterogeneity index significantly decreased, in the dorsal levels of prone animals, compared to the supine group (**Figure S3**). Regional V_{PEEP} was significantly increased in the ventral levels of supine animals, and dynamic strain significantly increased in their dorsal regions, compared to prone animals (**Figure 3**). Regional tidal recruitment appeared significantly higher in the most dorsal section of prone animals, compared to the supine group.

Effect of prone position of [11C-PK11195] lung uptake at T3

Regional BP_{ND} was significantly higher in all lung levels after 4 hours in the supine position, compared to the prone group (respective median of regional BP_{ND} values: 0.47 [0.25–0.89] versus 0.24 [0.10–0.51], **Figure 4**). Although regional BP_{ND} was different between groups in all lung sections, the main increase appeared in most ventral and dorsal lung sections of supine animals. CT-derived variables that help assess regional forces of VILI and experimental ARDS severity were evaluated against BP_{ND} in univariate analysis (**Table 2**). After backward stepwise selection of variables, regional dynamic strain was the only variable significantly and positively associated with higher regional BP_{ND} (**Table 2**).

DISCUSSION

In the present study, we evaluated the effect of prone positioning, as compared to the supine position, on regional lung acute inflammation related to lung macrophage recruitment, assessed by the PET uptake of [^{11}C](R)-PK11195 in an one-hit animal model of ARDS. We demonstrated that 1- prone positioning help improve regional homogeneity and distribution of aeration along the dorso-ventral axis; 2- it decreased lung inflammation in all lung regions, with a predominant effect in the most dorsal and ventral lung sections; 3- lung inflammation was independently increased in case of higher regional dynamic strain, but not with other CT-assessed parameters of VILI.

[…]

CONCLUSIONS

In an experimental model of ARDS, prone positioning significantly improve regional lung aeration and decreased acute lung inflammation quantified in PET in all lung regions, compared to the supine position. Regional acute lung inflammation related to macrophage recruitment increased with the intensity of regional dynamic strain. Body position and regional strain attenuation impact lung regional biotrauma and may hence help explain the clinical benefits of prone positioning on ARDS outcome observed in humans.

REFERENCES

1. Guerin C, Reignier J, Richard JC, Beuret P, Gacouin A, Boulain T, et al. Prone positioning in severe acute respiratory distress syndrome. N Engl J Med. 2013;368(23):2159-68.
2. Gattinoni L, Pelosi P, Vitale G, Pesenti A, D'Andrea L, Mascheroni D. Body position changes redistribute lung computed-tomographic density in patients with acute respiratory failure. Anesthesiology. 1991;74(1):15-23.
3. Broccard AF, Shapiro RS, Schmitz LL, Ravenscraft SA, Marini JJ. Influence of prone position on the extent and distribution of lung injury in a high tidal volume oleic acid model of acute respiratory distress syndrome. Critical care medicine. 1997;25(1):16-27.
4. Richard JC, Janier M, Lavenne F, Berthier V, Lebars D, Annat G, et al. Effect of position, nitric oxide, and almitrine on lung perfusion in a porcine model of acute lung injury. J Appl Physiol (1985). 2002;93(6):2181-91.
5. Richter T, Bellani G, Scott Harris R, Vidal Melo MF, Winkler T, Venegas JG, et al. Effect of prone position on regional shunt, aeration, and perfusion in experimental acute lung injury. Am J Respir Crit Care Med. 2005;172(4):480-7.
6. Pelosi P, Tubiolo D, Mascheroni D, Vicardi P, Crotti S, Valenza F, et al. Effects of the prone position on respiratory mechanics and gas exchange during acute lung injury. Am J Respir Crit Care Med. 1998;157(2):387-93.
7. Santini A, Protti A, Langer T, Comini B, Monti M, Sparacino CC, et al. Prone position ameliorates lung elastance and increases functional residual capacity independently from lung recruitment. Intensive Care Med Exp. 2015;3(1):55.
8. Terzi N, Bayat S, Noury N, Turbil E, Habre W, Argaud L, et al. Comparison of pleural and esophageal pressure in supine and prone positions in a porcine model of acute respiratory distress syndrome. J Appl Physiol (1985). 2020;128(6):1617-25.
9. Papazian L, Gainnier M, Marin V, Donati S, Arnal JM, Demory D, et al. Comparison of prone positioning and high-frequency oscillatory ventilation in patients with acute respiratory distress syndrome. Critical care medicine. 2005;33(10):2162-71.
10. de Prost N, Tucci MR, Melo MF. Assessment of lung inflammation with 18F-FDG PET during acute lung injury. AJR Am J Roentgenol. 2010;195(2):292-300.
11. Pouzot C, Richard JC, Gros A, Costes N, Lavenne F, Le Bars D, et al. Noninvasive quantitative assessment of pulmonary blood flow with 18F-FDG PET. J Nucl Med. 2013;54(9):1653-60.
12. Rodrigues RS, Bozza FA, Hanrahan CJ, Wang LM, Wu Q, Hoffman JM, et al. (18)F-fluoro-2-deoxyglucose PET informs neutrophil accumulation and activation in lipopolysaccharide-induced acute lung injury. Nucl Med Biol. 2017;48:52-62.
13. Jones HA, Valind SO, Clark IC, Bolden GE, Krausz T, Schofield JB, et al. Kinetics of lung macrophages monitored in vivo following particulate challenge in rabbits. Toxicol Appl Pharmacol. 2002;183(1):46-54.
14. Bitker L, Costes N, Le Bars D, Lavenne F, Orkisz M, Hernandez Hoyos M, et al. Noninvasive quantification of macrophagic lung recruitment during experimental ventilation-induced lung injury. J Appl Physiol (1985). 2019;127(2):546-58.

15. Talmor D, Sarge T, Malhotra A, O'Donnell CR, Ritz R, Lisbon A, et al. Mechanical ventilation guided by esophageal pressure in acute lung injury. N Engl J Med. 2008;359(20):2095-104.
16. The Acute Respiratory Distress Syndrome Network. Ventilation with lower tidal volumes as compared with traditional tidal volumes for acute lung injury and the acute respiratory distress syndrome. N Engl J Med. 2000;342(18):1301-8.
17. Matute-Bello G, Downey G, Moore BB, Groshong SD, Matthay MA, Slutsky AS, et al. An official American Thoracic Society workshop report: features and measurements of experimental acute lung injury in animals. Am J Respir Cell Mol Biol. 2011;44(5):725-38.
18. Barberis L, Manno E, Guerin C. Effect of end-inspiratory pause duration on plateau pressure in mechanically ventilated patients. Intensive care medicine. 2003;29(1):130-4.
19. Grieco DL, Chen L, Brochard L. Transpulmonary pressure: importance and limits. Ann Transl Med. 2017;5(14):285.
20. Gattinoni L, Caironi P, Cressoni M, Chiumello D, Ranieri VM, Quintel M, et al. Lung recruitment in patients with the acute respiratory distress syndrome. N Engl J Med. 2006;354(17):1775-86.
21. Gattinoni L, Pesenti A, Bombino M, Baglioni S, Rivolta M, Rossi F, et al. Relationships between lung computed tomographic density, gas exchange, and PEEP in acute respiratory failure. Anesthesiology. 1988;69(6):824-32.
22. Terragni PP, Rosboch G, Tealdi A, Corno E, Menaldo E, Davini O, et al. Tidal hyperinflation during low tidal volume ventilation in acute respiratory distress syndrome. Am J Respir Crit Care Med. 2007;175(2):160-6.
23. Gattinoni L, Pelosi P, Crotti S, Valenza F. Effects of positive end-expiratory pressure on regional distribution of tidal volume and recruitment in adult respiratory distress syndrome. Am J Respir Crit Care Med. 1995;151(6):1807-14.
24. Motta-Ribeiro GC, Hashimoto S, Winkler T, Baron RM, Grogg K, Paula L, et al. Deterioration of Regional Lung Strain and Inflammation during Early Lung Injury. Am J Respir Crit Care Med. 2018;198(7):891-902.
25. Paula LF, Wellman TJ, Winkler T, Spieth PM, Guldner A, Venegas JG, et al. Regional tidal lung strain in mechanically ventilated normal lungs. J Appl Physiol (1985). 2016;121(6):1335-47.
26. Innis RB, Cunningham VJ, Delforge J, Fujita M, Gjedde A, Gunn RN, et al. Consensus nomenclature for in vivo imaging of reversibly binding radioligands. J Cereb Blood Flow Metab. 2007;27(9):1533-9.
27. Schroeder T, Vidal Melo MF, Musch G, Harris RS, Venegas JG, Winkler T. Image-derived input function for assessment of 18F-FDG uptake by the inflamed lung. J Nucl Med. 2007;48(11):1889-96.
28. Kropholler MA, Boellaard R, Elzinga EH, van der Laken CJ, Maruyama K, Kloet RW, et al. Quantification of (R)-[11C]PK11195 binding in rheumatoid arthritis. Eur J Nucl Med Mol Imaging. 2009;36(4):624-31.
29. Wellman TJ, Winkler T, Vidal Melo MF. Modeling of Tracer Transport Delays for Improved Quantification of Regional Pulmonary ^{18}F-FDG Kinetics, Vascular Transit Times, and Perfusion. Ann Biomed Eng. 2015;43(11):2722-34.

30. Hatty CR, Le Brun AP, Lake V, Clifton LA, Liu GJ, James M, et al. Investigating the interactions of the 18kDa translocator protein and its ligand PK11195 in planar lipid bilayers. Biochim Biophys Acta. 2014;1838(3):1019-30.
31. Golla SSV, Adriaanse SM, Yaqub M, Windhorst AD, Lammertsma AA, van Berckel BNM, et al. Model selection criteria for dynamic brain PET studies. EJNMMI Phys. 2017;4(1):30.
32. R Development Core Team. R: A language and environment for statistical computing. Vienna, Austria: R Foundation for Statistical Computing; 2008.
33. Cnaan A, Laird NM, Slasor P. Using the general linear mixed model to analyse unbalanced repeated measures and longitudinal data. Stat Med. 1997;16(20):2349-80.

TABLES

Table 1. Respiratory mechanics over time

Variables | *study time points*	**Study group**		**Effect of group, *p***	**Effect of time, *p***	**Group × time, *p***
	Supine n=5	**Prone n=6**			
Tidal volume, $ml.kg^{-1}$			>0.99	>0.99	>0.99
T1	6 [5.9–6.1]	5.9 [5.9–6]			
T2	6 [5.9–6.1]	5.9 [5.9–6]			
T3	6 [5.9–6.1]	5.9 [5.9–6]			
Respiratory rate, $breaths.min^{-1}$			>0.99	>0.99	>0.99
T1	25 [25–25]	25 [25–25]			
T2	25 [25–25]	25 [25–25]			
T3	25 [25–25]	25 [25–25]			
Plateau pressure, cmH_2O			-	-	**0.02**
T1	14 [12–14]	12 [12–12]			
T2	24 [21–26][a]	19 [19–21][b,c]			
T3	24 [19–25][a]	18 [18–19][b,c]			
Total PEEP, cmH_2O			**<0.01**	0.15	0.91
T1	6 [6–6]	6 [5–6]			
T2	7 [6–7]	6 [6–6]			
T3	6 [6–6]	5 [5–6]			
ΔP_{AW}, cmH_2O			-	-	**0.03**
T1	7 [6–7]	7 [6–7]			
T2	18 [15–19][a]	14 [13–15][b,c]			
T3	17 [13–19][a]	13 [12–14][b]			
$\Delta P_{ES,}$ cmH_2O			**0.02**	**<0.01**	0.09
T1	2 [1–2]	2 [2–2]			
T2	2 [2–3]	3 [2–4]		#	
T3	3 [2–3]	4 [3–4]		#	
El_{RS}, $cmH_2O.L^{-1}$			0.12	**<0.01**	0.05
T1	43 [33–44]	41 [37–41]			
T2	101 [94–106]	88 [78–98]		#	
T3	90 [86–96]	78 [74–87]		#	
El_{CW}, $cmH_2O.L^{-1}$			**0.01**	**<0.01**	0.07
T1	10 [8–11]	13 [10–14]			
T2	15 [10–16]	21 [13–27]		#	
T3	14 [11–17]	24 [21–25]		#	
El_L, $cmH_2O.L^{-1}$			-	-	**0.01**
T1	33 [23–36]	28 [24–30]			
T2	86 [86–96][a]	67 [57–77][b,c]			
T3	79 [76–79][a]	56 [52–63][b,c]			
$P_{L,PLAT}$, cmH_2O			-	-	**0.02**
T1	13 [11–13]	12 [12–12]			
T2	24 [21–26][a]	19 [19–21][b,c]			
T3	23 [19–25][a]	18 [18–19][b,c]			

Values are median with interquartile range.

The analysis used all data collected in both groups at the 3 study time points, using a mixed effects linear regression with study group and study time point as independent variables, and animal identification number as the random effect. Interaction of time with study group was systematically checked for. If no interaction was identified, the p value of the effect of Group and Time are given, respectively. In case of a significant interaction, a pairwise post-hoc multiple comparison was performed to compare groups at each time points on the one side, and compare T2 and T3 to T1 in each group, on the other.

#: $p<0.05$ compared to T1 at the time point (no interaction with study group)

[a]: p<0.05 compared to T1 in the supine group in multiple comparison
[b]: p<0.05 compared to T1 in the prone group in multiple comparison
[c]: p<0.05 compared to the supine group at this time point in multiple comparison
ΔP_{AW}: difference in airway pressure at end-inspiration (plateau pressure) and end-expiration (total PEEP); ΔP_{ES}: difference in esophageal pressure at end-inspiration and end-expiration; $P_{L,PLAT}$: elastance-derived plateau transpulmonary pressure; El_{CW}: chest wall elastance; El_L: lung elastance; El_{RS}: respiratory system elastance; PEEP: positive end-expiratory pressure.

Table 2. Association of regional CT-derived parameters with regional BP_{ND}

	Univariate analysis		***Multivariate analysis***	
Regional variable	**BP_{ND}** β±SE	***p***	**BP_{ND}** β±SE	***p***
Functional residual capacity, per 100 ml	-0.3±0.1	<0.01	-	-
Non-aerated compartment fraction, per 0.1	0.02±0.01	0.02	-	-
Lung heterogeneity index, per 1 unit	0.01±0.01	0.10	-	-
Tidal volume, per 10 ml	-0.06±0.02	0.01	-	-
Tidal recruitment, per 10 ml	-0.06±0.06	0.19	-	-
Tidal hyperinflation, per 1 ml	0.03±0.04	0.44	-	-
PEEP-related increase in gas volume (V_{PEEP}), per 10 ml	-0.06±0.03	0.04	-	-
PEEP-related alveolar recruitment, per 10 ml	-0.06±0.05	0.18	-	-
Dynamic strain, per 1 unit	0.10±0.03	<0.01	0.10±0.03	<0.01
Static strain, per 1 unit	0.04±0.03	0.14	-	-

Variables with a *p* value ≤ 0.20 were included in the multivariate analysis. Multicollinearity and interactions of variables were systematically checked. Variables with VIF > 3 were excluded before the backward stepwise selection of variables (lung heterogeneity index). Significance of the multivariate model was evaluated using bootstrap.
PEEP: positive end-expiratory pressure; SE: standard error; V_{PEEP}: PEEP-related increase in gas volume.

FIGURES

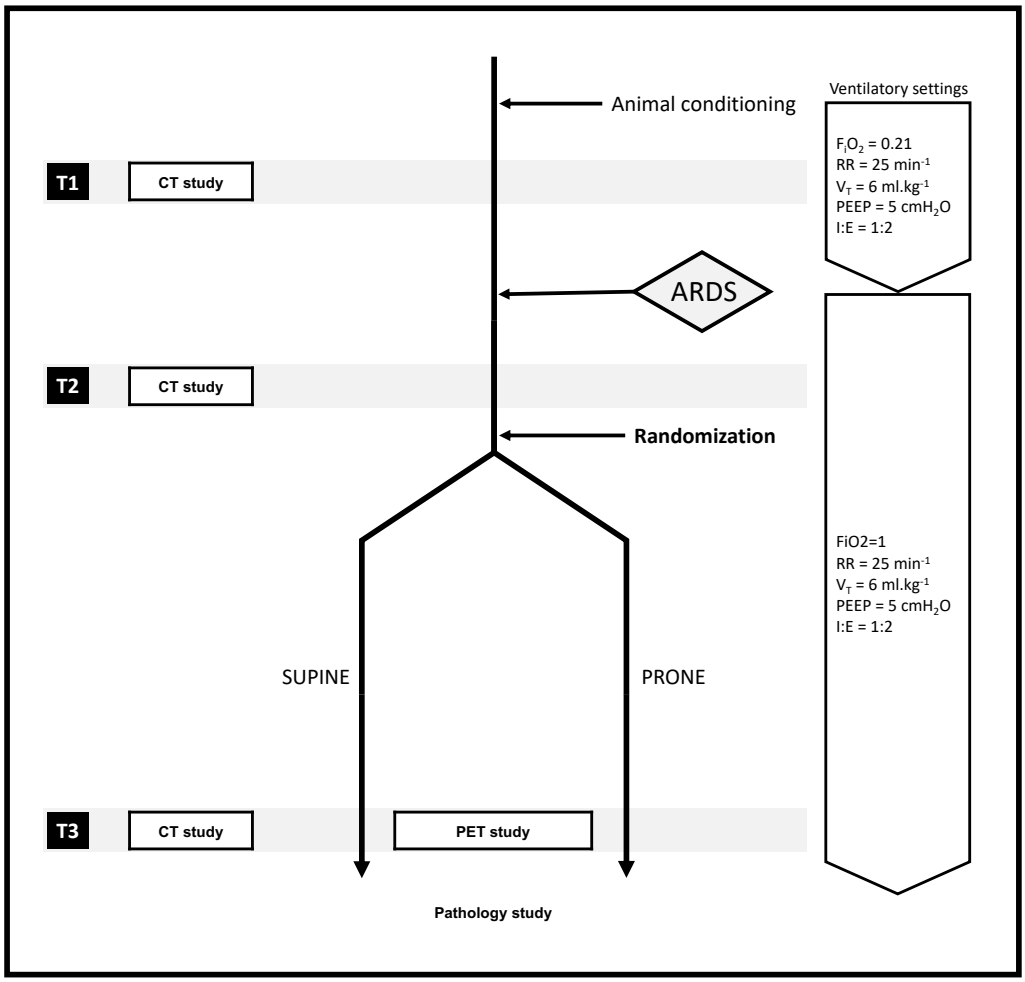


Figure 1. Study protocol

The figure shows the protocol process, with the 2 main study steps (T1, T2 and T3) according to the corresponding CT acquisitions. CT study designates the 3 CT acquisitions that were performed at end-expiration, end-inspiration and FRC in all animals. PET study designates the [^{11}C](R)-PK11195 60-min PET acquisition that was performed 4 hours after randomization. ARDS designates the time point at which ARDS induction was performed (between T1 and T2). Apart from body position, all animals received the exact same interventions, including ventilatory settings (described on the right hand side of the figure). After T3, animals were euthanized and samples from the

right lung were send in pathology. ARDS: acute respiratory distress syndrome; CT: computerized tomography; FiO_2: inspired fraction in O_2; I:E: ratio of inspiratory time over expiratory time; PEEP: positive end-expiratory pressure; PET: positron emission tomography; RR: respiratory rate; VT: tidal volume

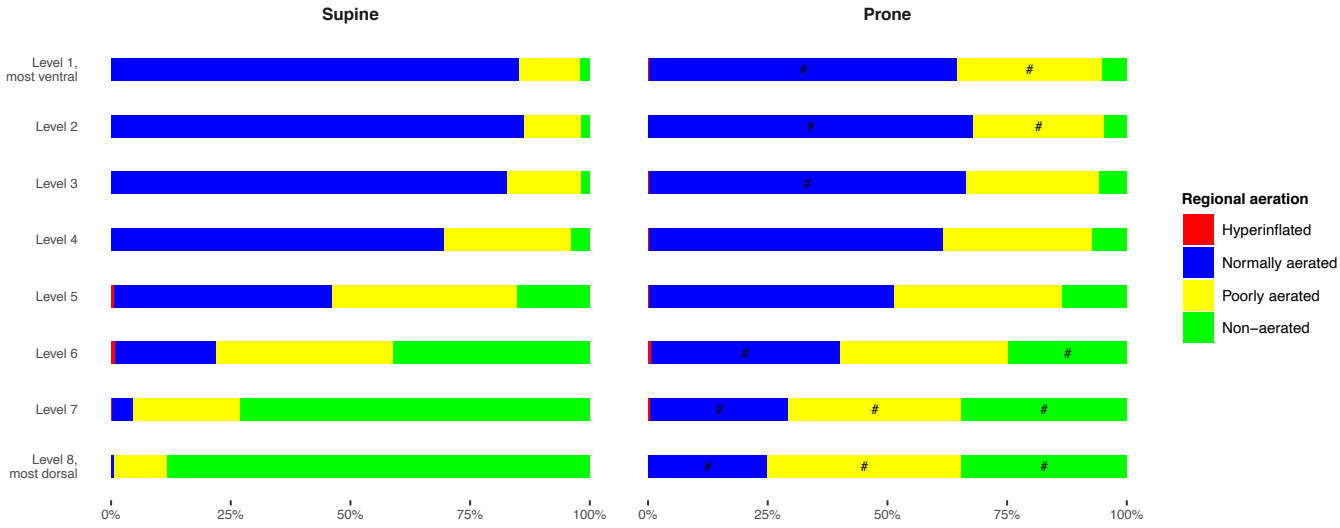


Figure 2. Aeration compartment distribution in lung levels based on study group at T3

The figure shows the mean fraction of each of the 4 aeration compartments (non-, poorly, normally aerated, and hyperinflated) in each of the 8 lung levels, in animals in the prone and the supine groups. There was a significant association between the distribution of the non-aerated, poorly aerated and normally aerated fractions and the interaction Group x Level. The # corresponds to a $p<0.05$ in the post-hoc pairwise analysis evaluating the difference in fraction level for a given aeration compartment in the same lung level, between study groups.

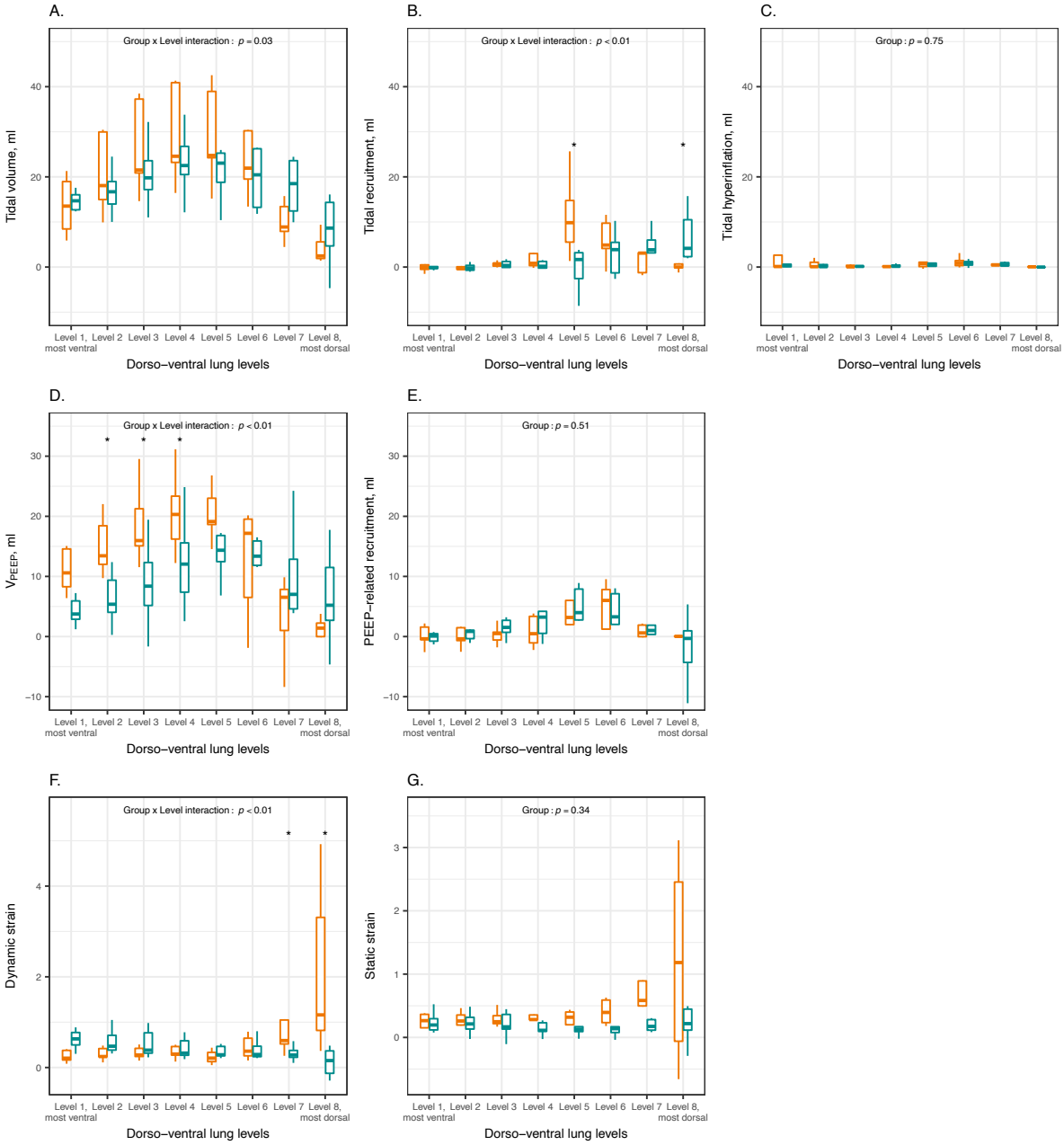


Figure 3. Regional CT-derived parameters in both study groups at T3

The figure shows the values of tidal volume (A), tidal recruitment (B), tidal hyperinflation (C), V_{PEEP} (D), PEEP-induced recruitment (E), dynamic (F) and static strain (G) in each of the 8 lung levels, in animals in the supine position (orange boxplots) and those in the prone position (green boxplots). The data is presented with boxplots. The y axis range of panels A, B, and C on the one side, and panels D and E on the other, were made

identical to improve readability. The *p* value examines the association of the studied parameter with interaction of Study Group x Lung Level. In case of a non-significant interaction term, then the *p* value of the independent effect of Group is presented. In case of a significant interaction of Study Group x Lung Level, we performed a post-hoc multiple comparison between study groups at each lung level (*: $p<0.05$). Despite a significant interaction in panel A, no significant difference in the pairwise post-hoc analysis. PEEP: positive end-expiratory pressure; V_{PEEP}: PEEP-related increase in gas volume.

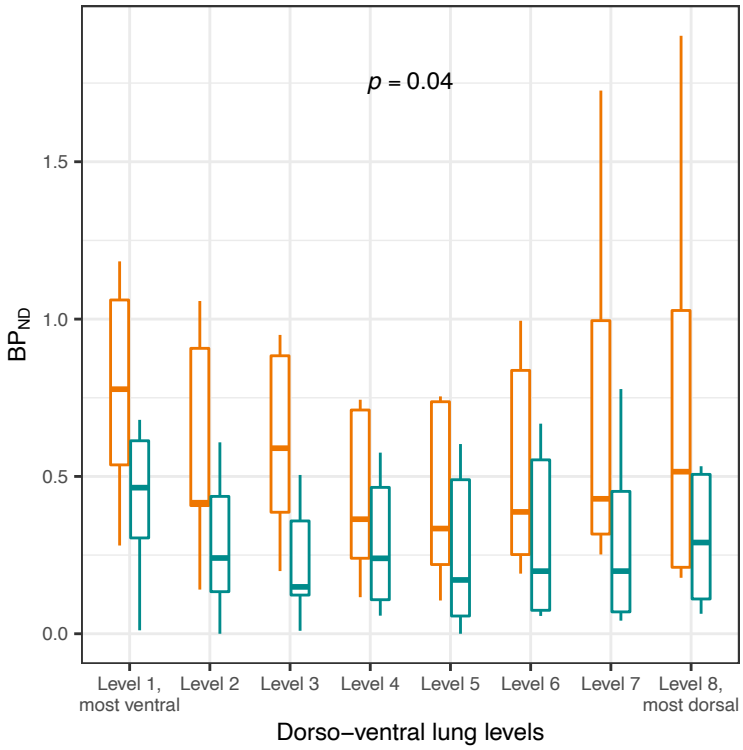


Figure 4. [11C](R)-PK11195 BPND in each lung level in the 2 study groups at T3

The figure shows the BP_{ND} of [^{11}C](R)-PK11195 in each of the 8 lung levels, in animals in the supine position (orange boxplots) and those in the prone position (green boxplots). The data is presented with boxplots. The *p* value examines the association of study group with lung level BP_{ND}. No significant interaction with lung level was found. BP_{ND}: non-displaceable binding potential.

4. TRAVAIL N°4

Journal of Critical Care 60 (2020) 169–176

Contents lists available at ScienceDirect

Journal of Critical Care

journal homepage: www.journals.elsevier.com/journal-of-critical-care

Quantitative-analysis of computed tomography in COVID-19 and non COVID-19 ARDS patients: A case-control study

Louis Chauvelot [a], Laurent Bitker [a,c], François Dhelft [a,c], Mehdi Mezidi [a,b], Maciej Orkisz [c], Eduardo Davila Serrano [c], Ludmilla Penarrubia [c], Hodane Yonis [a], Paul Chabert [a], Laure Folliet [a], Guillaume David [a], Judith Provoost [a], Pierre Lecam [a], Loic Boussel [c,d], Jean-Christophe Richard [a,c,*]

[a] Service de Médecine Intensive Réanimation, Hôpital De La Croix Rousse, Hospices Civils de Lyon, 93 grande rue de la Croix-Rousse, 69004 Lyon, France
[b] Université de Lyon, Université Claude Bernard Lyon 1, 43 boulevard du 11 Novembre 1918, 69622 Villeurbanne, Cedex, France
[c] Université de Lyon, Université Claude Bernard Lyon 1, INSA-Lyon, UJM-Saint Etienne, CNRS, Inserm, CREATIS UMR 5220, U1206, F-69621, 7 Avenue Jean Capelle, 69621 Villeurbanne, France
[d] Service de Radiologie, Hôpital De La Croix Rousse, Hospices Civils de Lyon, 93 grande rue de la Croix-Rousse, 69004 Lyon, France

a. Rationnel

L'infection par le COVID-19 est responsable d'un tableau d'insuffisance respiratoire aiguë hypoxémiante chez 20% des patients infectés et hospitalisés, justifiant leur transfert en réanimation. La très grande majorité des patients atteints d'une forme respiratoire sévère de COVID-19 et placé sous ventilation mécanique présente les caractéristiques syndromiques du SDRA, et sont exposés à un risque élevé de décès.

Gattinoni et al. ont alors soumis l'hypothèse que le SDRA associé au COVID-19 présentait certaines caractéristiques spécifiques. En effet, à niveau d'hypoxémie égale, les patients atteints de SDRA secondaire au COVID-19 avait une élastance pulmonaire remarquablement plus basse que ceux atteints de SDRA d'autres causes. De plus, il semblerait que la fraction de shunt observée dans le SDRA à COVID-19 soit significativement plus élevée que chez les patients avec SDRA d'autres causes. Les auteurs ont alors proposé de classifier les SDRA du COVID-19 comme étant à élastances basse ou élevée (L pour *low*, ou H pour *high*), du fait des implications que cela pourrait avoir dans la gestion des réglages de la ventilation mécanique. En effet, dans le cadre d'un profil L par exemple, l'usage d'une PEP élevée à visée de recrutement alvéolaire pourrait être plus délétère que bénéfique, en engendrant une surdistension des zones normalement aérées et une dégradation hémodynamique notoirement significative, sans obtenir d'amélioration de l'hématose.

Le scanner thoracique quantitatif offre la possibilité d'évaluer *in vivo* et de façon répétée l'impact de la ventilation mécanique sur les données d'aération pulmonaire régionale et de quantifier avec un haut niveau de granularité les phénomènes de recrutement intracycle, de recrutement lié à la PEP, ou encore l'hyperinflation intracycle.

b. Hypothèse et objectif

L'hypothèse de ce travail était que certains patients atteints de SDRA lié au COVID-19 (COVID+) présentent des caractéristiques spécifiques de mécanique respiratoire quantifiable au scanner pulmonaire quantitatif, différente de celles observées dans le SDRA non lié au COVID-19 (COVID–). Notre objectif était de mesurer à l'aide du scanner pulmonaire la masse pulmonaire, les volumes aérées, l'hyperinflation intracycle et les recrutement alvéolaire intracycle et lié à la PEP chez des patients COVID+ avec SDRA, et les comparer à ceux mesurés chez des patients avec SDRA COVID–.

c. Matériels et méthodes

Cette étude est un ancillaire d'une étude clinique monocentrique visant à valider un logiciel de segmentation semi-automatique du poumon dans le cadre du SDRA. Nous avons prospectivement inclus tous les patients majeurs atteints de SDRA selon la définition de Berlin et présentant un ratio P_aO_2/F_iO_2 < 200 mm Hg, porteur d'un ballonnet de pression œsophagienne, et ayant une indication de scanner thoracique posée par le clinicien en charge. Etaient exclus (en sus des critères d'exclusion protégeant les sujets à risque de la recherche) les patients atteints de maladies respiratoires chroniques sévère, ceux dont le SDRA évoluait depuis plus de 72h, la présence d'un pneumothorax, les patients sous ECMO, ceux jugés non déplaçable jusqu'au centre d'imagerie, et la nécessité de réaliser une injection de produit de contraste.

Chaque patient était ventilé selon des réglages protocolisés : volume courant de 6 $ml.kg^{-1}$ de poids prédit par la taille et PEP réglée selon une table de concordance PEP-F_iO_2. Le patient était transporté au scanner avec son respirateur lourd de réanimation, ceci afin de limiter les déconnections et le risque de dérecrutement. Dans l'heure qui précédait la réalisation du scanner, nous avons mesuré les pressions plateau et la PEP totale, ainsi que les pressions œsophagiennes de fin d'inspiration et d'expiration. A partir de ces valeurs, nous avons calculé les pressions motrices transpulmonaires des voies aériennes et du poumon, ainsi

que les élastances du système respiratoire, de la paroi thoracique et du poumon. A partir des valeurs des élastances, nous avons calculé la pression transpulmonaire de fin d'inspiration dérivée du ratio des élastances. Les patients COVID+ et dont l'élastance du système respiratoire étaient > 20 cm $H_2O.L^{-1}$ étaient classifiés comme de type H, et ceux dont la valeur était ≤ 20 cm $H_2O.L^{-1}$ comme de type L.

Les scanners thoraciques était centré sur la région pulmonaire et s'étendait de l'apex pulmonaire à son extrémité la plus caudale. Pour chaque patient, deux scanners étaient acquis en décubitus dorsal en réalisant une pause expiratoire et une pause inspiratoire, respectivement, en clampant de façon transitoire la sonde d'intubation, et en s'assurant que le patient ne faisait pas d'effort respiratoire. Les régions pulmonaires étaient ensuite manuellement segmentées ; la masse et le volume aéré des poumons étaient alors estimés à l'aide de l'atténuation X mesurée au scanner, en faisant l'hypothèse d'une densité du tissu de 1 $g.ml^{-1}$. Le niveau d'aération des poumons était aussi classifié en quatre catégories : non aéré (UH entre -100 et +100), pauvrement aéré (UH entre -500 et -101), normalement aéré (UH entre -900 et -501) et hyperinflaté (UH entre -1000 et -901). De même, nous avons quantifié au scanner le volume courant, l'hyperinflation intracycle, et le recrutement alvéolaire intracycle, en normalisant ces deux derniers paramètres au volume courant.

d. Résultats

Treize patients avec SDRA COVID+ et dix patients avec SDRA COVID– ont été inclus. Les paramètres ventilatoires étaient comparables entre les deux groupes, bien que les patients COVID+ présentaient une élastance pulmonaire significativement plus élevée que les patients COVID– (22±8 versus 14±6 cm $H_2O.L^{-1}$, p<0.05).

Les patients COVID– avait un poids pulmonaire moyen plus élevé, et une fraction de recrutement intracycle significativement plus élevée que ceux COVID+. La fraction d'hyperinflation intracycle rapportée au volume courant était supérieur à 20% chez 6 des 13 patients COVID+ et 3 des 10 patients COVID–. De même la fraction de tissu normalement aéré était significativement plus basse chez les patients COVID–, comparativement aux patients COVID+ (27±12% versus 35±14%, p<0.05).

Cinq des 13 patients COVID+ ont été classés en SDRA de type H, et 8 en type L. Comme attendu, les pression plateau et motrices étaient significativement plus basses dans le type L

que dans le type H, tandis que le compartiment normalement aéré était significativement plus élevé. De plus, la distribution des atténuations scannographiques étaient significativement différentes chez les patients COVID+ de type H, comparativement aux patients COVID+ type L et ceux COVID– : ils existaient chez ces patients un net glissement des atténuations scannographiques vers les valeurs les plus basses, et une diminution significative du nombre de voxels aux UH les plus élevées.

e. Conclusions du travail n°4

Notre étude démontre que le scanner pulmonaire quantitatif permet d'identifier des différences significatives dans les caractéristiques de l'atteinte scannographique de différents types de SDRA. En effet, le SDRA lié à l'infection au COVID-19 est responsable d'une moindre augmentation du poids pulmonaire, d'une proportion plus faible de poumon non aéré et d'hyperinflation intracycle, comparé au SDRA non lié au COVID-19. A contrario, les patients COVID-19 étaient plus fréquemment exposé au risque de d'hyperinflation intracycle. De plus, un sous-groupe de patients, identifié par une élastance du système respiratoire « anormalement » basse, présentait un sous-phénotype spécifique au scanner associant une plus large proportion de parenchyme normalement aéré et une plus faible proportion de poumon non aéré et un faible recrutement intracycle. Ces résultats pourraient avoir des conséquences importantes en termes de réglages du respirateur, ce dernier groupe de patients étant très probablement peu répondeur à une augmentation de la PEP, au risque d'augmenter la fraction hyperinflaté sans obtenir de recrutement alvéolaire de la fraction non aéré.

Le *online supplement* de ce travail se trouve à la fin du manuscrit de la thèse.

Journal of Critical Care 60 (2020) 169–176

Contents lists available at ScienceDirect

Journal of Critical Care

journal homepage: www.journals.elsevier.com/journal-of-critical-care

Quantitative-analysis of computed tomography in COVID-19 and non COVID-19 ARDS patients: A case-control study

Louis Chauvelot [a], Laurent Bitker [a,c], François Dhelft [a,c], Mehdi Mezidi [a,b], Maciej Orkisz [c], Eduardo Davila Serrano [c], Ludmilla Penarrubia [c], Hodane Yonis [a], Paul Chabert [a], Laure Folliet [a], Guillaume David [a], Judith Provoost [a], Pierre Lecam [a], Loic Boussel [c,d], Jean-Christophe Richard [a,c,*]

[a] Service de Médecine Intensive Réanimation, Hôpital De La Croix Rousse, Hospices Civils de Lyon, 93 grande rue de la Croix-Rousse, 69004 Lyon, France
[b] Université de Lyon, Université Claude Bernard Lyon 1, 43 boulevard du 11 Novembre 1918, 69622 Villeurbanne, Cedex, France
[c] Université de Lyon, Université Claude Bernard Lyon 1, INSA-Lyon, UJM-Saint Etienne, CNRS, Inserm, CREATIS UMR 5220, U1206, F-69621, 7 Avenue Jean Capelle, 69621 Villeurbanne, France
[d] Service de Radiologie, Hôpital De La Croix Rousse, Hospices Civils de Lyon, 93 grande rue de la Croix-Rousse, 69004 Lyon, France

ARTICLE INFO

Available online xxxx

Keywords:
Acute respiratory distress syndrome
Computed tomography
Transpulmonary pressure
Tidal hyperinflation
Driving pressure
COVID-19

ABSTRACT

Purpose: The aim of this study was to assess whether the computed tomography (CT) features of COVID-19 (COVID+) ARDS differ from those of non-COVID-19 (COVID−) ARDS patients.
Materials and methods: The study is a single-center prospective observational study performed on adults with ARDS onset ≤72 h and a $PaO_2/FiO_2 \leq 200$ mmHg. CT scans were acquired at PEEP set using a PEEP-FiO_2 table with VT adjusted to 6 ml/kg predicted body weight.
Results: 22 patients were included, of whom 13 presented with COVID-19 ARDS. Lung weight was significantly higher in COVID− patients, but all COVID+ patients presented supranormal lung weight values. Noninflated lung tissue was significantly higher in COVID− patients (36 ± 14% vs. 26 ± 15% of total lung weight at end-expiration, $p < 0.01$). Tidal recruitment was significantly higher in COVID− patients (20 ± 12 vs. 9 ± 11% of VT, $p < 0.05$). Lung density histograms of 5 COVID+ patients with high elastance (type H) were similar to those of COVID− patients, while those of the 8 COVID+ patients with normal elastance (type L) displayed higher aerated lung fraction.

© 2020 Elsevier Inc. All rights reserved.

1. Introduction

COVID-19 has emerged as a major public health problem, with a death toll amounting to several hundred thousand worldwide during the first months since epidemic onset. 14 to 26% of hospitalized patients for COVID-19 require intensive admission in intensive care units (ICU) [1,2], and preliminary reports suggest that ICU mortality is high in patients under invasive mechanical ventilation [1-3]. Duration of invasive mechanical ventilation in ICU survivors exceed 10 days [4], and virtually all patients under invasive mechanical ventilation fulfill acute respiratory syndrome (ARDS) criteria [5]. However, based on remarkably preserved lung elastance and evidence of high shunt fraction in 16 patients, it was hypothesized that COVID-19 does not lead to a "typical" ARDS [6]. The same author reported that 70–80% of the patients in his center presented with normal lung elastance (type L) (suggesting that the amount of gas in the lung is nearly normal in this group of patients [7]), and 20–30% presented with high elastance (type H) [8]. The consequence of this is crucial for mechanical ventilation management, as this would preclude the use of high positive end-expiratory pressure (PEEP) levels in the majority of COVID-19 ARDS patients.

Computed tomography (CT) is an appealing tool to explore COVID-19 ARDS, as it provides information on spatial heterogeneity of ARDS lesions and allows regional analyses of tidal recruitment and hyperinflation, both being related to impaired ARDS outcome [9,10].

The aim of this study was 1- to assess with CT whether lung weight and aeration of COVID-19 (COVID+) ARDS differ from those of non-COVID-19 (COVID−) ARDS; 2- to compare the amount of tidal hyperinflation and recruitment in both groups of patients.

2. Material and methods

2.1. Study design and setting

The study is an ancillary study of an ongoing single-center prospective observational study performed in an ICU of a university hospital, aiming to validate a semi-automatic software for lung segmentation with CT. The trial was registered at ClinicalTrials.gov (NCT03870009) and the protocol approved by an ethics committee (CPP-Ouest3-

* Corresponding author at: Service de Réanimation Médicale, 103 Grande Rue de la Croix Rousse, 69004 Lyon, France.
E-mail address: j-christophe.richard@chu-lyon.fr (J.-C. Richard).

https://doi.org/10.1016/j.jcrc.2020.08.006
0883-9441/© 2020 Elsevier Inc. All rights reserved.

IRB2019-A00024-53). Patients were enrolled between May 2019 and May 2020.

2.2. Patients

Eligible participants were aged 18 years or older, under invasive mechanical ventilation, with ARDS [11] and a $PaO_2/FiO_2 \leq 200$ mmHg, already implanted with an esophageal catheter, and had an indication for CT.

Exclusion criteria were ARDS onset >72 h, requirement for contrast agent injection during CT, chronic obstructive pulmonary disease, pneumothorax, contra-indication to the transport to the imaging facility ($PaO_2/FIO_2 < 60$ Torr, mean arterial pressure <65 mmHg, or intracranial hypertension), patient under any extracorporeal oxygenation technique, previous inclusion in present study, advanced directives to withhold or withdraw life-sustaining treatment, pregnancy, exclusion period related to inclusion in another clinical trial, patient under a legal protective measure, lack of affiliation to social security, lack of informed consent by patient's relative.

2.3. Protocol description

Optimal inflated volume identification and placement of the esophageal balloon (C7680U-Marquat, Boissy-St-Leger, France) was performed as recommended [12]. Patients were ventilated with tidal volume (VT) 6 ml/kg of predicted body weight, and PEEP set using a PEEP-FiO_2 table [13]. Respiratory measurements and arterial blood gas were performed 1 h after adjustment of ventilatory settings. Patients were transferred to the imaging facility using their ICU ventilator to avoid patient-ventilator disconnection. However, 7 patients were transferred using a transport ventilator (ELYSEE 150 -Air Liquide Medical Systems, Antony, France) because of excessive workload during COVID-19 epidemic. They were switched back to their ICU ventilator before CT acquisition. The endotracheal tube was transiently occluded with a Kocher clamp during each ventilator change to avoid derecruitment. Ventilator settings were kept unchanged during transport and imaging.

2.4. Data collection

The following variables were recorded at inclusion: demographic and anthropometric data, time of ARDS identification, ARDS severity and risk factors, SAPS2 [14] and SOFA [15] scores, ventilatory settings, and arterial blood gas.

2.5. Measurements

Total PEEP of the respiratory system ($PEEP_{tot,rs}$), plateau pressure of the respiratory system ($P_{Plat,rs}$), end-expiratory and end-inspiratory esophageal pressures were measured at the end of 3-s end-expiratory and end-inspiratory pauses. Transpulmonary total PEEP ($PEEP_{tot,L}$) and transpulmonary plateau pressure ($P_{plat,L}$) were computed as airway pressures minus esophageal pressures. Airway driving pressure (ΔP_{rs}) and transpulmonary driving pressure (ΔP_L) were computed as $P_{Plat,rs}$ minus $PEEP_{tot,rs}$, and $P_{Plat,L}$ minus $PEEP_{tot,L}$, respectively. Respiratory system (E_{rs}) and lung (E_L) elastances were computed as ΔP_{rs} and ΔP_L divided by VT, respectively. Elastance-derived end-inspiratory transpulmonary pressure (TPP_{EI}) was calculated as $P_{plat,rs} \times E_L/E_{rs}$. COVID+ patients with $E_{rs} > 20$ cm $H_2O.L^{-1}$ were classified as type H patients, and those with $E_{rs} \leq 20$ cm $H_2O.L^{-1}$ as type L, as recently proposed [16].

Theoretical lung weight was computed as follows [17]: lung weight (g) = −1806.1 + 1633.7 × subject's height (m).

2.6. CT measurements

CT acquisitions were performed in the supine position with an iCT 256 or Ingenuity CT (Philips Healthcare, Eindhoven, The Netherlands) using the following settings: voltage 140 kVP, slice thickness 1 mm, matrix size 512 × 512. Field of view, pixel size and mAs were adapted for each patient.

Lung scanning was performed from apex to base during both end-expiratory and end-inspiratory pauses, and lack of respiratory efforts during the pause was visually checked on the ventilator pressure-time curves. Image reconstruction was performed using a smooth filter (kernel B). The lungs were manually segmented by some of the authors (FD, LC, JCR) with a CreaTools-based software [18], excluding pleural effusions, hilar and mediastinal structures. Segmented lung volumes were analyzed using MATLAB (MathWorks, Natick, MA).

Tissue and gas fraction were computed as follows [7]:

- Tissue fraction = 1 − CT number/−1000
- Gas fraction = CT number/−1000

Tissue and gas volume were computed as the product of tissue and gas fractions with voxel volume, respectively.

2.7. CT analyses on the whole lung

Lung parenchyma was then classified into four compartments, according to CT number: noninflated (density between +100 and −100 Hounsfield units (HU)), poorly inflated (density between −101 and −500 HU), normally inflated (density between −501 and −900 HU), and overinflated tissue (density between −901 and −1,000 HU). The volume of each compartment was measured at end-expiration and end-inspiration. Total lung weight and weight of each compartment was estimated using lung tissue volume, assuming a tissue density of 1 $g.ml^{-1}$ [19].

Tidal hyperinflation was defined as the volume of the overinflated compartment at end-inspiration minus the volume of the overinflated compartment at end-expiration [9]. Tidal recruitment of the noninflated compartment and of the poorly inflated compartment were defined as the volume of the noninflated and poorly inflated compartments at end-expiration minus their volumes at end-inspiration [9], respectively. They were expressed as a percentage of the tidal inflation–related change in CT lung aeration.

2.8. Regional CT analyses

Both lungs were divided into 10 sections along the apico-caudal dimension. Each section was divided into 10 ventro-dorsal levels of equal height [20]. Level 1 refers to the most ventral region, while level 10 refers to the most dorsal. The height of each level was measured as the distance from the most ventral to the most dorsal surface of the level in examination. The hydrostatic pressure of each level [20] was then computed as:

Hydrostatic pressure = (1-CT number)/−1000 × h, with h being the height of the level.

The superimposed pressure on a given level was defined in each lung as the sum of the pressure of the level plus the pressures of the levels above. The total superimposed pressure was defined as the superimposed pressure in the most dorsal level, i.e., level 10.

2.9. Statistical analysis

Statistical analysis was performed using R with packages PropCIs [21], emmeans [22], Lme4 [23], lmerTest [24], boot [25,26] and gamm4 [27]. A *p*-value below 0.05 was chosen for statistical significance.

Data were expressed as mean ± standard deviation. 95% confidence intervals ($CI_{95\%}$) of quantitative variables were computed with the bias corrected and accelerated-bootstrap method with 10,000 replicates [28]. $CI_{95\%}$ of proportions were computed with the Wilson score method. Data were compared between groups with the Fisher's exact test for categorical variables and *t*-test, Mann-Whitney *U* test or

ANOVA for continuous variables. Comparison between the mean of a quantitative variable and a theoretical mean was performed using one-sample t-test. Correlations between variables were assessed with the Pearson method. The weight of each compartment was compared between groups by a linear mixed model using COVID status, respiratory phase (inspiration and expiration) and compartment as fixed effects, and patient as random intercept. Interactions were analyzed by testing contrasts on estimated marginal means. Lung voxels were classified in 11 intervals of equal size between −1000 and + 100 HU as a function of their CT-density. Voxel number in each compartment was expressed as a percentage of lung volume and fitted using a generalized additive mixed model using COVID-19 status, HU interval and their interaction as fixed effects, HU interval as random slope and patient as random intercept. Regional analyses of CT parameters were performed with linear mixed models using COVID-19 status and lung level with their interaction as fixed effects and patient as random effect. Estimation of sample size was not computed as the study is exploratory, and data collection stopped with the control of COVID-19 epidemic in our area.

3. Results

3.1. Characteristics at inclusion

23 patients were included, of whom 13 presented with COVID + ARDS. Reasons for non-inclusion are listed in Supplementary material 1. Patients characteristics at inclusion are reported in Table 1.

3.2. Physiological variables

Respiratory mechanics and arterial blood gas are reported Table 2. PEEP, VT, and respiratory rate were not significantly different between COVID+ and COVID− patients. Five (38%) of the COVID+ patients presented with abnormally elevated elastance of the respiratory system, as compared to 8 (80%) of the COVID− patients ($p = 0.09$). E_L was significantly lower in COVID+ patients 14 ± 6 vs. 22 ± 8 cm $H_2O.L^{-1}$, $p < 0.05$). Consequently, end-inspiratory TPP_{EI} was significantly lower in COVID+ patients (13 ± 4 vs. 17 ± 3 cm H_2O, $p < 0.05$).

3.3. Global analysis of CT-derived variables

CT scan was performed 48 ± 25 min after respiratory mechanics assessment. Lung weight normalized to theoretical lung weight was significantly higher in COVID− ARDS patients (195 ± 46% [$CI_{95\%}$: 172–226%] vs. 163 ± 26% [$CI_{95\%}$: 149–176%], $p < 0.05$, Fig. 1). All COVID+ patients presented supranormal lung weight values ($p < 0.05$ for the comparison with theoretical normal lung weight). Tidal recruitment of the noninflated compartment was significantly higher in COVID− ARDS (20 ± 12 vs. 9 ± 11% of VT, $p < 0.05$). Tidal hyperinflation was greater than 20% of the VT in 6 (46%) COVID+ and 3 (30%) COVID− patients.

Noninflated tissue was significantly higher in COVID− patients (36 ± 14% vs. 26 ± 15% of total lung weight), while normally inflated tissue was significantly lower (27 ± 12% vs. 35 ± 14% of total lung weight), as compared to COVID+ patients (Fig. 2).

Correlation matrix of respiratory mechanics, blood gas and CT variables is presented in Supplementary material 2. The only significant association between respiratory mechanics and CT-derived variables was a positive correlation between PEEP and tidal hyperinflation.

3.4. Regional analyses of CT-derived variables

Regional superimposed pressure increased significantly more from level 1 to level 10 in COVID− ARDS patients ($p < 0.05$ for interaction, Supplementary material 3). However, the total superimposed pressure was not significantly different in COVID− and COVID+ patients (9 ± 2 vs. 8 ± 1 cm H_2O, $p = 0.27$).

Table 1
Characteristics on the day of inclusion.

Variables	Whole dataset	COVID− ($n = 10$)	COVID+ ($n = 13$)
Sex male	20 (87%)	8 (80%)	12 (92%)
Age (yr)	62 ± 15	60 ± 15	64 ± 15
Height (cm)	170 ± 11	170 ± 14	170 ± 9
BMI ($kg.m^{-2}$)	30 ± 6	30 ± 8	29 ± 5
Delay between ICU admission and inclusion (day)	2 ± 2	2 ± 2	2 ± 2
Delay between inclusion and ARDS onset (day)	1 ± 1	1 ± 1	1 ± 1
SAPS 2 at ICU admission	42 ± 15	49 ± 18	38 ± 12
SOFA score at inclusion	12 ± 3	13 ± 3	11 ± 2[a]
ARDS risk factor			
• pneumonia	20 (87%)	7 (70%)	13 (100%)
• aspiration	3 (13%)	3 (30%)	0 (0%)
ARDS severity			
• moderate	12 (52%)	3 (30%)	9 (69%)
• severe	11 (48%)	7 (70%)	4 (31%)
Prone position	15 (65%)	7 (70%)	8 (62%)
NMBA	23 (100%)	10 (100%)	13 (100%)
RRT	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)
Inotropes administration	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)
Vasopressor administration	19 (83%)	8 (80%)	11 (85%)

Values are mean ± standard deviation or count (percentage).
ARDS = acute respiratory distress syndrome; BMI = body mass index; COVID− = non-COVID-19 ARDS patients; COVID+ = COVID-19 ARDS patients; ICU = intensive care unit; NMBA = neuromuscular blocking agents; RRT = renal replacement therapy; SAPS2 = simplified acute physiology score.
[a] $p < 0.05$ between groups.

Table 2
Respiratory mechanics and arterial blood gas.

Variables	COVID− ($n = 10$)	COVID+ ($n = 13$)
PEEP (cm H_2O)	9 ± 3	11 ± 2
VT ($ml.kg^{-1}$ PBW)	6.0 ± 0.2	6.0 ± 0.0
RR (min^{-1})	25 ± 5	23 ± 3
Ti/Ttotal (%)	33 ± 1	32 ± 2
$PEEP_{tot,rs}$ (cm H_2O)	11 ± 3	12 ± 2
$P_{plat,rs}$ (cm H_2O)	21 ± 2	20 ± 3
ΔP_{rs} (cm H_2O)	10 ± 3	8 ± 2[a]
ΔP_L (cm H_2O)	8 ± 2	5 ± 2[a]
E_{rs} (cm $H_2O.\ L^{-1}$)	28 ± 13	21 ± 7
$E_{rs} > 20$ cm $H_2O.\ L^{-1}$	8 (80%)	5 (38%)
E_L (cm $H_2O.L^{-1}$)	22 ± 8	14 ± 6[a]
E_{cw} (cm $H_2O.L^{-1}$)	6 ± 5	7 ± 3
E_L/E_{rs} (%)	81 ± 11	65 ± 14[a]
End-inspiratory TPP_{EI}	17 ± 3	13 ± 4[a]
pH	7.34 ± 0.09	7.36 ± 0.10
PaO_2/FiO_2 (Torr)	122 ± 41	130 ± 28
$PaCO_2$ (Torr)	48 ± 8	46 ± 8
Bicarbonates ($mmol.L^{-1}$)	25 ± 6	26 ± 4
Lactate ($mmol.L^{-1}$)	4.8 ± 4.4	1.8 ± 0.5[a]

Values are mean ± standard deviation or count(percentage).
COVID− = non-COVID-19 ARDS patients; COVID+ = COVID-19 ARDS patients; ΔP_{rs} = driving pressure of the respiratory system; ΔP_L = transpulmonary driving pressure; E_{cw} = chest wall elastance; E_L = lung elastance; E_{rs} = elastance of the respiratory system; FiO_2 = inspired fraction of oxygen; PaO_2 = oxygen partial pressure in arterial blood; $PaCO_2$ = carbo dioxide partial pressure in arterial blood; PBW = predicted body weight; PEEP = positive end-expiratory pressure; $PEEP_{tot,rs}$ = total PEEP of the respiratory system; $P_{plat,rs}$ = plateau pressure of the respiratory system; RR = respiratory rate; Ti/Ttotal = ratio of inspiratory time over total time of the respiratory cycle; TPP_{EI} = elastance-derived transpulmonary pressure; VT = tidal volume.
[a] $p < 0.05$ between groups.

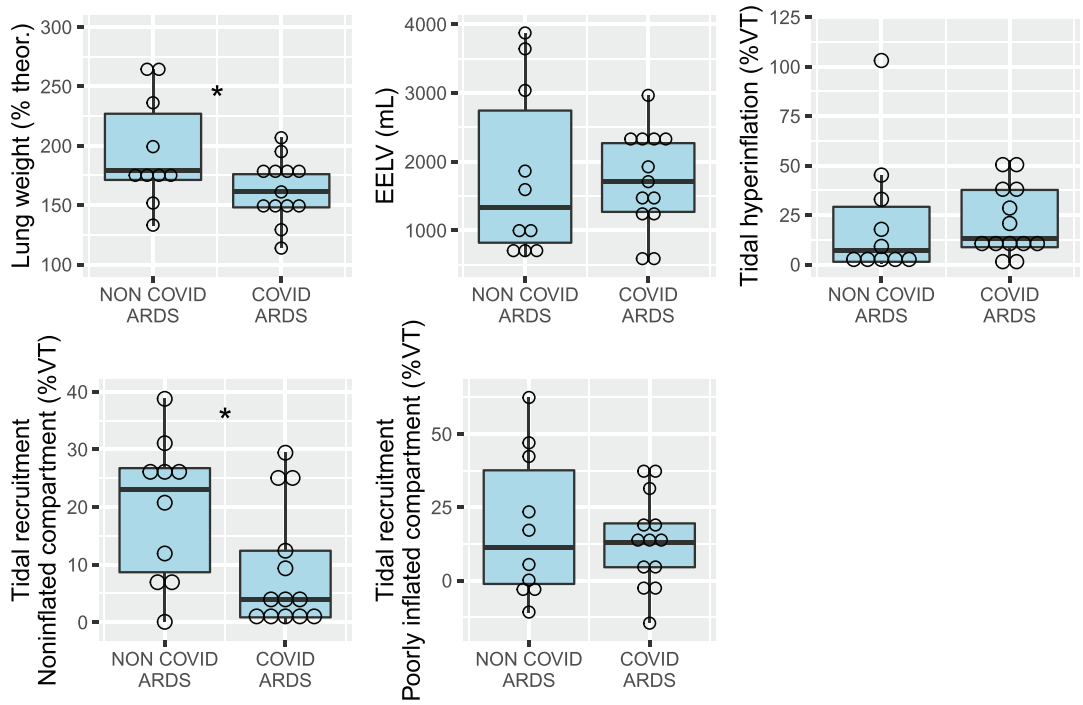


Fig. 1. CT measurements in non-COVID-19 and COVID-19 ARDS patients. ARDS = acute respiratory distress syndrome; CT = computed tomography; EELV = end-expiratory aerated lung volume; theor = theoretical lung weight; VT = CT-derived tidal volume. Open circles are individual datapoints. *$p < 0.05$ between groups.

3.5. Supplementary analyses based on COVID subtype

According to their E_{rs}, 5 COVID+ patients (38% [$CI_{95\%}$: 18%–54%] were classified as type H and 8 (62% [$CI_{95\%}$: 36%–82%] as type L. Respiratory, blood gas and CT variables as a function of COVID-19 subtypes are presented in Supplementary material 4. ARDS severity, $P_{plat,rs}$, ΔP_{rs}, ΔP_L, and noninflated compartment at end-expiration were lower in the L subtype, while normally inflated compartment at end-expiration was significantly higher.

Representative CT scans of 3 patients are presented Fig. 3. On lung density histograms, type H and COVID− patients presented with similar patterns (Fig. 4), while type L patients presented with higher percentage of lung volume within the normal inflation rage and lower in the non-inflation range, as shown by a clear separation of the 95% confidence interval of the fitted values per group.

4. Discussion

The main findings of the study are the following: 1- lung weight is significantly increased in all COVID+ ARDS patients as compared to normal values, although significantly lower than in COVID− ARDS; 2- tidal recruitment and non-inflated lung volume are significantly lower in COVID+ ARDS patients suggesting that lung potential for recruitment may be lower in this group; 3-a substantial proportion of COVID+ ARDS patients exhibit large amount of tidal hyperinflation, suggesting that PEEP level and/or tidal volume may be excessive, despite plateau pressure and driving pressure within acceptable range.

4.1. Respiratory mechanics and blood gas

The study identified near-normal respiratory system elastance in 62% of the COVID+ patients at the early phase of ARDS, in keeping with a previous report [8]. Therefore, lung elastance was significantly lower in COVID+ patients, suggesting that response to PEEP increase would mainly increase aeration of normally inflated lung regions. However, PEEP and PaO_2/FiO_2 ratio were similar in both group of patients, since a PEEP-FiO_2 table to standardize ventilation parameters. As the amount of noninflated lung was significantly higher in COVID− patients with similar oxygenation, it may be hypothesized that ventilation-perfusion mismatch may be greater in this group as a possible consequence of the endothelial tropism of SARS-CoV2 [29]. This relative discrepancy between arterial oxygenation and the amount of non-inflated lung was also identified previously [8].

4.2. CT data

Scarce data have been published to date on quantitative CT features in COVID+ ARDS patients. On 2 COVID+ ARDS patients, Gattinoni et al. identified one pattern with near normal lung weight, low non-inflated tissue volume, high venous admixture and normal respiratory system elastance, and one pattern with increased lung weight, high percentage of non-inflated tissue, high venous admixture and high elastance [16]. In the present study, we demonstrate a substantial increase in lung weight in all COVID+ patients as compared to theoretical value, suggesting that these patients exhibited either lung edema and/or an increase in lung blood volume, as it is unlikely that inflammatory cells

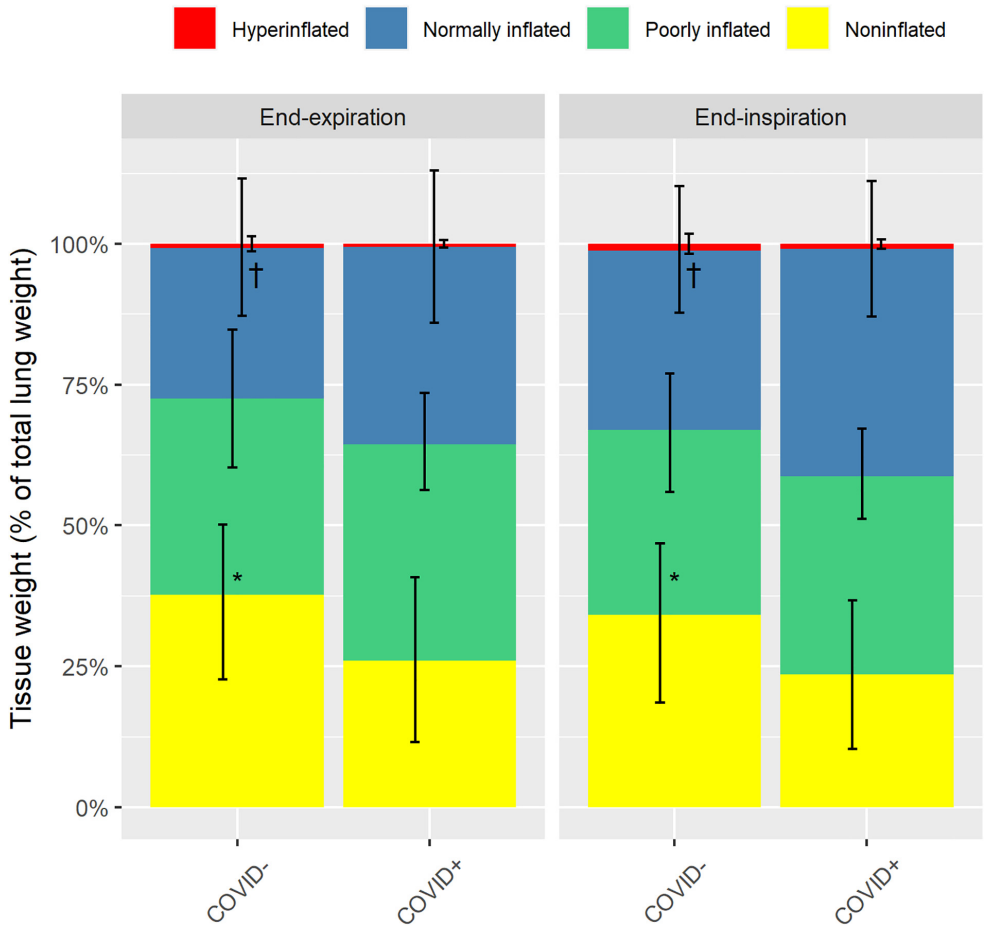


Fig. 2. Proportion of total lung tissue classified according to the level of inflation. Values are provided at both end-expiration and end-inspiration in COVID-19 ARDS patients (COVID+) and non-COVID-19 ARDS patients (COVID−). Yellow, green, blue and red bars refer to noninflated, poorly inflated, normally inflated, and overinflated lung tissue, respectively. Error bars are standard deviations. *$p < 0.01$ for noninflated tissue between COVID+ and COVID− patients. †$p < 0.05$ for normally inflated tissue between COVID+ and COVID− patients. (For interpretation of the references to colour in this figure legend, the reader is referred to the web version of this article.)

alone could achieve such an increase in lung weight. Furthermore, while the amount of noninflated lung (26% of total lung weight) was significantly lower in COVID+ patients as compared to COVID− patients in the present study, this amount was similar to ARDS with low recruitment potential in the study of Gattinoni et al. [30].

As tidal recruitment was significantly lower in COVID+ patients (i.e. increased pressure over PEEP level related to tidal inflation does not lead to substantial recruitment in these patients), it may be hypothesized that these patients present a low potential for recruitment. Indeed, Caironi et al. have shown that tidal recruitment is lower in patients with lower recruitment potential, while patients with high recruitment potential presented high fractions of lung volume with tidal recruitment [10]. The lower amount of non-inflated lung tissue in COVID+ patients is in accordance with this hypothesis. However, using tidal recruitment to infer on recruitment potential is only speculative, as we did not specifically measure recruitment potential in the present study. Furthermore, as superimposed pressure was substantially increased in COVID+ patients as compared to normal values (2.6 ± 0.5 cm H_2O [17]), this suggest that a minimal amount of PEEP is required to counteract gravitational forces and maintain arterial oxygenation within acceptable range.

We observed that tidal hyperinflation was greater than 20% in more than 30% of both COVID+ and COVID− ARDS patients, a rate similar to previously published data on COVID− ARDS patients [9]. While existence of a safety threshold regarding this parameter is currently unknown, it was previously shown that tidal hyperinflation is independently related to ARDS prognosis [9,10], and that a subgroup of ARDS patients with impaired prognosis presented with tidal hyperinflation greater than 20% of the VT [9]. It may be hypothesized that PEEP and/or VT may be excessive in this subgroup of patients, although plateau pressure, driving pressure and TPP_{EI} were kept within acceptable range.

Finally, we observed that a subtype of COVID+ ARDS patients with high elastance has similar CT features than COVID− ARDS, suggesting that their ventilatory management should be similar. To the opposite, the subtype of COVID+ with low elastance has low tidal recruitment, lower amount of non-inflated lung (i.e. derecruited lung potentially re-

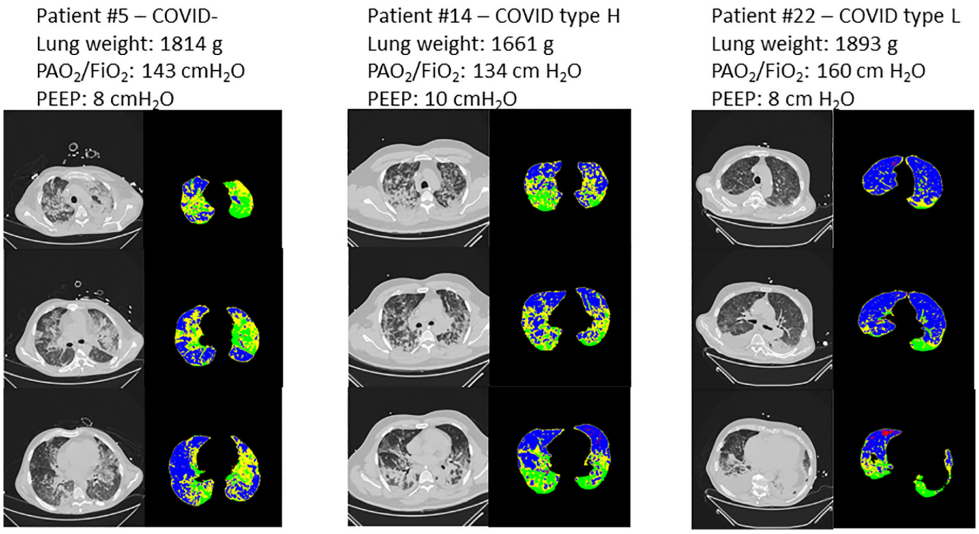


Fig. 3. Representative CT scans of 3 patients. Left panel: patient with non-COVID-19 ARDS; middle panel: type-H COVID-19 ARDS patient; right panel: type-L COVID-19 ARDS patient. For each patient, 3 CT slices are presented at the level of the aortic arch (top panel), the main bronchi division (middle panel) and immediately above the right diaphragmatic dome (bottom panel). At each level, a grey colour scale is presented as well as the corresponding parametric CT with red representing overinflated voxels, blue normally inflated voxels, yellow poorly aerated voxels, and green nonaerated voxels. Lung weight assessed on CT, PaO_2/FiO_2 ratio and PEEP level are provided for each patient on top of their corresponding CT images. (For interpretation of the references to colour in this figure legend, the reader is referred to the web version of this article.)

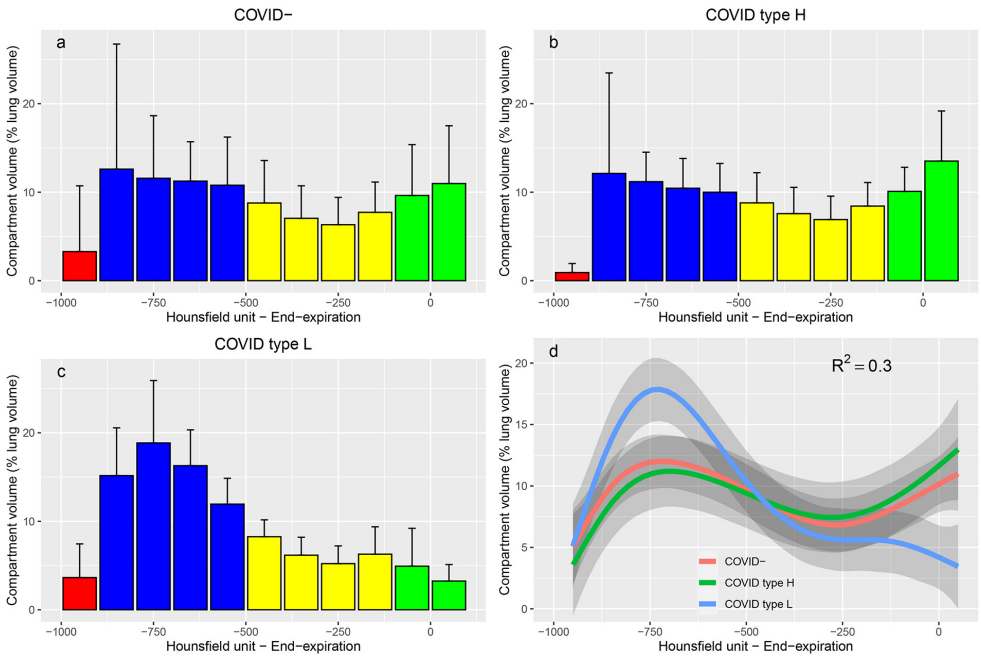


Fig. 4. Lung density histograms. Value are provided for COVID− ($n = 10$ patients, panel a), type H ($n = 5$ patients, panel b) and type L ($n = 8$ patients, panel c) ARDS patients. Histograms represents the volume of all the voxels belonging to each interval of 100 Hounsfield units width, normalized by total lung volume. Bars are mean values and error bars are standard deviations. Red bars represent intervals within the over inflation range, blue bars intervals within the normal inflation range, yellow intervals within the poor inflation range, and green intervals within the non-aeration range. Panel d represent the fitted values in each group, with R^2 of the general additive mixed model (red, green and blue lines refer to COVID −, Type H and type L groups, respectively). Grey shade areas represent 95% confidence interval of the fitted values. (For interpretation of the references to colour in this figure legend, the reader is referred to the web version of this article.)

aerated by PEEP increase), higher normally inflated lung compartment, and should respond to higher PEEP by an increase in normally and over-inflated lung, without significant recruitment of nonaerated lung.

4.3. Strengths and limits

Some limitations of the present study should be acknowledged. First, the small sample size limits the generalizability of the results. This small sample size makes the study underpowered to detect small differences between COVID+ and COVID− patients, or between type H and type L subtypes. Second, the use of a transport ventilator in 7 patients of the study may have promoted alveolar derecruitment, although this was prevented by clamping of the tracheal tube during ventilator change. Third, a major limitation of the study is that potential for recruitment could not be assessed as CT acquisition at both low and high PEEP were not performed to minimize radiation exposure. Fourth, as contrast agents injection was not used for CT acquisition to avoid bias in measured gas and tissue fractions [31], we cannot rule out pulmonary embolism as a potential factor implicated in hypoxemia. Five, owing to well-known limitations of the current ARDS definition [32], it is virtually impossible to confirm that all included patients presented with permeability type pulmonary edema, although this would apply to both COVID + and COVID− ARDS patients.

Nevertheless, this study is the first CT scan study with quantitative analysis on a small cohort of COVID+ ARDS patients. CT acquisitions were performed early, mostly within 1 day of ARDS onset, thus minimizing potential confounding effects related to ventilator-induced lung injury or ventilator-associated pneumonia.

5. Conclusion

COVID+ ARDS patients share similar CT features with COVID - patients (increased lung weight, increased noninflated lung fraction). A subtype of COVID-19 ARDS patients with near-normal elastance present with low tidal recruitment, low amount of non-inflated lung, and high amount of normally aerated lung, questioning the relevance of high PEEP levels in this subgroup.

Supplementary data to this article can be found online at https://doi.org/10.1016/j.jcrc.2020.08.006.

Funding

This work was performed within the framework of the LABEX PRIMES (ANR-11-LABX-0063) of Université de Lyon, within the program "Investissements d'Avenir" (ANR-11-IDEX-0007) operated by the French National Research Agency (ANR).

Insurance and quality monitoring for the study were funded by Hospices Civils de Lyon.

Financial disclosure statement

None.

Declaration of Competing Interest

The authors declare that they have no conflict of interest.

Acknowledgements

The authors wish to thank Loredana Baboi for her help with inclusion of the patients in the study and data acquisition.

References

[1] Richardson S, Hirsch JS, Narasimhan M, Crawford JM, McGinn T, Davidson KW, et al. Presenting characteristics, comorbidities, and outcomes among 5700 patients hospitalized with COVID-19 in the New York city area. JAMA 2020. https://doi.org/10.1001/jama.2020.6775.
[2] Wu C, Chen X, Cai Y, Xia J, Zhou X, Xu S, et al. Risk factors associated with acute respiratory distress syndrome and death in patients with coronavirus disease 2019 pneumonia in Wuhan, China. JAMA Intern Med 2020. https://doi.org/10.1001/jamainternmed.2020.0994.
[3] Grasselli G, Zangrillo A, Zanella A, Antonelli M, Cabrini L, Castelli A, et al. Baseline characteristics and outcomes of 1591 patients infected with SARS-CoV-2 admitted to ICUs of the Lombardy Region, Italy. JAMA 2020;323:1574–81. https://doi.org/10.1001/jama.2020.5394.
[4] Bhatraju PK, Ghassemieh BJ, Nichols M, Kim R, Jerome KR, Nalla AK, et al. Covid-19 in critically ill patients in the Seattle region - case series. N Engl J Med 2020;382:2012–22. https://doi.org/10.1056/NEJMoa2004500.
[5] Arentz M, Yim E, Klaff L, Lokhandwala S, Riedo FX, Chong M, et al. Characteristics and outcomes of 21 critically ill patients with COVID-19 in Washington state. JAMA 2020;323:1612–4. https://doi.org/10.1001/jama.2020.4326.
[6] Gattinoni L, Coppola S, Cressoni M, Busana M, Rossi S, Chiumello D. Covid-19 does not lead to a "typical" acute respiratory distress syndrome. Am J Respir Crit Care Med 2020;201:1299–300. https://doi.org/10.1164/rccm.202003-0817LE.
[7] Gattinoni L, Pesenti A, Avalli L, Rossi F, Bombino M. Pressure-volume curve of total respiratory system in acute respiratory failure. Computed tomographic scan study. Am Rev Respir Dis 1987;136:730–6. https://doi.org/10.1164/ajrccm/136.3.730.
[8] Gattinoni L, Chiumello D, Caironi P, Busana M, Romitti F, Brazzi L, et al. COVID-19 pneumonia: different respiratory treatments for different phenotypes? Intensive Care Med 2020. https://doi.org/10.1007/s00134-020-06033-2.
[9] Terragni PP, Rosboch G, Tealdi A, Corno E, Menaldo E, Davini O, et al. Tidal hyperinflation during low tidal volume ventilation in acute respiratory distress syndrome. Am J Respir Crit Care Med 2007;175:160–6. https://doi.org/10.1164/rccm.200607-915OC.
[10] Caironi P, Cressoni M, Chiumello D, Ranieri M, Quintel M, Russo SG, et al. Lung opening and closing during ventilation of acute respiratory distress syndrome. Am J Respir Crit Care Med 2010;181:578–86. https://doi.org/10.1164/rccm.200905-0787OC.
[11] Definition Task Force ARDS, Ranieri VM, Rubenfeld GD, Thompson BT, Ferguson ND, Caldwell E, et al. Acute respiratory distress syndrome: the Berlin Definition. JAMA 2012;307:2526–33. https://doi.org/10.1001/jama.2012.5669.
[12] Akoumianaki E, Maggiore SM, Valenza F, Bellani G, Jubran A, Loring SH, et al. The application of esophageal pressure measurement in patients with respiratory failure. Am J Respir Crit Care Med 2014;189:520–31. https://doi.org/10.1164/rccm.201312-2193CI.
[13] Network Acute Respiratory Distress Syndrome, Brower RG, Matthay MA, Morris A, Schoenfeld D, Thompson BT, et al. Ventilation with lower tidal volumes as compared with traditional tidal volumes for acute lung injury and the acute respiratory distress syndrome. N Engl J Med 2000;342:1301–8. https://doi.org/10.1056/NEJM200005043421801.
[14] Le Gall JR, Lemeshow S, Saulnier F. A new Simplified Acute Physiology Score (SAPS II) based on a European/North American multicenter study. JAMA 1993;270:2957–63. https://doi.org/10.1001/jama.1993.03510240069035.
[15] Vincent JL, Moreno R, Takala J, Willatts S, De Mendonca A, Bruining H, et al. The SOFA (Sepsis-related Organ Failure Assessment) score to describe organ dysfunction/failure. On behalf of the Working Group on Sepsis-Related Problems of the European Society of Intensive Care Medicine. Intensive Care Med 1996;22:707–10.
[16] Gattinoni L, Chiumello D, Rossi S. COVID-19 pneumonia: ARDS or not? Crit Care 2020;24:154. https://doi.org/10.1186/s13054-020-02880-z.
[17] Cressoni M, Gallazzi E, Chiurazzi C, Marino A, Brioni M, Menga F, et al. Limits of normality of quantitative thoracic CT analysis. Crit Care 2013;17:R93. https://doi.org/10.1186/cc12738.
[18] Dávila-Serrano EE, Guigues L, Cervenansky F, Pop S, Riveros Reyes JG, Flórez-Valencia L, et al. CreaTools: a framework to develop medical image processing software. Application to simulate pipeline stent deployment in intracranial vessels with aneurysms. Computer vision and graphics, ICCVG 2012, lecture notes in computer science. , vol. 7594Berlin Heidelberg: Springer; 2012; 55–62.
[19] Gattinoni L, Pesenti A, Bombino M, Baglioni S, Rivolta M, Rossi F, et al. Relationships between lung computed tomographic density, gas exchange, and PEEP in acute respiratory failure. Anesthesiology 1988;69:824–32. https://doi.org/10.1097/00000542-198812000-00005.
[20] Pelosi P, D'Andrea L, Vitale G, Pesenti A, Gattinoni L. Vertical gradient of regional lung inflation in adult respiratory distress syndrome. Am J Respir Crit Care Med 1994;149:8–13.
[21] Scherer R. PropCIs: various confidence interval methods for proportions; 2018.
[22] Lenth R. emmeans: estimated marginal means, aka least-squares means; 2019.
[23] Bates D, Maechler M, Bolker B, Walker S. Fitting linear mixed-effects models using lme4. J Stat Softw 2015;67:1–48. https://doi.org/10.18637/jss.v067.i01.
[24] Kuznetsova A, Brockhoff PB, Christensen RHB. lmerTest package: tests in linear mixed effects models. J Stat Softw 2017;82:1–26. https://doi.org/10.18637/jss.v082.i13.
[25] Canty A, Ripley B. Boot: bootstrap R (S-Plus) functions; 2020.
[26] Davison AC, Hinkley DV. Bootstrap Methods and Their Applications. Cambridge: Cambridge University Press; 1997.
[27] Wood S, Scheipel F. gamm4: generalized additive mixed models using "mgcv" and "lme4"; 2020.
[28] Efron B. Better bootstrap confidence intervals. J Am Stat Assoc 1987;82:171–85.
[29] Varga Z, Flammer AJ, Steiger P, Haberecker M, Andermatt R, Zinkernagel AS, et al. Endothelial cell infection and endotheliitis in COVID-19. Lancet 2020;395:1417–8. https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)30937-5.

[30] Gattinoni L, Caironi P, Cressoni M, Chiumello D, Ranieri VM, Quintel M, et al. Lung recruitment in patients with the acute respiratory distress syndrome. N Engl J Med 2006;354:1775–86. https://doi.org/10.1056/NEJMoa052052.
[31] Bouhemad B, Richecoeur J, Lu Q, Malbouisson LM, Cluzel P, Rouby JJ. Effects of contrast material on computed tomographic measurements of lung volumes in patients with acute lung injury. Crit Care 2003;7:63–71. https://doi.org/10.1186/cc1852.
[32] Thille AW, Esteban A, Fernández-Segoviano P, Rodriguez J-M, Aramburu J-A, Peñuelas O, et al. Comparison of the Berlin definition for acute respiratory distress syndrome with autopsy. Am J Respir Crit Care Med 2013;187:761–7. https://doi.org/10.1164/rccm.201211-1981OC.

PARTIE 4. CONCLUSIONS ET PERSPECTIVES

La mise en évidence d'une réponse inflammatoire aiguë spécifique des macrophages à l'aide de l'imagerie fonctionnelle pulmonaire au [^{11}C](R)-PK11195 a permis de consolider la notion de *biotrauma* comme mécanisme physiopathologique des lésions induites par la ventilation mécanique, et laisser entrevoir les pistes thérapeutiques futures visant à limiter ou prévenir sa survenue.

1. IMAGERIE DE L'INFLAMMATION PULMONAIRE AIGUË AU [^{11}C](R)-PK11195

Tout d'abord, nos travaux ont démontré la faisabilité et la pertinence de l'utilisation de ce traceur TEP spécifique du récepteur mitochondrial TSPO dans la quantification non invasive de la réponse inflammatoire liée aux macrophages au sein des poumons d'animaux sains ou agressés par un SDRA expérimental. Nous avons raffiné la méthodologie de quantification à l'aide de la modélisation pharmacocinétique multicompartimentale pour la première fois décrite ici. La pertinence du traceur est d'autant plus renforcée que nous avons observé une corrélation avec le nombre de macrophages observés en microscopie optique lors de l'analyse post-mortem des poumons. De plus, cette méthode fondée sur la modélisation permet de s'affranchir des difficultés inhérentes à l'imagerie TEP pulmonaire, du fait de l'hétérogénéité anatomique de cet organe.

2. APPORT DE L'IMAGERIE COUPLEE TEP-SCANNER AU [^{11}C](R)-PK11195 DU VILI

Nos travaux ont permis la mise en évidence d'une association entre réponse inflammatoire pulmonaire d'une part et variables mesurées au scanner pulmonaire quantitatif estimant l'impact de forces physico-mécaniques liées à la ventilation sur le parenchyme pulmonaire d'autre part. En mesurant *in vivo* la captation du [^{11}C](R)-PK11195, nous avons observé que celle-ci augmentait significativement dans un modèle expérimental de ventilation à très haut volume courant, générateur d'un étirement pulmonaire conséquent et d'une hyperinflation intracycle significative. De plus, la captation du traceur était significativement diminué par la mise en décubitus ventral d'animaux avec SDRA expérimental et était associée à l'étirement dynamique induit par la ventilation régionale, même lorsque celle-ci était réalisée de façon protectrice dans ce même modèle. Pour finir, la TEP offre la possibilité de mesurer des phénomènes biologiques avec un très haut niveau de sensibilité et de spécificité ; le fait

que nous ayons observé des différences significatives de captation du traceur chez des animaux soumis au même type de SDRA expérimental et de ventilation, et dont la seule différence était d'avoir été placé d'une position corporelle différente démontre le niveau de sensibilité de la technique dans des conditions proches de celles observées en pratique clinique. En somme, l'imagerie TEP au [^{11}C](R)-PK11195 permet la mise en évidence précoce et reproductible d'une inflammation accompagnant les principaux mécanismes connus ou suspectés des lésions induites par la ventilation mécanique.

3. APPORT DU SCANNER QUANTITATIF DANS LA PRISE EN CHARGE DU SDRA

La mise en évidence d'un lien entre réponse inflammatoire et paramètres d'agression physico-mécanique au scanner permet d'envisager d'utiliser le scanner quantitatif pulmonaire pour guider la ventilation mécanique et ses réglages en routine clinique. En effet, notre travail clinique montre que la définition syndromique du SDRA ne suffit à prendre en compte les caractéristiques spécifiques en termes de mécanique respiratoire et d'atteinte scannographiques que présentent certains individus atteints de ce syndrome. Que cela soit dû à l'agent causal (comme dans le cas du COVID-19) ou des phénotypes individuels, le scanner thoracique a permis dans notre étude la mise en évidence de différences significatives dans la distribution de l'aération de phénotypes respiratoires pré-identifiés. De plus, alors même que le patient étaient ventilés avec les mêmes réglages, la réponse du parenchyme à la ventilation mécanique différait significativement en termes de recrutement intracycle ou d'hyperinflation intracycle entre les individus ou entre les phénotypes. L'apport des logiciels de segmentation semi-automatisée assistée par l'intelligence artificielle devrait permettre un usage en routine clinique de ces outils afin de guider le clinicien dans ses prises de décision vis-à-vis des ajustements de la ventilation mécanique.

4. PERSPECTIVES DE RECHERCHE

a. Axe expérimental

Le premier axe de poursuite des travaux de recherche consistera en l'évaluation de l'effet sur l'inflammation pulmonaire, quantifiée à l'aide du [^{11}C](R)-PK11195 en TEP pulmonaire, d'une stratégie de ventilation quasi-apnéique sous technique d'oxygénation extracorporelle, comparé à une stratégie ultra-protectrice usant de volume courant ultra bas, et à une stratégie conventionnelle de ventilation. Ces travaux ont débuté en 2020, à l'aide du

financement Jeunes Chercheurs que j'ai obtenu en 2019 en réponse à un appel d'offre des Hospices Civils de Lyon.

Un second axe expérimental à moyen terme est d'utiliser l'imagerie TEP au [^{11}C](R)-PK11195 afin d'explorer in vivo la réponse inflammatoire touchant des organes à distance du poumons dans le cadre de modèles expérimentaux de ventilation agressive ou au contraire protectrice. En effet, les reins sont d'une part soumis à des changements hémodynamiques à la fois micro- et macrocirculatoire au cours de la ventilation mécanique pouvant impacter leur fonctionnement, mais il est probable que la réponse inflammatoire observée au sein des poumons ait des répercussions systémiques et vienne s'ajouter à l'agression hémodynamique qu'implique la ventilation en pression positive. En réalisant des acquisitions TEP centrées sur les reins, couplée à une autre modalité d'imagerie telle que l'IRM fonctionnelle, nous pourrions ainsi poursuivre l'exploration des mécanismes sous-jacents au *biotrauma* systémique.

b. Axe clinique

Le scanner pulmonaire quantitatif possède le potentiel énorme de permettre l'exploration fine des effets de la ventilation mécanique et de ses réglages sur le parenchyme pulmonaire, en particulier si celui-ci est agressé comme au cours du SDRA. Le développement d'un logiciel de segmentation automatisé spécifiquement développé pour l'individualisation de la région pulmonaire dans ce contexte nosologique a permis une nette diminution du temps d'acquisition et d'analyse des données. Le laboratoire CREATIS est sur le point de valider un nouveau programme de segmentation assistée par l'intelligence artificielle et spécifiquement entrainée sur une base de données de scanner pulmonaires de patients atteints de SDRA, permettant d'envisager dans un avenir très proche la possibilité d'obtenir des données quantitatives en quelques minutes seulement. Par ailleurs, le déplacement d'un patient de réanimation au centre d'imagerie tout comme le caractère aisé et rapide des acquisitions scanner protocolisées nous font penser qu'il n'y a actuellement plus d'obstacle à l'usage de cette technique en soins courant ou dans le cadre d'essai clinique de plus grande envergure. Il serait particulièrement intéressant d'évaluer l'impact qu'aurait une stratégie de ventilation individualisée à l'aide du scanner visant à prévenir, atténuer ou limiter les forces physico-mécanique associés aux lésions induites par la ventilation mécanique sur le devenir de patients en SDRA, en comparaison à une prise en charge standardisée, non ou insuffisamment individualisée selon les recommandations actuelles.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Araos, J., L. Alegria, P. Garcia, F. Damiani, P. Tapia, D. Soto, T. Salomon, F. Rodriguez, M. Amthauer, B. Erranz, G. Castro, P. Carreno, T. Medina, J. Retamal, P. Cruces, G. Bugedo and A. Bruhn (2016). "Extracorporeal membrane oxygenation improves survival in a novel 24-hour pig model of severe acute respiratory distress syndrome." Am J Transl Res **8**(6): 2826-2837.

Aston, J. A., V. J. Cunningham, M. C. Asselin, A. Hammers, A. C. Evans and R. N. Gunn (2002). "Positron emission tomography partial volume correction: estimation and algorithms." J Cereb Blood Flow Metab **22**(8): 1019-1034. DOI: 10.1097/00004647-200208000-00014.

Audi, S. H., C. A. Dawson, S. B. Ahlf and D. L. Roerig (2002). "Lung tissue mitochondrial benzodiazepine receptors increase in a model of pulmonary inflammation." Lung **180**(5): 241-250. DOI: 10.1007/s004080000098.

Azarashvili, T., O. Krestinina, I. Yurkov, Y. Evtodienko and G. Reiser (2005). "High-affinity peripheral benzodiazepine receptor ligand, PK11195, regulates protein phosphorylation in rat brain mitochondria under control of Ca(2+)." J Neurochem **94**(4): 1054-1062. DOI: 10.1111/j.1471-4159.2005.03260.x.

Bailey, D. L. (2005). Positron emission tomography : basic sciences. New York, Springer.

Banati, R. B., J. Newcombe, R. N. Gunn, A. Cagnin, F. Turkheimer, F. Heppner, G. Price, F. Wegner, G. Giovannoni, D. H. Miller, G. D. Perkin, T. Smith, A. K. Hewson, G. Bydder, G. W. Kreutzberg, T. Jones, M. L. Cuzner and R. Myers (2000). "The peripheral benzodiazepine binding site in the brain in multiple sclerosis: quantitative in vivo imaging of microglia as a measure of disease activity." Brain **123 (Pt 11)**: 2321-2337. DOI: 10.1093/brain/123.11.2321.

Bayliss, L. E. and G. W. Roberston (1939). "The visco-elastic properties of the lungs." Q J Exp Physiol.

Beitler, J. R., T. Sarge, V. M. Banner-Goodspeed, M. N. Gong, D. Cook, V. Novack, S. H. Loring, D. Talmor and E. P.-S. Group (2019). "Effect of Titrating Positive End-Expiratory Pressure (PEEP) With an Esophageal Pressure-Guided Strategy vs an Empirical High PEEP-Fio2 Strategy on Death and Days Free From Mechanical Ventilation Among Patients With Acute Respiratory Distress Syndrome: A Randomized Clinical Trial." JAMA **321**(9): 846-857. DOI: 10.1001/jama.2019.0555.

Bellani, G., L. Guerra, G. Musch, A. Zanella, N. Patroniti, T. Mauri, C. Messa and A. Pesenti (2011). "Lung regional metabolic activity and gas volume changes induced by tidal ventilation in patients with acute lung injury." Am J Respir Crit Care Med **183**(9): 1193-1199. DOI: 10.1164/rccm.201008-1318OC.

Bellani, G., J. G. Laffey, T. Pham, E. Fan, L. Brochard, A. Esteban, L. Gattinoni, F. van Haren, A. Larsson, D. F. McAuley, M. Ranieri, G. Rubenfeld, B. T. Thompson, H. Wrigge, A. S. Slutsky, A. Pesenti, Lung Safe Investigators and ESICM Trials Group (2016). "Epidemiology, Patterns of Care, and Mortality for Patients With Acute Respiratory Distress Syndrome in Intensive Care Units in 50 Countries." JAMA **315**(8): 788-800. DOI: 10.1001/jama.2016.0291.

Bellani, G., C. Messa, L. Guerra, E. Spagnolli, G. Foti, N. Patroniti, R. Fumagalli, G. Musch, F. Fazio and A. Pesenti (2009). "Lungs of patients with acute respiratory distress syndrome show diffuse inflammation in normally aerated regions: A [18F]-fluoro-2-deoxy-D-glucose PET/CT study." Critical Care Medicine **37**(7): 2216-2222. DOI: 10.1097/CCM.0b013e3181aab31f.

Bockisch, A., T. Beyer, G. Antoch, L. S. Freudenberg, H. Kuhl, J. F. Debatin and S. P. Muller (2004). "Positron emission tomography/computed tomography--imaging protocols, artifacts, and pitfalls." Mol Imaging Biol **6**(4): 188-199. DOI: 10.1016/j.mibio.2004.04.006.

Boellaard, R. (2009). "Standards for PET image acquisition and quantitative data analysis." J Nucl Med **50 Suppl 1**: 11S-20S. DOI: 10.2967/jnumed.108.057182.

Branley, H. M., R. M. du Bois, A. U. Wells and H. A. Jones (2008). "PET scanning of macrophages in patients with scleroderma fibrosing alveolitis." Nucl Med Biol **35**(8): 901-909. DOI: 10.1016/j.nucmedbio.2008.10.001.

Braune, A., F. Hofheinz, T. Bluth, T. Kiss, J. Wittenstein, M. Scharffenberg, J. Kotzerke and M. Gama de Abreu (2019). "Comparison of Static and Dynamic (18)F-FDG PET/CT for Quantification of Pulmonary Inflammation in Acute Lung Injury." J Nucl Med **60**(11): 1629-1634. DOI: 10.2967/jnumed.119.226597.

Briel, M., M. Meade, A. Mercat, R. G. Brower, D. Talmor, S. D. Walter, A. S. Slutsky, E. Pullenayegum, Q. Zhou, D. Cook, L. Brochard, J. C. Richard, F. Lamontagne, N. Bhatnagar, T. E. Stewart and G. Guyatt (2010). "Higher vs lower positive end-expiratory pressure in patients with acute lung injury and acute respiratory distress syndrome: systematic review and meta-analysis." JAMA **303**(9): 865-873. DOI: 10.1001/jama.2010.218.

Broccard, A. F., R. S. Shapiro, L. L. Schmitz, S. A. Ravenscraft and J. J. Marini (1997). "Influence of prone position on the extent and distribution of lung injury in a high tidal volume oleic acid model of acute respiratory distress syndrome." Crit Care Med **25**(1): 16-27.

Brower, R. G., P. N. Lanken, N. MacIntyre, M. A. Matthay, A. Morris, M. Ancukiewicz, D. Schoenfeld, B. T. Thompson, L. National Heart and A. C. T. N. Blood Institute (2004). "Higher versus lower positive end-expiratory pressures in patients with the acute respiratory distress syndrome." N Engl J Med **351**(4): 327-336. DOI: 10.1056/NEJMoa032193.

Byrne, A. J., S. A. Mathie, L. G. Gregory and C. M. Lloyd (2015). "Pulmonary macrophages: key players in the innate defence of the airways." Thorax **70**(12): 1189-1196. DOI: 10.1136/thoraxjnl-2015-207020.

Cagnin, A., M. Kassiou, S. R. Meikle and R. B. Banati (2007). "Positron emission tomography imaging of neuroinflammation." Neurotherapeutics **4**(3): 443-452. DOI: 10.1016/j.nurt.2007.04.006.

Caironi, P., M. Cressoni, D. Chiumello, M. Ranieri, M. Quintel, S. G. Russo, R. Cornejo, G. Bugedo, E. Carlesso, R. Russo, L. Caspani and L. Gattinoni (2010). "Lung opening and closing during ventilation of acute respiratory distress syndrome." Am J Respir Crit Care Med **181**(6): 578-586. DOI: 10.1164/rccm.200905-0787OC.

Cavalcanti, A. B., É. A. Suzumura, L. N. Laranjeira, D. d. M. Paisani, L. P. Damiani, H. P. Guimarães, E. R. Romano, M. d. M. Regenga, L. N. T. Taniguchi, C. Teixeira, R. Pinheiro de Oliveira, F. R. Machado, F. A. Diaz-Quijano, M. S. d. A. Filho, I. S. Maia, E. B. Caser, W. d. O. Filho, M. d. C. Borges, P. d. A. Martins, M. Matsui, G. A. Ospina-Tascón, T. S. Giancursi, N. D. Giraldo-Ramirez, S. R. R. Vieira, M. d. G. P. d. L. Assef, M. S. Hasan, W. Szczeklik, F. Rios, M. B. P. Amato, O. Berwanger and C. R. Ribeiro de Carvalho (2017). "Effect of Lung Recruitment and Titrated Positive End-Expiratory Pressure (PEEP) vs Low PEEP on Mortality in Patients With Acute Respiratory Distress Syndrome." Jama **318**(14): 1335. DOI: 10.1001/jama.2017.14171.

Chapman, K. E., S. E. Sinclair, D. Zhuang, A. Hassid, L. P. Desai and C. M. Waters (2005). "Cyclic mechanical strain increases reactive oxygen species production in pulmonary epithelial cells." Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol **289**(5): L834-841. DOI: 10.1152/ajplung.00069.2005.

Chen, D. L., J. Cheriyan, E. R. Chilvers, G. Choudhury, C. Coello, M. Connell, M. Fisk, A. M. Groves, R. N. Gunn, B. F. Holman, B. F. Hutton, S. Lee, W. MacNee, D. Mohan, D. Parr, D. Subramanian, R. Tal-Singer, K. Thielemans, E. J. van Beek, L. Vass, J. W. Wellen, I. Wilkinson and F. J. Wilson (2017). "Quantification of Lung PET Images: Challenges and Opportunities." J Nucl Med **58**(2): 201-207. DOI: 10.2967/jnumed.116.184796.

Chen, D. L. and D. P. Schuster (2004). "Positron emission tomography with [18F]fluorodeoxyglucose to evaluate neutrophil kinetics during acute lung injury." Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol **286**(4): L834-840. DOI: 10.1152/ajplung.00339.2003.

Chiumello, D., M. Busana, S. Coppola, F. Romitti, P. Formenti, M. Bonifazi, T. Pozzi, M. M. Palumbo, M. Cressoni, P. Herrmann, K. Meissner, M. Quintel, L. Camporota, J. J. Marini and L. Gattinoni (2020). "Physiological and quantitative CT-scan characterization of COVID-19 and typical ARDS: a matched cohort study." Intensive Care Med **46**(12): 2187-2196. DOI: 10.1007/s00134-020-06281-2.

Chiumello, D., M. Cressoni, A. Colombo, G. Babini, M. Brioni, F. Crimella, S. Lundin, O. Stenqvist and L. Gattinoni (2014). "The assessment of transpulmonary pressure in mechanically ventilated ARDS patients." Intensive Care Med **40**(11): 1670-1678. DOI: 10.1007/s00134-014-3415-4.

Collino, F., F. Rapetti, F. Vasques, G. Maiolo, T. Tonetti, F. Romitti, J. Niewenhuys, T. Behnemann, L. Camporota, G. Hahn, V. Reupke, K. Holke, P. Herrmann, E. Duscio, F. Cipulli, O. Moerer, J. J. Marini, M. Quintel and L. Gattinoni (2019). "Positive End-expiratory Pressure and Mechanical Power." Anesthesiology **130**(1): 119-130. DOI: 10.1097/ALN.0000000000002458.

Combes, A., M. Bacchetta, D. Brodie, T. Muller and V. Pellegrino (2012). "Extracorporeal membrane oxygenation for respiratory failure in adults." Curr Opin Crit Care **18**(1): 99-104. DOI: 10.1097/MCC.0b013e32834ef412.

Combes, A., D. Hajage, G. Capellier, A. Demoule, S. Lavoue, C. Guervilly, D. Da Silva, L. Zafrani, P. Tirot, B. Veber, E. Maury, B. Levy, Y. Cohen, C. Richard, P. Kalfon, L. Bouadma, H. Mehdaoui, G. Beduneau, G. Lebreton, L. Brochard, N. D. Ferguson, E. Fan, A. S. Slutsky, D. Brodie, A. Mercat, R. Eolia Trial Group and Ecmonet (2018). "Extracorporeal Membrane Oxygenation for Severe Acute Respiratory Distress Syndrome." N Engl J Med **378**(21): 1965-1975. DOI: 10.1056/NEJMoa1800385.

COVID-ICU Group, on behalf of the REVA Network and the COVID-ICU Investigators (2021). "Clinical characteristics and day-90 outcomes of 4244 critically ill adults with COVID-19: a prospective cohort study." Intensive Care Med **47**(1): 60-73. DOI: 10.1007/s00134-020-06294-x.

Cressoni, M., P. Cadringher, C. Chiurazzi, M. Amini, E. Gallazzi, A. Marino, M. Brioni, E. Carlesso, D. Chiumello, M. Quintel, G. Bugedo and L. Gattinoni (2014). "Lung inhomogeneity in patients with acute respiratory distress syndrome." Am J Respir Crit Care Med **189**(2): 149-158. DOI: 10.1164/rccm.201308-1567OC.

Cressoni, M., D. Chiumello, C. Chiurazzi, M. Brioni, I. Algieri, M. Gotti, K. Nikolla, D. Massari, A. Cammaroto, A. Colombo, P. Cadringher, E. Carlesso, R. Benti, R. Casati, F. Zito and L. Gattinoni (2016). "Lung inhomogeneities, inflation and [18F]2-fluoro-2-deoxy-D-glucose uptake rate in acute respiratory distress syndrome." Eur Respir J **47**(1): 233-242. DOI: 10.1183/13993003.00885-2015.

Cressoni, M., M. Gotti, C. Chiurazzi, D. Massari, I. Algieri, M. Amini, A. Cammaroto, M. Brioni, C. Montaruli, K. Nikolla, M. Guanziroli, D. Dondossola, S. Gatti, V. Valerio, G. L. Vergani, P. Pugni, P. Cadringher, N. Gagliano and L. Gattinoni (2016). "Mechanical Power and Development of Ventilator-induced Lung Injury." Anesthesiology **124**(5): 1100-1108. DOI: 10.1097/ALN.0000000000001056.

Curley, G. F., J. G. Laffey, H. Zhang and A. S. Slutsky (2016). "Biotrauma and Ventilator-Induced Lung Injury: Clinical Implications." Chest **150**(5): 1109-1117. DOI: 10.1016/j.chest.2016.07.019.

Daugherty, D. J., V. Selvaraj, O. V. Chechneva, X. B. Liu, D. E. Pleasure and W. Deng (2013). "A TSPO ligand is protective in a mouse model of multiple sclerosis." EMBO Mol Med **5**(6): 891-903. DOI: 10.1002/emmm.201202124.

Dávila Serrano, E. E., F. Dhelft, L. Bitker, J.-C. Richard and M. Orkisz (2020). Software for CT-image Analysis to Assist the Choice of Mechanical-ventilation Settings in Acute Respiratory Distress Syndrome. ICCVG 2020, Warsaw, Poland, Springer Nature, Cham, Switzerlan.

de Prost, N., E. L. Costa, T. Wellman, G. Musch, M. R. Tucci, T. Winkler, R. Harris, J. G. Venegas, B. P. Kavanagh and M. F. Vidal Melo (2013). "Effects of ventilation strategy on distribution of lung inflammatory cell activity." Crit Care **17**(4): R175. DOI: 10.1186/cc12854.

de Prost, N., E. L. Costa, T. Wellman, G. Musch, T. Winkler, M. R. Tucci, R. S. Harris, J. G. Venegas and M. F. Vidal Melo (2011). "Effects of surfactant depletion on regional pulmonary metabolic activity during mechanical ventilation." J Appl Physiol (1985) **111**(5): 1249-1258. DOI: 10.1152/japplphysiol.00311.2011.

de Prost, N., J. D. Ricard, G. Saumon and D. Dreyfuss (2011). "Ventilator-induced lung injury: historical perspectives and clinical implications." Ann Intensive Care **1**(1): 28. DOI: 10.1186/2110-5820-1-28.

Dittrich, A. S., T. Winkler, T. Wellman, N. de Prost, G. Musch, R. S. Harris and M. F. Vidal Melo (2012). "Modeling 18F-FDG kinetics during acute lung injury: experimental data and estimation errors." PLoS One **7**(10): e47588. DOI: 10.1371/journal.pone.0047588.

Dreyfuss, D. and G. Saumon (1993). "Role of tidal volume, FRC, and end-inspiratory volume in the development of pulmonary edema following mechanical ventilation." Am Rev Respir Dis **148**(5): 1194-1203. DOI: 10.1164/ajrccm/148.5.1194.

Dreyfuss, D., P. Soler, G. Basset and G. Saumon (1988). "High inflation pressure pulmonary edema. Respective effects of high airway pressure, high tidal volume, and positive end-expiratory pressure." Am Rev Respir Dis **137**(5): 1159-1164. DOI: 10.1164/ajrccm/137.5.1159.

Fan, E., L. Del Sorbo, E. C. Goligher, C. L. Hodgson, L. Munshi, A. J. Walkey, N. K. J. Adhikari, M. B. P. Amato, R. Branson, R. G. Brower, N. D. Ferguson, O. Gajic, L. Gattinoni, D. Hess, J. Mancebo, M. O. Meade, D. F. McAuley,

A. Pesenti, V. M. Ranieri, G. D. Rubenfeld, E. Rubin, M. Seckel, A. S. Slutsky, D. Talmor, B. T. Thompson, H. Wunsch, E. Uleryk, J. Brozek, L. J. Brochard, E. S. o. I. C. M. American Thoracic Society and M. Society of Critical Care (2017). "An Official American Thoracic Society/European Society of Intensive Care Medicine/Society of Critical Care Medicine Clinical Practice Guideline: Mechanical Ventilation in Adult Patients with Acute Respiratory Distress Syndrome." Am J Respir Crit Care Med **195**(9): 1253-1263. DOI: 10.1164/rccm.201703-0548ST.

Feng, D., D. Ho, K. K. Lau and W. C. Siu (1999). "GLLS for optimally sampled continuous dynamic system modeling: theory and algorithm." Comput Methods Programs Biomed **59**(1): 31-43.

Fishwick, P. A. (2007). Handbook of dynamic system modeling. Boca Raton, Chapman & Hall/CRC.

Frank, J. A., C. M. Wray, D. F. McAuley, R. Schwendener and M. A. Matthay (2006). "Alveolar macrophages contribute to alveolar barrier dysfunction in ventilator-induced lung injury." Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol **291**(6): L1191-1198. DOI: 10.1152/ajplung.00055.2006.

Futier, E., J. M. Constantin, C. Paugam-Burtz, J. Pascal, M. Eurin, A. Neuschwander, E. Marret, M. Beaussier, C. Gutton, J. Y. Lefrant, B. Allaouchiche, D. Verzilli, M. Leone, A. De Jong, J. E. Bazin, B. Pereira, S. Jaber and I. S. Group (2013). "A trial of intraoperative low-tidal-volume ventilation in abdominal surgery." N Engl J Med **369**(5): 428-437. DOI: 10.1056/NEJMoa1301082.

Gattinoni, L., P. Caironi, M. Cressoni, D. Chiumello, V. M. Ranieri, M. Quintel, S. Russo, N. Patroniti, R. Cornejo and G. Bugedo (2006). "Lung recruitment in patients with the acute respiratory distress syndrome." N Engl J Med **354**(17): 1775-1786. DOI: 10.1056/NEJMoa052052.

Gattinoni, L., D. Chiumello, P. Caironi, M. Busana, F. Romitti, L. Brazzi and L. Camporota (2020). "COVID-19 pneumonia: different respiratory treatments for different phenotypes?" Intensive Care Med **46**(6): 1099-1102. DOI: 10.1007/s00134-020-06033-2.

Gattinoni, L., D. Chiumello, M. Cressoni and F. Valenza (2005). "Pulmonary computed tomography and adult respiratory distress syndrome." Swiss Med Wkly **135**(11-12): 169-174. DOI: 2005/11/smw-10936.

Gattinoni, L., P. Pelosi, S. Crotti and F. Valenza (1995). "Effects of positive end-expiratory pressure on regional distribution of tidal volume and recruitment in adult respiratory distress syndrome." Am J Respir Crit Care Med **151**(6): 1807-1814. DOI: 10.1164/ajrccm.151.6.7767524.

Gattinoni, L., P. Pelosi, G. Vitale, A. Pesenti, L. D'Andrea and D. Mascheroni (1991). "Body position changes redistribute lung computed-tomographic density in patients with acute respiratory failure." Anesthesiology **74**(1): 15-23.

Gattinoni, L., A. Pesenti, L. Avalli, F. Rossi and M. Bombino (1987). "Pressure-volume curve of total respiratory system in acute respiratory failure. Computed tomographic scan study." Am Rev Respir Dis **136**(3): 730-736. DOI: 10.1164/ajrccm/136.3.730.

Gattinoni, L., T. Tonetti, M. Cressoni, P. Cadringher, P. Herrmann, O. Moerer, A. Protti, M. Gotti, C. Chiurazzi, E. Carlesso, D. Chiumello and M. Quintel (2016). "Ventilator-related causes of lung injury: the mechanical power." Intensive Care Med **42**(10): 1567-1575. DOI: 10.1007/s00134-016-4505-2.

Girard, A., H. Saint-Jalmes, N. Chaboub, P. J. Le Reste, A. Metais, A. Devillers, F. Le Jeune and X. Palard-Novello (2020). "Optimization of time frame binning for FDOPA uptake quantification in glioma." PLoS One **15**(4): e0232141. DOI: 10.1371/journal.pone.0232141.

Gonzalez-Lopez, A., E. Garcia-Prieto, E. Batalla-Solis, L. Amado-Rodriguez, N. Avello, L. Blanch and G. M. Albaiceta (2012). "Lung strain and biological response in mechanically ventilated patients." Intensive Care Med **38**(2): 240-247. DOI: 10.1007/s00134-011-2403-1.

Grasselli, G., T. Tonetti, C. Filippini, A. S. Slutsky, A. Pesenti and V. M. Ranieri (2021). "Pathophysiology of COVID-19-associated acute respiratory distress syndrome - Authors' reply." Lancet Respir Med **9**(1): e5-e6. DOI: 10.1016/S2213-2600(20)30525-7.

Guerin, C., J. Reignier, J. C. Richard, P. Beuret, A. Gacouin, T. Boulain, E. Mercier, M. Badet, A. Mercat, O. Baudin, M. Clavel, D. Chatellier, S. Jaber, S. Rosselli, J. Mancebo, M. Sirodot, G. Hilbert, C. Bengler, J. Richecoeur, M. Gainnier, F. Bayle, G. Bourdin, V. Leray, R. Girard, L. Baboi, L. Ayzac and P. S. Group (2013). "Prone positioning in severe acute respiratory distress syndrome." N Engl J Med **368**(23): 2159-2168. DOI: 10.1056/NEJMoa1214103.

Guldner, A., A. Braune, L. Ball, P. L. Silva, C. Samary, A. Insorsi, R. Huhle, I. Rentzsch, C. Becker, L. Oehme, M. Andreeff, M. F. Vidal Melo, T. Winkler, P. Pelosi, P. R. Rocco, J. Kotzerke and M. Gama de Abreu (2016). "Comparative Effects of Volutrauma and Atelectrauma on Lung Inflammation in Experimental Acute Respiratory Distress Syndrome." Crit Care Med **44**(9): e854-865. DOI: 10.1097/CCM.0000000000001721.

Gunn, R. N., S. R. Gunn and V. J. Cunningham (2001). "Positron emission tomography compartmental models." J Cereb Blood Flow Metab **21**(6): 635-652. DOI: 10.1097/00004647-200106000-00002.

Hamanaka, K., M. Y. Jian, M. I. Townsley, J. A. King, W. Liedtke, D. S. Weber, F. G. Eyal, M. M. Clapp and J. C. Parker (2010). "TRPV4 channels augment macrophage activation and ventilator-induced lung injury." Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol **299**(3): L353-362. DOI: 10.1152/ajplung.00315.2009.

Hardwick, M. J., M. K. Chen, K. Baidoo, M. G. Pomper and T. R. Guilarte (2005). "In vivo imaging of peripheral benzodiazepine receptors in mouse lungs: a biomarker of inflammation." Mol Imaging **4**(4): 432-438.

Hatori, A., J. Yui, T. Yamasaki, L. Xie, K. Kumata, M. Fujinaga, Y. Yoshida, M. Ogawa, N. Nengaki, K. Kawamura, T. Fukumura and M. R. Zhang (2012). "PET imaging of lung inflammation with [18F]FEDAC, a radioligand for translocator protein (18 kDa)." PLoS One **7**(9): e45065. DOI: 10.1371/journal.pone.0045065.

Hatty, C. R., A. P. Le Brun, V. Lake, L. A. Clifton, G. J. Liu, M. James and R. B. Banati (2014). "Investigating the interactions of the 18kDa translocator protein and its ligand PK11195 in planar lipid bilayers." Biochim Biophys Acta **1838**(3): 1019-1030. DOI: 10.1016/j.bbamem.2013.12.013.

Herold, S., T. S. Tabar, H. Janssen, K. Hoegner, M. Cabanski, P. Lewe-Schlosser, J. Albrecht, F. Driever, I. Vadasz, W. Seeger, M. Steinmueller and J. Lohmeyer (2011). "Exudate macrophages attenuate lung injury by the release of IL-1 receptor antagonist in gram-negative pneumonia." Am J Respir Crit Care Med **183**(10): 1380-1390. DOI: 10.1164/rccm.201009-1431OC.

Hinoshita, T., G. M. Ribeiro, T. Winkler, N. de Prost, M. R. Tucci, E. L. V. Costa, T. J. Wellman, S. Hashimoto, C. Zeng, A. R. Carvalho and M. F. V. Melo (2020). "Inflammatory Activity in Atelectatic and Normally Aerated Regions During Early Acute Lung Injury." Acad Radiol **27**(12): 1679-1690. DOI: 10.1016/j.acra.2019.12.022.

Hirvonen, J., A. Roivainen, J. Virta, S. Helin, K. Nagren and J. O. Rinne (2010). "Human biodistribution and radiation dosimetry of 11C-(R)-PK11195, the prototypic PET ligand to image inflammation." Eur J Nucl Med Mol Imaging **37**(3): 606-612. DOI: 10.1007/s00259-009-1298-3.

Holman, B. F., V. Cuplov, L. Millner, B. F. Hutton, T. M. Maher, A. M. Groves and K. Thielemans (2015). "Improved correction for the tissue fraction effect in lung PET/CT imaging." Phys Med Biol **60**(18): 7387-7402. DOI: 10.1088/0031-9155/60/18/7387.

Huang, X., H. Xiu, S. Zhang and G. Zhang (2018). "The Role of Macrophages in the Pathogenesis of ALI/ARDS." Mediators Inflamm **2018**: 1264913. DOI: 10.1155/2018/1264913.

Imanaka, H., M. Shimaoka, N. Matsuura, M. Nishimura, N. Ohta and H. Kiyono (2001). "Ventilator-induced lung injury is associated with neutrophil infiltration, macrophage activation, and TGF-beta 1 mRNA upregulation in rat lungs." Anesth Analg **92**(2): 428-436.

Innis, R. B., V. J. Cunningham, J. Delforge, M. Fujita, A. Gjedde, R. N. Gunn, J. Holden, S. Houle, S. C. Huang, M. Ichise, H. Iida, H. Ito, Y. Kimura, R. A. Koeppe, G. M. Knudsen, J. Knuuti, A. A. Lammertsma, M. Laruelle, J. Logan, R. P. Maguire, M. A. Mintun, E. D. Morris, R. Parsey, J. C. Price, M. Slifstein, V. Sossi, T. Suhara, J. R. Votaw, D. F. Wong and R. E. Carson (2007). "Consensus nomenclature for in vivo imaging of reversibly binding radioligands." J Cereb Blood Flow Metab **27**(9): 1533-1539. DOI: 10.1038/sj.jcbfm.9600493.

Inoue, K., K. Okada, Y. Taki, R. Goto, S. Kinomura and H. Fukuda (2009). "(18)FDG uptake associated with CT density on PET/CT in lungs with and without chronic interstitial lung diseases." Ann Nucl Med **23**(3): 277-281. DOI: 10.1007/s12149-009-0234-8.

Jones, H. A., S. Sriskandan, A. M. Peters, N. B. Pride, T. Krausz, A. R. Boobis and C. Haslett (1997). "Dissociation of neutrophil emigration and metabolic activity in lobar pneumonia and bronchiectasis." Eur Respir J **10**(4): 795-803.

Jones, H. A., S. O. Valind, I. C. Clark, G. E. Bolden, T. Krausz, J. B. Schofield, A. R. Boobis and C. Haslett (2002). "Kinetics of lung macrophages monitored in vivo following particulate challenge in rabbits." Toxicol Appl Pharmacol **183**(1): 46-54.

Joshi, N., J. M. Walter and A. V. Misharin (2018). "Alveolar Macrophages." Cell Immunol **330**: 86-90. DOI: 10.1016/j.cellimm.2018.01.005.

Katira, B. H., R. E. Giesinger, D. Engelberts, D. Zabini, A. Kornecki, G. Otulakowski, T. Yoshida, W. M. Kuebler, P. J. McNamara, K. A. Connelly and B. P. Kavanagh (2017). "Adverse Heart-lung Interactions in Ventilator-induced Lung Injury." Am J Respir Crit Care Med. DOI: 10.1164/rccm.201611-2268OC.

Keyes, J. W., Jr. (1995). "SUV: standard uptake or silly useless value?" J Nucl Med **36**(10): 1836-1839.

Kolobow, T., M. P. Moretti, R. Fumagalli, D. Mascheroni, P. Prato, V. Chen and M. Joris (1987). "Severe impairment in lung function induced by high peak airway pressure during mechanical ventilation. An experimental study." Am Rev Respir Dis **135**(2): 312-315. DOI: 10.1164/arrd.1987.135.2.312.

Kropholler, M. A., R. Boellaard, E. H. Elzinga, C. J. van der Laken, K. Maruyama, R. W. Kloet, A. E. Voskuyl, B. A. Dijkmans and A. A. Lammertsma (2009). "Quantification of (R)-[11C]PK11195 binding in rheumatoid arthritis." Eur J Nucl Med Mol Imaging **36**(4): 624-631. DOI: 10.1007/s00259-008-0987-7.

Kropholler, M. A., R. Boellaard, A. Schuitemaker, B. N. van Berckel, G. Luurtsema, A. D. Windhorst and A. A. Lammertsma (2005). "Development of a tracer kinetic plasma input model for (R)-[11C]PK11195 brain studies." J Cereb Blood Flow Metab **25**(7): 842-851. DOI: 10.1038/sj.jcbfm.9600092.

Kuipers, M. T., H. Aslami, J. R. Janczy, K. F. van der Sluijs, A. P. Vlaar, E. K. Wolthuis, G. Choi, J. J. Roelofs, R. A. Flavell, F. S. Sutterwala, P. Bresser, J. C. Leemans, T. van der Poll, M. J. Schultz and C. W. Wieland (2012). "Ventilator-induced lung injury is mediated by the NLRP3 inflammasome." Anesthesiology **116**(5): 1104-1115. DOI: 10.1097/ALN.0b013e3182518bc0.

Laitinen, I., P. Marjamaki, K. Nagren, V. J. Laine, I. Wilson, P. Leppanen, S. Yla-Herttuala, A. Roivainen and J. Knuuti (2009). "Uptake of inflammatory cell marker [11C]PK11195 into mouse atherosclerotic plaques." Eur J Nucl Med Mol Imaging **36**(1): 73-80. DOI: 10.1007/s00259-008-0919-6.

Lamare, F., R. Hinz, O. Gaemperli, F. Pugliese, J. C. Mason, T. Spinks, P. G. Camici and O. E. Rimoldi (2011). "Detection and quantification of large-vessel inflammation with 11C-(R)-PK11195 PET/CT." J Nucl Med **52**(1): 33-39. DOI: 10.2967/jnumed.110.079038.

Lambrou, T., A. M. Groves, K. Erlandsson, N. Screaton, R. Endozo, T. Win, J. C. Porter and B. F. Hutton (2011). "The importance of correction for tissue fraction effects in lung PET: preliminary findings." Eur J Nucl Med Mol Imaging **38**(12): 2238-2246. DOI: 10.1007/s00259-011-1906-x.

Lehtonen, E., J. Teuho, J. Koskinen, M. Jafari Tadi, R. Klen, R. Siekkinen, J. Rives Gambin, T. Vasankari and A. Saraste (2021). "A Respiratory Motion Estimation Method Based on Inertial Measurement Units for Gated Positron Emission Tomography." Sensors (Basel) **21**(12). DOI: 10.3390/s21123983.

Li, M., H. Ren, K. N. Sheth, F. D. Shi and Q. Liu (2017). "A TSPO ligand attenuates brain injury after intracerebral hemorrhage." FASEB J **31**(8): 3278-3287. DOI: 10.1096/fj.201601377RR.

Lobontiu, N. (2018). System dynamics for engineering students : concepts and applications. London ; San Diego, CA, Elsevier/Academic Press, an imprint of Elsevier.

Malbouisson, L. M., J. C. Muller, J. M. Constantin, Q. Lu, L. Puybasset, J. J. Rouby and C. T. S. A. S. Group (2001). "Computed tomography assessment of positive end-expiratory pressure-induced alveolar recruitment in patients with acute respiratory distress syndrome." Am J Respir Crit Care Med **163**(6): 1444-1450. DOI: 10.1164/ajrccm.163.6.2005001.

Marriott, H. M. and D. H. Dockrell (2007). "The role of the macrophage in lung disease mediated by bacteria." Exp Lung Res **33**(10): 493-505. DOI: 10.1080/01902140701756562.

McNamee, J. J., M. A. Gillies, N. A. Barrett, G. D. Perkins, W. Tunnicliffe, D. Young, A. Bentley, D. A. Harrison, D. Brodie, A. J. Boyle, J. E. Millar, T. Szakmany, J. Bannard-Smith, R. P. Tully, A. Agus, C. McDowell, C. Jackson, D. F. McAuley and R. Investigators (2021). "Effect of Lower Tidal Volume Ventilation Facilitated by Extracorporeal Carbon Dioxide Removal vs Standard Care Ventilation on 90-Day Mortality in Patients With Acute Hypoxemic

Respiratory Failure: The REST Randomized Clinical Trial." JAMA **326**(11): 1013-1023. DOI: 10.1001/jama.2021.13374.

Mead, J., T. Takishima and D. Leith (1970). "Stress distribution in lungs: a model of pulmonary elasticity." J Appl Physiol **28**(5): 596-608.

Meduri, G. U., L. Bridges, M. C. Shih, P. E. Marik, R. A. Siemieniuk and M. Kocak (2016). "Prolonged glucocorticoid treatment is associated with improved ARDS outcomes: analysis of individual patients' data from four randomized trials and trial-level meta-analysis of the updated literature." Intensive Care Med **42**(5): 829-840. DOI: 10.1007/s00134-015-4095-4.

Mercat, A., J. C. Richard, B. Vielle, S. Jaber, D. Osman, J. L. Diehl, J. Y. Lefrant, G. Prat, J. Richecoeur, A. Nieszkowska, C. Gervais, J. Baudot, L. Bouadma, L. Brochard and G. Expiratory Pressure Study (2008). "Positive end-expiratory pressure setting in adults with acute lung injury and acute respiratory distress syndrome: a randomized controlled trial." JAMA **299**(6): 646-655. DOI: 10.1001/jama.299.6.646.

Mintun, M. A., M. E. Raichle, M. R. Kilbourn, G. F. Wooten and M. J. Welch (1984). "A quantitative model for the in vivo assessment of drug binding sites with positron emission tomography." Ann Neurol **15**(3): 217-227. DOI: 10.1002/ana.410150302.

Morris, E. D., Endres, C.J., Schmidt, K.C., Christian, B.T., Muzic, R.F., Fisher, R.E. (2004). Kinetic modeling in Positron Emission Tomography. Emission Tomography. Elsevier.

Mosser, D. M. and J. P. Edwards (2008). "Exploring the full spectrum of macrophage activation." Nat Rev Immunol **8**(12): 958-969. DOI: 10.1038/nri2448.

Motta-Ribeiro, G. C., S. Hashimoto, T. Winkler, R. M. Baron, K. Grogg, L. Paula, A. Santos, C. Zeng, K. Hibbert, R. S. Harris, E. Bajwa and M. F. Vidal Melo (2018). "Deterioration of Regional Lung Strain and Inflammation during Early Lung Injury." Am J Respir Crit Care Med **198**(7): 891-902. DOI: 10.1164/rccm.201710-2038OC.

Muscedere, J. G., J. B. Mullen, K. Gan and A. S. Slutsky (1994). "Tidal ventilation at low airway pressures can augment lung injury." Am J Respir Crit Care Med **149**(5): 1327-1334. DOI: 10.1164/ajrccm.149.5.8173774.

Musch, G., J. G. Venegas, G. Bellani, T. Winkler, T. Schroeder, B. Petersen, R. S. Harris and M. F. Melo (2007). "Regional gas exchange and cellular metabolic activity in ventilator-induced lung injury." Anesthesiology **106**(4): 723-735. DOI: 10.1097/01.anes.0000264748.86145.ac.

Nash, G., J. B. Blennerhassett and H. Pontoppidan (1967). "Pulmonary lesions associated with oxygen therapy and artifical ventilation." N Engl J Med **276**(7): 368-374. DOI: 10.1056/NEJM196702162760702.

National Heart Lung Blood Institute, Acute Respiratory Distress Syndrome Clinical Trials Network, H. P. Wiedemann, A. P. Wheeler, G. R. Bernard, B. T. Thompson, D. Hayden, B. deBoisblanc, A. F. Connors, Jr., R. D. Hite and A. L. Harabin (2006). "Comparison of two fluid-management strategies in acute lung injury." N Engl J Med **354**(24): 2564-2575. DOI: 10.1056/NEJMoa062200.

National Heart Lung Blood Institute, Petal Clinical Trials Network, M. Moss, D. T. Huang, R. G. Brower, N. D. Ferguson, A. A. Ginde, M. N. Gong, C. K. Grissom, S. Gundel, D. Hayden, R. D. Hite, P. C. Hou, C. L. Hough, T. J. Iwashyna, A. Khan, K. D. Liu, D. Talmor, B. T. Thompson, C. A. Ulysse, D. M. Yealy and D. C. Angus (2019). "Early Neuromuscular Blockade in the Acute Respiratory Distress Syndrome." N Engl J Med **380**(21): 1997-2008. DOI: 10.1056/NEJMoa1901686.

Papadopoulos, V., M. Baraldi, T. R. Guilarte, T. B. Knudsen, J. J. Lacapere, P. Lindemann, M. D. Norenberg, D. Nutt, A. Weizman, M. R. Zhang and M. Gavish (2006). "Translocator protein (18kDa): new nomenclature for the peripheral-type benzodiazepine receptor based on its structure and molecular function." Trends Pharmacol Sci **27**(8): 402-409. DOI: 10.1016/j.tips.2006.06.005.

Papazian, L., C. Doddoli, B. Chetaille, Y. Gernez, X. Thirion, A. Roch, Y. Donati, M. Bonnety, C. Zandotti and P. Thomas (2007). "A contributive result of open-lung biopsy improves survival in acute respiratory distress syndrome patients." Crit Care Med **35**(3): 755-762. DOI: 10.1097/01.CCM.0000257325.88144.30.

Papazian, L., J. M. Forel, A. Gacouin, C. Penot-Ragon, G. Perrin, A. Loundou, S. Jaber, J. M. Arnal, D. Perez, J. M. Seghboyan, J. M. Constantin, P. Courant, J. Y. Lefrant, C. Guerin, G. Prat, S. Morange, A. Roch and A. S.

Investigators (2010). "Neuromuscular blockers in early acute respiratory distress syndrome." N Engl J Med **363**(12): 1107-1116. DOI: 10.1056/NEJMoa1005372.

Papazian, L., M. Gainnier, V. Marin, S. Donati, J. M. Arnal, D. Demory, A. Roch, J. M. Forel, P. Bongrand, F. Bregeon and J. M. Sainty (2005). "Comparison of prone positioning and high-frequency oscillatory ventilation in patients with acute respiratory distress syndrome." Crit Care Med **33**(10): 2162-2171. DOI: 10.1097/01.ccm.0000181298.05474.2b.

Paula, L. F., T. J. Wellman, T. Winkler, P. M. Spieth, A. Guldner, J. G. Venegas, M. Gama de Abreu, A. R. Carvalho and M. F. Vidal Melo (2016). "Regional tidal lung strain in mechanically ventilated normal lungs." J Appl Physiol (1985) **121**(6): 1335-1347. DOI: 10.1152/japplphysiol.00861.2015.

Pelosi, P., D. Tubiolo, D. Mascheroni, P. Vicardi, S. Crotti, F. Valenza and L. Gattinoni (1998). "Effects of the prone position on respiratory mechanics and gas exchange during acute lung injury." Am J Respir Crit Care Med **157**(2): 387-393. DOI: 10.1164/ajrccm.157.2.97-04023.

Phelps, M. E., S. C. Huang, E. J. Hoffman, C. Selin, L. Sokoloff and D. E. Kuhl (1979). "Tomographic measurement of local cerebral glucose metabolic rate in humans with (F-18)2-fluoro-2-deoxy-D-glucose: validation of method." Ann Neurol **6**(5): 371-388. DOI: 10.1002/ana.410060502.

Prando, S., C. G. Carneiro, C. C. Robilotta and M. T. Sapienza (2019). "Comparison of different quantification methods for 18F-fluorodeoxyglucose-positron emission tomography studies in rat brains." Clinics (Sao Paulo) **74**: e1273. DOI: 10.6061/clinics/2019/e1273.

Protti, A., D. T. Andreis, M. Monti, A. Santini, C. C. Sparacino, T. Langer, E. Votta, S. Gatti, L. Lombardi, O. Leopardi, S. Masson, M. Cressoni and L. Gattinoni (2013). "Lung stress and strain during mechanical ventilation: any difference between statics and dynamics?" Crit Care Med **41**(4): 1046-1055. DOI: 10.1097/CCM.0b013e31827417a6.

Protti, A., M. Cressoni, A. Santini, T. Langer, C. Mietto, D. Febres, M. Chierichetti, S. Coppola, G. Conte, S. Gatti, O. Leopardi, S. Masson, L. Lombardi, M. Lazzerini, E. Rampoldi, P. Cadringher and L. Gattinoni (2011). "Lung stress and strain during mechanical ventilation: any safe threshold?" Am J Respir Crit Care Med **183**(10): 1354-1362. DOI: 10.1164/rccm.201010-1757OC.

Pugliese, F., O. Gaemperli, A. R. Kinderlerer, F. Lamare, J. Shalhoub, A. H. Davies, O. E. Rimoldi, J. C. Mason and P. G. Camici (2010). "Imaging of vascular inflammation with [11C]-PK11195 and positron emission tomography/computed tomography angiography." J Am Coll Cardiol **56**(8): 653-661. DOI: 10.1016/j.jacc.2010.02.063.

Ranieri, V. M., P. M. Suter, C. Tortorella, R. De Tullio, J. M. Dayer, A. Brienza, F. Bruno and A. S. Slutsky (1999). "Effect of mechanical ventilation on inflammatory mediators in patients with acute respiratory distress syndrome: a randomized controlled trial." JAMA **282**(1): 54-61.

RECOVERY Collaborative Group, P. Horby, W. S. Lim, J. R. Emberson, M. Mafham, J. L. Bell, L. Linsell, N. Staplin, C. Brightling, A. Ustianowski, E. Elmahi, B. Prudon, C. Green, T. Felton, D. Chadwick, K. Rege, C. Fegan, L. C. Chappell, S. N. Faust, T. Jaki, K. Jeffery, A. Montgomery, K. Rowan, E. Juszczak, J. K. Baillie, R. Haynes and M. J. Landray (2021). "Dexamethasone in Hospitalized Patients with Covid-19." N Engl J Med **384**(8): 693-704. DOI: 10.1056/NEJMoa2021436.

Reske, A. W., H. Busse, M. B. Amato, M. Jaekel, T. Kahn, P. Schwarzkopf, D. Schreiter, U. Gottschaldt and M. Seiwerts (2008). "Image reconstruction affects computer tomographic assessment of lung hyperinflation." Intensive Care Med **34**(11): 2044-2053. DOI: 10.1007/s00134-008-1175-8.

Retamal, J., D. Hurtado, N. Villarroel, A. Bruhn, G. Bugedo, M. B. P. Amato, E. L. V. Costa, G. Hedenstierna, A. Larsson and J. B. Borges (2018). "Does Regional Lung Strain Correlate With Regional Inflammation in Acute Respiratory Distress Syndrome During Nonprotective Ventilation? An Experimental Porcine Study." Crit Care Med **46**(6): e591-e599. DOI: 10.1097/CCM.0000000000003072.

Revillard, J. P. and Association des enseignants d'immunologie des universités de langue française Immunologie.

Ricard, J. D., D. Dreyfuss and G. Saumon (2001). "Production of inflammatory cytokines in ventilator-induced lung injury: a reappraisal." Am J Respir Crit Care Med **163**(5): 1176-1180. DOI: 10.1164/ajrccm.163.5.2006053.

Richard, J.-C. and L. Bitker (2016). Scanner et tomographie par émission de positons. Traité de Réanimation. Masson. **3:** 695.

Richard, J. C. (2011). "Imaging ventilator induced lung injury with PET." Crit Care.

Richard, J. C., F. Bregeon, N. Costes, D. L. Bars, C. Tourvieille, F. Lavenne, M. Janier, G. Bourdin, G. Gimenez and C. Guerin (2008). "Effects of prone position and positive end-expiratory pressure on lung perfusion and ventilation." Crit Care Med **36**(8): 2373-2380. DOI: 10.1097/CCM.0b013e31818094a9.

Richard, J. C., M. Janier, F. Decailliot, D. Le Bars, F. Lavenne, V. Berthier, M. Lionnet, L. Cinotti, G. Annat and C. Guerin (2002). "Comparison of PET with radioactive microspheres to assess pulmonary blood flow." J Nucl Med **43**(8): 1063-1071.

Richard, J. C., S. Marque, A. Gros, M. Muller, G. Prat, G. Beduneau, J. P. Quenot, J. Dellamonica, R. Tapponnier, E. Soum, L. Bitker, J. Richecoeur and R. r. network (2019). "Feasibility and safety of ultra-low tidal volume ventilation without extracorporeal circulation in moderately severe and severe ARDS patients." Intensive Care Med **45**(11): 1590-1598. DOI: 10.1007/s00134-019-05776-x.

Richter, T., G. Bellani, R. Scott Harris, M. F. Vidal Melo, T. Winkler, J. G. Venegas and G. Musch (2005). "Effect of prone position on regional shunt, aeration, and perfusion in experimental acute lung injury." Am J Respir Crit Care Med **172**(4): 480-487. DOI: 10.1164/rccm.200501-004OC.

Rissanen, E., J. Tuisku, J. Rokka, T. Paavilainen, R. Parkkola, J. O. Rinne and L. Airas (2014). "In Vivo Detection of Diffuse Inflammation in Secondary Progressive Multiple Sclerosis Using PET Imaging and the Radioligand (1)(1)C-PK11195." J Nucl Med **55**(6): 939-944. DOI: 10.2967/jnumed.113.131698.

Rodrigues, R. S., P. R. Miller, F. A. Bozza, E. Marchiori, G. A. Zimmerman, J. M. Hoffman and K. A. Morton (2008). "FDG-PET in patients at risk for acute respiratory distress syndrome: a preliminary report." Intensive Care Med **34**(12): 2273-2278. DOI: 10.1007/s00134-008-1220-7.

Roivainen, A., K. Nagren, J. Hirvonen, V. Oikonen, P. Virsu, T. Tolvanen and J. O. Rinne (2009). "Whole-body distribution and metabolism of [N-methyl-11C](R)-1-(2-chlorophenyl)-N-(1-methylpropyl)-3-isoquinolinecarboxamide in humans; an imaging agent for in vivo assessment of peripheral benzodiazepine receptor activity with positron emission tomography." Eur J Nucl Med Mol Imaging **36**(4): 671-682. DOI: 10.1007/s00259-008-1000-1.

Rosseau, S., P. Hammerl, U. Maus, H. D. Walmrath, H. Schutte, F. Grimminger, W. Seeger and J. Lohmeyer (2000). "Phenotypic characterization of alveolar monocyte recruitment in acute respiratory distress syndrome." Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol **279**(1): L25-35. DOI: 10.1152/ajplung.2000.279.1.L25.

Santa Cruz, R., J. I. Rojas, R. Nervi, R. Heredia and A. Ciapponi (2013). "High versus low positive end-expiratory pressure (PEEP) levels for mechanically ventilated adult patients with acute lung injury and acute respiratory distress syndrome." Cochrane Database Syst Rev(6): CD009098. DOI: 10.1002/14651858.CD009098.pub2.

Schroeder, T., M. F. Vidal Melo, G. Musch, R. S. Harris, J. G. Venegas and T. Winkler (2007). "Image-derived input function for assessment of 18F-FDG uptake by the inflamed lung." J Nucl Med **48**(11): 1889-1896. DOI: 10.2967/jnumed.107.041079.

Schroeder, T., M. F. Vidal Melo, G. Musch, R. S. Harris, J. G. Venegas and T. Winkler (2008). "Modeling pulmonary kinetics of 2-deoxy-2-[18F]fluoro-D-glucose during acute lung injury." Acad Radiol **15**(6): 763-775. DOI: 10.1016/j.acra.2007.12.016.

Schultz, J., R. Siekkinen, M. J. Tadi, M. Teras, R. Klen, E. Lehtonen, A. Saraste and J. Teuho (2021). "Effect of respiratory motion correction and CT-based attenuation correction on dual-gated cardiac PET image quality and quantification." J Nucl Cardiol. DOI: 10.1007/s12350-021-02769-6.

Schuster, D. P. (1998). "The evaluation of lung function with PET." Semin Nucl Med **28**(4): 341-351.

Shah, F., S. P. Hume, V. W. Pike, S. Ashworth and J. McDermott (1994). "Synthesis of the enantiomers of [N-methyl-11C]PK 11195 and comparison of their behaviours as radioligands for PK binding sites in rats." Nucl Med Biol **21**(4): 573-581. DOI: 10.1016/0969-8051(94)90022-1.

Sokoloff, L., M. Reivich, C. Kennedy, M. H. Des Rosiers, C. S. Patlak, K. D. Pettigrew, O. Sakurada and M. Shinohara (1977). "The [14C]deoxyglucose method for the measurement of local cerebral glucose utilization: theory,

procedure, and normal values in the conscious and anesthetized albino rat." J Neurochem **28**(5): 897-916. DOI: 10.1111/j.1471-4159.1977.tb10649.x.

Talmor, D., T. Sarge, A. Malhotra, C. R. O'Donnell, R. Ritz, A. Lisbon, V. Novack and S. H. Loring (2008). "Mechanical ventilation guided by esophageal pressure in acute lung injury." N Engl J Med **359**(20): 2095-2104. DOI: 10.1056/NEJMoa0708638.

Talmor, D., T. Sarge, C. R. O'Donnell, R. Ritz, A. Malhotra, A. Lisbon and S. H. Loring (2006). "Esophageal and transpulmonary pressures in acute respiratory failure." Crit Care Med **34**(5): 1389-1394. DOI: 10.1097/01.CCM.0000215515.49001.A2.

Terragni, P. P., L. Del Sorbo, L. Mascia, R. Urbino, E. L. Martin, A. Birocco, C. Faggiano, M. Quintel, L. Gattinoni and V. M. Ranieri (2009). "Tidal volume lower than 6 ml/kg enhances lung protection: role of extracorporeal carbon dioxide removal." Anesthesiology **111**(4): 826-835. DOI: 10.1097/ALN.0b013e3181b764d2.

Terragni, P. P., C. Filippini, A. S. Slutsky, A. Birocco, T. Tenaglia, S. Grasso, T. Stripoli, D. Pasero, R. Urbino, V. Fanelli, C. Faggiano, L. Mascia and V. M. Ranieri (2013). "Accuracy of plateau pressure and stress index to identify injurious ventilation in patients with acute respiratory distress syndrome." Anesthesiology **119**(4): 880-889. DOI: 10.1097/ALN.0b013e3182a05bb8.

Terragni, P. P., G. Rosboch, A. Tealdi, E. Corno, E. Menaldo, O. Davini, G. Gandini, P. Herrmann, L. Mascia, M. Quintel, A. S. Slutsky, L. Gattinoni and V. M. Ranieri (2007). "Tidal hyperinflation during low tidal volume ventilation in acute respiratory distress syndrome." Am J Respir Crit Care Med **175**(2): 160-166. DOI: 10.1164/rccm.200607-915OC.

The Acute Respiratory Distress Syndrome Network (2000). "Ventilation with lower tidal volumes as compared with traditional tidal volumes for acute lung injury and the acute respiratory distress syndrome." N Engl J Med **342**(18): 1301-1308. DOI: 10.1056/NEJM200005043421801.

The ARDS Definition Task Force (2012). "Acute respiratory distress syndrome: the Berlin Definition." JAMA **307**(23): 2526-2533. DOI: 10.1001/jama.2012.5669.

The PROVE Network Investigators and for the Clinical Trial Network of the European Society of Anaesthesiology (2014). "High versus low positive end-expiratory pressure during general anaesthesia for open abdominal surgery (PROVHILO trial): a multicentre randomised controlled trial." The Lancet **384**(9942): 495-503. DOI: 10.1016/s0140-6736(14)60416-5.

Thie, J. A. (2004). "Understanding the standardized uptake value, its methods, and implications for usage." J Nucl Med **45**(9): 1431-1434.

Tremblay, L., F. Valenza, S. P. Ribeiro, J. Li and A. S. Slutsky (1997). "Injurious ventilatory strategies increase cytokines and c-fos m-RNA expression in an isolated rat lung model." J Clin Invest **99**(5): 944-952. DOI: 10.1172/JCI119259.

Tsuno, K., K. Miura, M. Takeya, T. Kolobow and T. Morioka (1991). "Histopathologic pulmonary changes from mechanical ventilation at high peak airway pressures." Am Rev Respir Dis **143**(5 Pt 1): 1115-1120. DOI: 10.1164/ajrccm/143.5_Pt_1.1115.

van der Laken, C. J., E. H. Elzinga, M. A. Kropholler, C. F. Molthoff, J. W. van der Heijden, K. Maruyama, R. Boellaard, B. A. Dijkmans, A. A. Lammertsma and A. E. Voskuyl (2008). "Noninvasive imaging of macrophages in rheumatoid synovitis using 11C-(R)-PK11195 and positron emission tomography." Arthritis Rheum **58**(11): 3350-3355. DOI: 10.1002/art.23955.

Wang, Y., X. Yue, D. O. Kiesewetter, G. Niu, G. Teng and X. Chen (2014). "PET imaging of neuroinflammation in a rat traumatic brain injury model with radiolabeled TSPO ligand DPA-714." Eur J Nucl Med Mol Imaging **41**(7): 1440-1449. DOI: 10.1007/s00259-014-2727-5.

Ware, L. B. and M. A. Matthay (2000). "The acute respiratory distress syndrome." N Engl J Med **342**(18): 1334-1349. DOI: 10.1056/nejm200005043421806.

Wegener, O. H., P. Koeppe and H. Oeser (1978). "Measurement of lung density by computed tomography." J Comput Assist Tomogr **2**(3): 263-273. DOI: 10.1097/00004728-197807000-00003.

Wellman, T. J., T. Winkler, E. L. Costa, G. Musch, R. S. Harris, H. Zheng, J. G. Venegas and M. F. Vidal Melo (2014). "Effect of local tidal lung strain on inflammation in normal and lipopolysaccharide-exposed sheep*." Crit Care Med **42**(7): e491-500. DOI: 10.1097/CCM.0000000000000346.

Wu, J., Z. Yan, D. E. Schwartz, J. Yu, A. B. Malik and G. Hu (2013). "Activation of NLRP3 inflammasome in alveolar macrophages contributes to mechanical stretch-induced lung inflammation and injury." J Immunol **190**(7): 3590-3599. DOI: 10.4049/jimmunol.1200860.

Yoshida, T., M. B. P. Amato, D. L. Grieco, L. Chen, C. A. S. Lima, R. Roldan, C. C. A. Morais, S. Gomes, E. L. V. Costa, P. F. G. Cardoso, E. Charbonney, J. M. Richard, L. Brochard and B. P. Kavanagh (2018). "Esophageal Manometry and Regional Transpulmonary Pressure in Lung Injury." Am J Respir Crit Care Med. DOI: 10.1164/rccm.201709-1806OC.

Zanotti-Fregonara, P., K. Chen, J. S. Liow, M. Fujita and R. B. Innis (2011). "Image-derived input function for brain PET studies: many challenges and few opportunities." J Cereb Blood Flow Metab **31**(10): 1986-1998. DOI: 10.1038/jcbfm.2011.107.

Zimmer, L. and A. Luxen (2012). "PET radiotracers for molecular imaging in the brain: past, present and future." Neuroimage **61**(2): 363-370. DOI: 10.1016/j.neuroimage.2011.12.037.

1. ONLINE SUPPLEMENT DU TRAVAIL N°2

PET kinetic model of macrophagic lung inflammation

Online supplement

Supplemental methods 1 176
Animal conditioning 176
Experimental ARDS 176
Mechanical ventilation management 176
Respiratory mechanics 177
Supplemental methods 2 177
Supplemental methods 3 179
Supplemental methods 4 181
Supplemental methods 5 182
Supplemental methods 6 183
Supplemental results 1: Results of input function determination 185
Invasive input function 185
Image-derived input function 185
Supplemental table 1 186
Supplemental figure 1 187
Supplemental figure 2 188
Supplemental figure 3 190
Supplemental figure 4 191
Supplemental figure 5 192
Supplemental figure 6 193
Supplemental figure 7 194
Supplemental figure 8 196
Supplemental Figure 9 198
Supplemental figure 10 200
Supplemental figure 11 201

Supplemental figure 12 202
References 203

Supplemental methods 1

Protocol 1 was a PET/CT study that evaluated animals immediately before experimental ARDS (PET acquisition T1) and after 4 hours of exposure to experimental ARDS (PET acquisition T2), with half of animals randomized to be in the prone position, and the remaining left in the supine position. In protocol 2, a first PET acquisition (T1) was performed immediately after ARDS induction, and again after 4 hours (T2), with half of animals randomized to receive ultra-low tidal volume ventilation in the supine position, and remaining receiving conventional protective ventilation (**Supplemental figure 2**).

Animal conditioning

After pre-anesthesia medication, pigs weighing 29 [27–30] kg, underwent surgical preparation under continuous general anesthesia (proprofol and fentanyl) and neuromuscular blockade (cisatracurium). The tracheal tube was introduced via median surgical tracheotomy, secured hermetically after cuff inflation, and connected to an eXtend ventilator (Taema, Paris, France). Drugs and radiotracers were injected using a central venous catheter surgically hosted in the right internal jugular vein (left vein in case of ECMO). The animal was also equipped with arterial catheter placed in the left carotid artery for hemodynamic monitoring, and a pulmonary artery catheter placed in the right jugular vein (right vein in case of ECMO) use to perform invasive sampling of the input function.

Experimental ARDS

Experimental acute respiratory distress syndrome was performed by the mean of intra-tracheal instillation of 0.1 M of hydrochloric acid (3 to 5 $ml.kg^{-1}$ of body weight) (*1,2*). Acid instillation was achieved by opening the ventilatory circuit closest to the tracheal tube, and instilling HCl by aliquots of 1 $ml.kg^{-1}$. The first aliquot was administered with the animal in the supine position, the second one with the animal rotated on the left flank, the third aliquot with the animal on his right flank. The severity of experimental ARDS was evaluated by the P_aO_2 to F_iO_2 ratio measured on a arterial blood gas sampled 15 minutes after the last aliquot was administered. If the degree of hypoxia was insufficient (P_aO_2 to F_iO_2 ratio ≤ 300 mm Hg or S_pO_2 > 99% under F_iO_2 1), then another 2 $ml.kg^{-1}$ of HCl was administered intra-tracheally (maximum HCl dose = 5 $ml.kg^{-1}$). The target P_aO_2 to F_iO_2 ratio was < 300 mm Hg in protocol 1, and < 200 mm Hg in protocol 2 (observed P_aO_2 to F_iO_2 ratio = 107 [83–174] mm Hg) (*3*).

Mechanical ventilation management

Before experimental ARDS induction, animals were all ventilated in the supine position with the following parameters: constant inspiratory flow, tidal volume of 6 $ml.kg^{-1}$, positive end-expiratory pressure 5 cm H_2O, respiratory rate of 25 min^{-1}, an inspiratory to expiratory ratio set to maintain the intrinsic PEEP < 1 cm H_2O, an oxygen inspired fraction (F_iO_2) of 0.21 (*4*).

Animals of protocol 1 and animals of the control group of protocol 2 were ventilated with the following settings after experimental ARDS was induced (these parameters were maintained until the end of the study): constant inspiratory flow, tidal volume of 6 $ml.kg^{-1}$, positive end-

expiratory pressure 5 cm H_2O, respiratory rate of 25 min^{-1}, an inspiratory to expiratory ratio set to maintain the intrinsic PEEP < 1 cm H_2O, and an oxygen inspired fraction (F_iO_2) of 1. In control animals of protocol 2, PEEP was increased to keep the plateau pressure between 28 and 30 cm H_2O. Half of animals of protocol 1 were randomized to be in the prone position after ARDS induction, and the remaining left in the supine position.

Animals in the intervention group of protocol 2 were ventilated using the following settings: constant inspiratory flow, V_T decreased in 30 minutes to 1 $ml.kg^{-1}$ for animals under veno-venous ECMO, and to the lowest possible V_T in animals without ECMO (while keeping pH > 7.15), PEEP increased to maintain plateau pressure between 20 and 25 cm H_2O, respiratory rate decreased to 10 min^{-1} in animals under ECMO, and increased to 35 min^{-1} in animals without ECMO, an inspiratory to expiratory ratio set to maintain the intrinsic PEEP < 1 cm H_2O, and an oxygen inspired fraction (F_iO_2) of 1 (*5*). Veno-venous ECMO was performed using a Rotaflow (Maquet Getinge, USA) or a Xenios (Xenios AG, Fresenius, Germany) generator, after surgical femoral and jugular canulation, using a 35 cm/29Fr and a 15 cm/19 Fr catheters, respectively, and isovolumic connection. Oxygenator membranes were Euroset Adulte (Euroset, Italy) or Novalung XLung (Xenios AG, Fresenius, Germany). Pump flow was set at 65 $ml.kg^{-1}$ of body weight, sweep gas at a 1:1 ratio to blood flow, heater unit set to 38°C. Dose of continuous infusion of heparin was 10 $UI.kg^{-1}.h^{-1}$.

Respiratory settings were kept unchanged during all imaging procedures, except during the T2 PET acquisition of protocol 2, during which standard protective ventilation settings were restored in the ultra-low tidal volume study group.

Respiratory mechanics

Respiratory rate, V_T, PEEP and P_{PLAT} were monitored immediately after T1, every 30 min during the 4h period, and again at T2. Total PEEP was measured at the end of a 3-sec expiratory pause. P_{PLAT} was measured at the end of a 3-sec inspiratory pause, to avoid significant overestimation of airway pressure by the release of dynamic pressures (*6*). Arterial blood gas were measured on blood drawn from the carotid catheter, and analyzed on a ABL800 FLEX blood gas analyzer (Radiometer, France), and results were corrected for temperature.

Supplemental methods 2

[^{11}C](R)-PK11195 synthesis was performed on site as previously described, using a C-11 Pro2 synthesizer (iPHASE, Melbourne, Victoria, Australia) (*7*). Radiochemical purity at the end of radiosynthesis was >99%.

A Siemens BioGraph TruePoint PET/CT camera was used for all experiments (Siemens, Germany). The 216-mm longitudinal field-of-view extended over the whole lung area, from the most caudal extremity in sagittal view to the apex. PET acquisitions lasted 60 min, starting at the onset of the [^{11}C](R)-PK11195 injection (body weight dose of 4.8 [4.0–5.7] $MBq.kg^{-1}$). The radiotracer was administered on the proximal port of the central venous line, at a rate of 20 $ml.min^{-1}$ over 30 seconds in animals of protocol 1, and at a rate of 10 $ml.min^{-1}$ over 60 seconds for protocol 2.

PET acquisitions were a dynamic series of 18 frames with increasing durations: 5×12 s, 4×60 s, 7×300 s, and 2×600 s. PET frames were reconstructed in 3D volumes of 112 slices (thickness 2 mm) with in-plane 128×128 matrices (2.1×2.1 mm pixel size). Data were corrected for random coincidences, attenuation (using the preceding transmission CT with similar reconstruction parameters), scatter, and ^{11}C isotope decay.

Volumetric lung regions of interest (ROIs) were drawn on transmission CT scans, using OsiriX (Bernex, Switzerland), excluding intrathoracic large vessels and large airways (*8*). Initial drawing was automatically segmented using the Mialite module for OsiriX (using a radiological attenuation frame between –950 and –50 Hounsfield units [HU]) and secondarily hand-corrected in lung regions that had been erroneously excluded by the automatic segmentation algorithm. Bullae and pneumothorax were excluded from the ROIs. Correct alignment of volumetric ROI mask with PET images was checked visually. Then, 6 lung ROIs were defined by dividing the lung ROI in half along the anteroposterior axis, and then each half was equally divided in three thirds along the cephalo-caudal axis (**Supplemental Figure 3**). Volumetric ROI masks were then applied to PET frames, allowing the computation of regional PET TACs for the 6 lung regions.

Also, transmission CT voxels were indexed using their HU value, to define 4 lung aeration compartments as previously described [nonaerated (-100 to +100), poorly aerated (-500 to -101), normally aerated (-900 to -501), and hyperinflated (-1000 to -901)] (*9*). Based on aeration indexing, PET TACs were generated for each aeration compartment, by matching CT voxels indices with PET voxels.

Finally, F_D in the 6 lung regions was computed using the X-ray attenuation of the transmission CT scan as previously described (*9*). Image post-processing was performed using MatLab (Natick, MA, USA) dedicated scripts.

Supplemental methods 3

$$C_{ROI}(t) = F_B C_{wb}(t) + C_f(t) + C_b(t) + C_{ns}(t) \quad \text{Eq. (1)}$$

$$\frac{dC_f(t)}{dt} = K_1 C_{PK}(t) - (k_2 + k_3 + k_5) C_f(t) + k_4 C_b(t) \quad \text{Eq. (2)}$$

$$\frac{dC_b(t)}{dt} = k_3 C_f(t) - k_4 C_b(t) \quad \text{Eq. (3)}$$

$$\frac{dC_{ns}(t)}{dt} = k_5 C_f(t) \quad \text{Eq. (4)}$$

After Laplacian transform, and rearrangement, we get: Eq. (5)

$$C_f(s) = K_1 \frac{s + k_4}{[s^2 + (k_2 + k_3 + k_4 + k_5)s + k_4(k_2 + k_5)]} \times C_{PK}(s) \quad \text{Eq. (6)}$$

The denominator is of the format $as^2 + bs + c$, with:

$$a = 1$$

$$b = k_2 + k_3 + k_4 + k_5 \quad \text{Eq. (7)}$$

$$c = k_4(k_2 + k_5)$$

Finding the 2 real roots φ_i of a second-degree polynomial gives:

Eq. (8)

$$\varphi_1 = \frac{b + \sqrt{b^2 - 4c}}{2} \text{ and } \varphi_2 = \frac{b - \sqrt{b^2 - 4c}}{2}$$

After factorizing, we get:

$$C_f(s) = K_1 \frac{s + k_4}{(s + \varphi_1)(s + \varphi_2)} \times C_{PK}(s) \quad \text{Eq. (9)}$$

which develops into:

$$C_f(s) = K_1\left[\frac{s}{(s+\varphi_1)(s+\varphi_2)} + \frac{k_4}{(s+\varphi_1)(s+\varphi_2)}\right] \times C_{PK}(s) \quad \text{Eq. (10)}$$

Knowing that $\mathcal{L}^{-1}\left\{\frac{s^n}{\hat{A}(s)}\right\} = \sum_{i=1}^{m} \frac{\varphi_i^n}{\hat{A}'(\varphi_i)} e^{\varphi_i t}$ with φ_i the root of the denominator, after inverse Laplacian transform, we get that: Eq. (11)

$$C_f(t) = \frac{K_1}{\varphi_1 - \varphi_2}\left[(\varphi_1 - k_4)e^{-\varphi_1 t} - (\varphi_2 - k_4)\, e^{-\varphi_2 t}\right] \otimes C_{PK}(t) \quad \text{Eq. (12)}$$

The same development gives:

$$C_b(t) = K_1 k_3\left[\frac{(e^{-\varphi_2 t} - e^{-\varphi_1 t})}{(\varphi_1 - \varphi_2)}\right] \otimes C_{PK}(t) \quad \text{Eq. (13)}$$

The development of the tracer concentration $C_{ns}(t)$ in the non-specific compartment requires the computation of the 3 real roots λ_i of a third-degree polynomial present in the denominator of the following formula:

$$C_{ns}(s) = K_1 k_5 \frac{s + k_4}{[s^3 + (k_2 + k_3 + k_4 + k_5)s^2 + k_4(k_2 + k_5)s]} \times C_{PK}(s) \quad \text{Eq. (14)}$$

The denominator is of the format $as^3 + bs^2 + cs + d$, with:

$$a = 1 \quad \text{Eq. (15)}$$

$$b = k_2 + k_3 + k_4 + k_5$$

$$c = k_4(k_2 + k_5)$$

$$d = 0$$

Finding the 3 real roots λ_i of a third-degree polynomial:

$$p = c - \frac{b^2}{3} \text{ and } q = \frac{b}{27}(2b^2 - 9c) + d \quad \text{Eq. (16)}$$

which further develops into $R = \left(\frac{q}{2}\right)^2 + \left(\frac{p}{3}\right)^3$; $u = \sqrt[3]{-\frac{q}{2} + \sqrt[2]{R}}$; $v = \sqrt[3]{-\frac{q}{2} - \sqrt[2]{R}}$ and $Q = -\frac{u}{2} - \frac{v}{2} - \frac{a}{3}$ Eq. (17)

The 3 real roots are: $\lambda_1 = u + v - \frac{a}{3}$; $\lambda_2 = Q + \frac{1}{2}i\sqrt[2]{3}(u - v)$; $\lambda_3 = Q - \frac{1}{2}i\sqrt[2]{3}(u - v)$ with *i* being the unit imagery number Eq. (18)

After factorizing the third degree polynomial, we get:

$$C_{ns}(s) = K_1 k_5 \frac{s + k_4}{(s - \lambda_1)(s - \lambda_2)(s - \lambda_3)} \times C_{PK}(s) \quad \text{Eq. (19)}$$

Recalling the Laplacian inverse transformation presented in formula 11, we get:

$$C_{ns}(t) = K_1 k_5 \left[\frac{\lambda_1 + k_4}{[\lambda_1(\lambda_1 - \lambda_2 - \lambda_3) + \lambda_2\lambda_3]} e^{\lambda_1 t} + \frac{\lambda_2 + k_4}{[\lambda_2(\lambda_2 - \lambda_1 - \lambda_3) + \lambda_1\lambda_3]} e^{\lambda_2 t} + \frac{\lambda_3 + k_4}{[\lambda_3(\lambda_3 - \lambda_1 - \lambda_2) + \lambda_1\lambda_2]} e^{\lambda_3 t}\right] \otimes C_{PK}(t) \quad \text{Eq. (20)}$$

Supplemental methods 4

First, an invasive IF was obtained during all experiments by the mean of pulmonary arterial blood sampling, consisting of 5 ml blood manual sampling performed at 10, 20, 30, 40, 50 et 60 seconds, and 4, 10, 20, 30 and 50 minutes after PET acquisition start. The sampling line was flushed after each blood draw for samples collected more than 1 minute after PET acquisition onset. A 500 µL aliquot of whole blood was retrieved from each sample and was counted for 30 seconds using a Wizard^2 gamma counter (PerkinElmer, MA, USA), with application of corrections for decay and background noise. Meanwhile, a whole blood sample was centrifugated for 5 minutes at 3000 rpm, and a 500 µL aliquot of supernatant plasma was counted as described above. The gamma-counter was cross-calibrated with the PET camera, and times were synchronized between the 2 devices.

From these invasive measurements, we computed a plasma to blood radioactivity ratio $f_p(t)$, which was secondarily interpolated to PET frame midpoint times of measurement using linear interpolation. In studies in which no invasive plasma to blood ratio was available before or at the time of the first PET mid-frame time (at 6 seconds), then its value was considered as equal to the first invasive obtained plasma to blood ratio.

The image-derived IF was obtained by drawing a 1 cm^3 ROI in the main pulmonary artery. The main pulmonary artery was located using early PET frames (< 1 minute) on which the injected radiotracer was easily identifiable in the vascular lumen. The drawing was made easier by the presence of the pulmonary artery catheter in the lumen of the vessel. Cautious attention was made to exclude the catheter from the ROI to prevent contamination of the image-derived IF by the radiotracer-containing blood present in the catheter during blood sampling.

The image-derived IF was then corrected for partial volume and spill-over phenomena using the methodology developed by Schroeder et al. for [^{18}F]-fluorodeoxyglucose (*10*). Shortly, using 2 values of the invasive IF interpolated to PET frame midpoint times, one early

(corresponding to a invasive IF value measured between 2 and 4 minutes after injection), and one late (50 minutes after injection), the image-derived IF measured in the blood-pool ROI is corrected using a iterative algorithm, which computes a recovery coefficient (RC) and a spillover coefficient (SC), which respectively reflects the partial volume effect which leads to underestimation of the initial part of the non-invasive TAC, and overestimation of the late part of the curve due to spillover from surrounding structures (especially the myocardium). The calibration time point was selected between 3 iterations of the algorithms, performed at 2, 3 and 4 minutes of radiotracer injection. The optimal calibration time point was selected based on the lowest value of mean squared error between the corrected image-derived IF and the reference invasive IF.

The population-based function of fraction of radioactivity originating from the parent compound of [^{11}C](R)-PK11195 in plasma over time was computed using metabolite data obtained from those experiments in which it was performed (N=12) (*11*). In short, parent fraction and metabolites were quantified in 500 µL of plasma sampled at 2, 4, 10, 20 and 30 minutes, using high performance liquid chromatography (LC Hypersil GOLD C8 column, ThermoFisher, MA, USA) (*12*). The peak activity of the parent fraction of [^{11}C](R)-PK11195 is identified at a retention time of 9 minutes or more, with metabolite fractions M1 and M2 being retained earlier. From these parent fraction, the [^{11}C](R)-PK11195 parent fraction was fitted to a simplified version of a previously published function, using α and β as positive fitted parameters (*11*):

$$f_{PK}(t) = \alpha + (1 - \alpha)e^{-\beta t} \quad \text{Eq. (21)}$$

Then, the resulting fit was applied to individual input function to account for the parent fraction of circulation radioligand.

Finally, radiotracer regional tissue arrival delay into the lung ROI was computed using a single-compartment reversible pharmacokinetic model, including a blood fraction compartment, fitted over the first 60 seconds of the ROI TAC (increased to 90 seconds for animals with radiotracer injection over 60 seconds) (*13*). To do this, regional tissue arrival delay ranged from 0 seconds to 6 seconds by steps of 0.1 seconds; for each delay value, a new (image-derived) IF was computed, and the single compartment model was fitted to the ROI TAC. The best delay was selected based on the lowest sum of least-square residuals of the fit. Dispersion was not fitted.

Supplemental methods 5

Simulations were performed to investigate the effects of varying values of regional F_D, regional tissue arrival delay in lung ROI, spillover coefficient (SC) and [^{11}C](R)-PK11195 parent fraction over time f_{PK}(t) on BP_{ND} bias. Bias was defined as the relative difference between the fitted value of BP_{ND} and its theoretical (ideal) value, in % (*14*). For this, a representative image-derived parent plasma IF was used to generate an ideal lung TAC using the 3TCM and the following set of parameters: K_1=3.2 ml of plasma.min^{-1}.ml^{-1} of lung, k_2=1.1 min^{-1}, k_3=0.04 min^{-1}, k_4=0.05 min^{-1}, k_5=0.003 min^{-1}, F_{WB}= 0.14, BP_{ND}= 0.73, spillover coefficient=2.1×10^{-5} min^{-1}, regional arrival delay=3.7 seconds, parent fraction α coefficient =0.15. These values of k_3 and k_4 were used to calculate an ideal BP_{ND} value.

For simulation purposes, parameter range of variation was 0.1 to 0.9 for F_D, 0 sec to 6 sec for tracer regional arrival delay in ROI, 10th percentile to 90th percentile of observed SC values, and 0.01 to 0.5 for the α coefficient of [^{11}C](R)-PK11195 parent fraction model (corresponding to a 1% to 50% fraction of remaining parent compound at 60 minutes). For each level of the varying parameter, a new TAC, was generated with the addition of a 5% or a 10% Gaussian noise to the data, leading to the generation of 1000 TACs with 2 levels of Gaussian noise. Subsequently, fit using the 3TCM was performed on each simulated noisy TAC. Hence, thousand values of simulated binding potentials generated from the simulated curves were compared to the ideal BP_{ND}, to compute the relative bias and coefficient of variation at each level of the studied parameter. Finally, using the ideal TAC generated with the 3TCM, and to which a 10% Gaussian noise was added, we also evaluated the mean bias generated if a 2TCM was applied.

Supplemental methods 6

After the second PET acquisition, animals were euthanized, and their lungs were surgically extracted for pathology analysis. The right lung was divided into 6 regions, reproducing the pattern used to segment PET images. A cubic centimeter sample of each lung region was prepared for pathology analysis with hematoxylin and eosin staining. Macrophage presence and histologic lung injury were evaluated using semi-quantitative scores, following an ordinal scale ranging from 0 to 3 (*15*). These scores were evaluated on 5 to 10 field-of-view at 10x and 40x magnification by a pathologist blinded to study protocols (**Supplementary Methods 4**). The lung injury score was multiplied by the extent of observed tissue damage (ranging from 0 to 100%) to give an extension-weighted lung injury score, which was used in all analyses. Pathology scores were compared to BP_{ND} measured on the second PET acquisition.

Lung pathology scores

	Macrophage Score	**Lung Injury Score***
0	Absence of alveolar macrophage.	Normally-appearing lung or atelectasis (atelectasis *per se* is disregarded and not scored as abnormality)
1	Mild macrophage recruitment, following a scattered pattern.	Mild congestion, interstitial edema, and neutrophilic infiltrate, with red blood cells and/or neutrophils only occasionally in the alveolar spaces
2	Moderate macrophage recruitment, organized in clusters.	Moderate congestion and interstitial edema, with neutrophils partially filling the alveolar spaces but without consolidation
3	Major macrophage recruitment, diffusely distributed.	Marked congestion and interstitial edema, with neutrophilic infiltrate

	nearly or completely filling the alveolar spaces (consolidation)

*For each regional sample, the percentage of extent of histological acute lung injury was multiplied by the histologic score to calculate a weighted lung injury score.

Supplemental results 1: Results of input function determination

Invasive input function

Illustrative transmission CT and PET dynamic acquisition are presented in **Supplemental Figure 11** A representative IF is presented in **Supplemental Figure 12**, with invasive and image-derived curves, plasma to blood ratio, and the population-based parent fraction fit. Pulmonary artery invasive IF and image-derived IF were available for all animals at both PET study times (T1 and T2). The median blood drawing time to sample 5 ml of whole blood using the pulmonary artery catheter was 9 [7–11] seconds. An invasive IF sample drawn before or at 2 minutes was available in all PET studies, allowing the correction for spillover and partial volume in all studies using the method of Schroeder et al.

Image-derived input function

The median [IQR] ROI volume placed in the pulmonary artery was 1246 [773–1712] mm^3. The optimal early PET frame midpoint time for SC and RC computation was 2.5 minutes (mean squared error 539 [261–1345] $(Bq.ml^{-1})^2$). Recovery and spillover coefficients were 0.83 [0.77–0.91] and 3.8 [2.3–6.4] $\times 10^{-5}$ min^{-1}, with no significant difference in SC between PET study times T1 and T2 (p=0.50). SC was significantly different from 0 at T1 and T2 (P<0.001 for both experimental conditions).

The plasma to blood ratio had the following course over time: the plasma to blood ratio increased slowly visually following a logarithmic pattern, with a median value of 0.33 [0.29–0.44] immediately after injection, denoting rapid uptake by blood cells of the radiotracer and/or its metabolites (**Supplemental Figure 12)**. The plasma to blood ratio was equal to 1.05 [0.98–1.12] at 50 minutes.

Finally, the median fitted arrival delay of image-derived IF to the tissue ROI was 3.7 [2.8–4.4] seconds and was significantly associated with the interaction of PET study time and lung ROI.

Finally, parent compound fraction over time was performed in 12 PET studies (31%), and a population-based parent fraction fit was performed using this data (**Supplemental Figure 12**). The following coefficients were determined: α = 0.15 (95% confidence interval, 0.09 to 0.22), β = 0.002 (95% CI, 0.002 to 0.003), root mean squared error = 0.10.

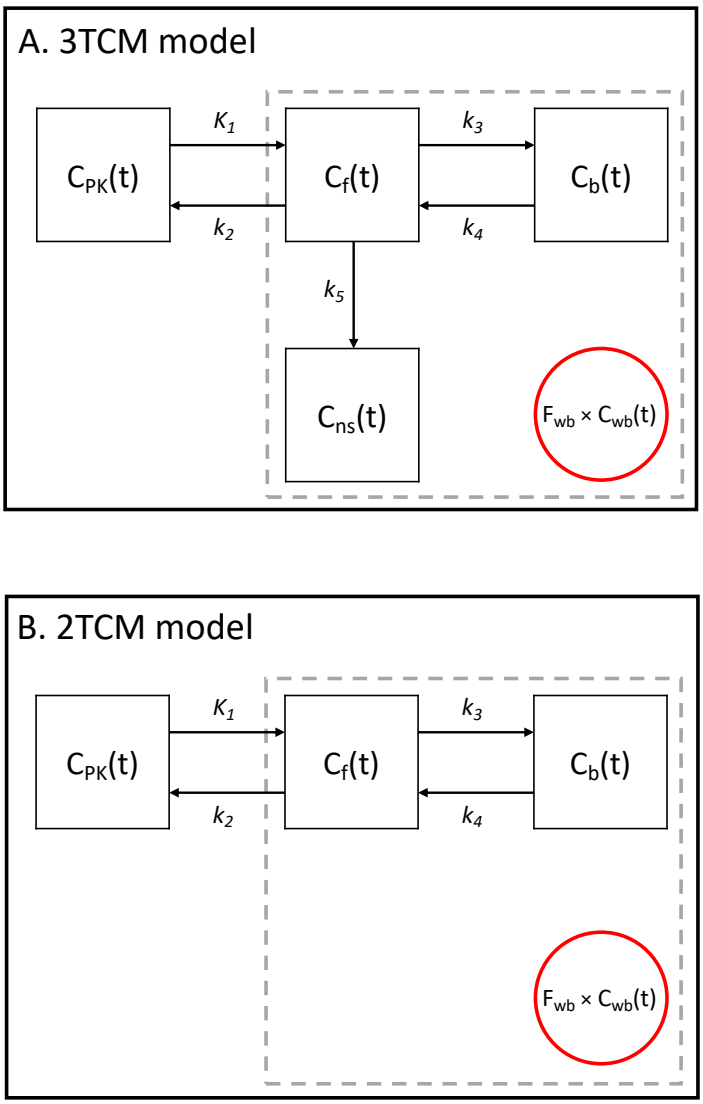
Supplemental table 1

Regional best model parameters based on the presence of experimental ARDS

	Lung ROI						*p* value		
	Antero-cephalic	*Antero-Medial*	*Antero-Caudal*	*Postero-Cephalic*	*Postero-Medial*	*Postero-Caudal*	ROI effect	Exp. condition	Interaction of ROI and condition
ROI density F_D									
No ARDS	0.34 [0.32–0.36]	0.34 [0.33–0.34]	0.31 [0.3–0.32]	0.41 [0.38–0.42]	0.44 [0.42–0.45]	0.56 [0.55–0.58]	-	-	0.01
Early ARDS	0.50 [0.44–0.52][a]	0.49 [0.46–0.50][a]	0.44 [0.4–0.47][a]	0.55 [0.54–0.65][a]	0.67 [0.65–0.73][a]	0.76 [0.68–0.80][a]			
***K_1*, ml of plasma.min-1.ml of lung**									
No ARDS	2.1 [1–2.6]	3 [1.4–3.8]	2.1 [1.1–3]	3.5 [2.3–6.1]	4.2 [2.6–6.5]	3.3 [1.9–5.8]	<0.001	<0.001	0.36
Early ARDS	0.6 [0.5–1]	0.8 [0.5–1.3]	0.6 [0.4–1.1]	2.4 [1.7–2.8]	2.9 [1.9–3.4]	2.6 [1.5–2.9]			
BP_{ND} (k_3 to k_4 ratio)									
No ARDS	0.58 [0.49–0.83]	0.55 [0.45–0.58]	0.75 [0.71–1.09]	0.37 [0.2–0.56]	0.27 [0.13–0.42]	0.44 [0.37–0.76]	<0.001	0.03	0.65
Early ARDS	0.90 [0.74–1.05]	0.96 [0.66–1.30]	0.90 [0.76–1.21]	0.64 [0.4–0.74]	0.54 [0.47–0.96]	0.79 [0.52–0.80]			
k_5, 10^{-3} min^{-1}									
No ARDS	3.7 [0.0–8.8]	0.0 [0.0–5.4]	2.4 [0.0–8.6]	0.0 [0.0–3.0]	0.0 [0.0–2.0]	1.6 [0.0–4.4]	-	-	0.04
Early ARDS	12.8 [6.5–17.6][a]	8.5 [2.4–14.4]	8.0 [6.1–14.3]	2.1 [0.0–4.9]	2.8 [0.5–6.7]	3.4 [1.2–6.6]			

Data is presented with median and interquartile range in brackets.
In the case of a significant interaction between lung ROI and experimental conditions, a pairwise post-hoc analysis was performed. a: $p<0.05$ compared to *no ARDS* experimental condition in the same lung ROI in the post-hoc pairwise analysis. ARDS: acute respiratory value; BP_{ND}: binding potential; ROI: region-of-interest

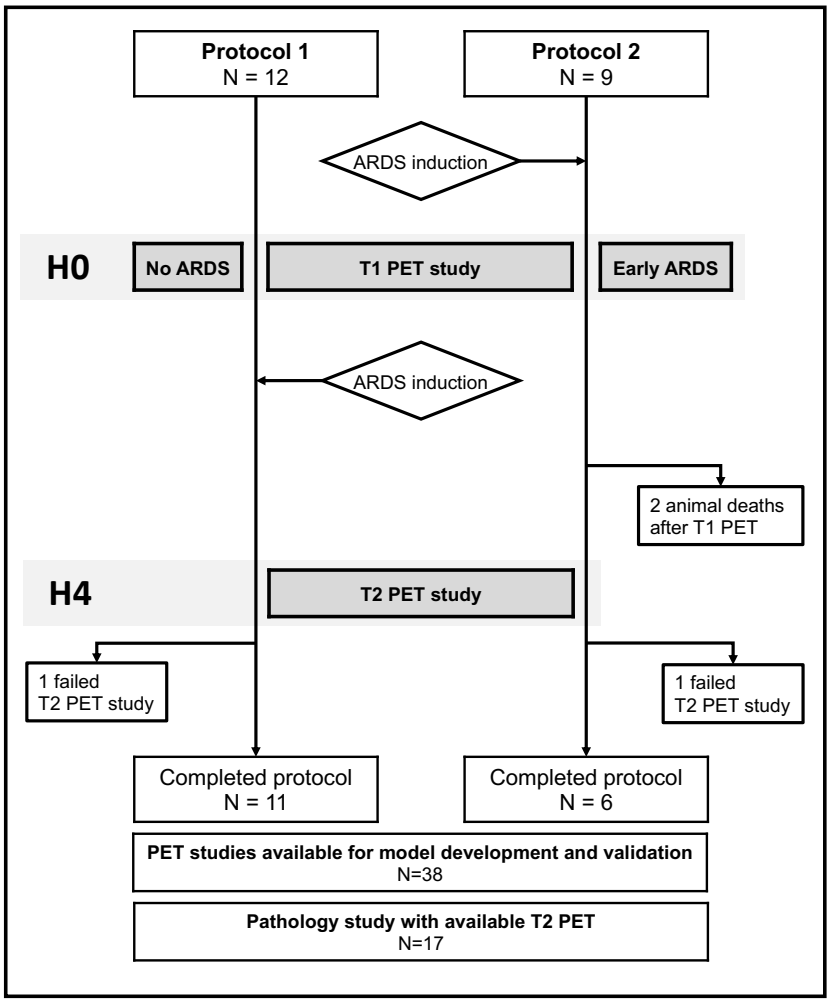
Supplemental figure 1



[^{11}C](R)-PK11195 pharmacokinetic compartment models

Panel A shows the 3-compartment kinetic model of [^{11}C](R)-PK11195 uptake in the lung, using a plasma input function $C_{PK}(t)$. $C_f(t)$ is the concentration of free parent tracer in lung tissue over time (compartment #1), $C_b(t)$ is the concentration of parent compound bound to the TSPO receptor in the ROI over time (compartment #2), and $C_{ns}(t)$ is the concentration of tracer non-specifically and irreversibly trapped in the tissue over time (compartment #3). $F_{WB}\times C_{wb}(t)$ represents the fractional concentration of whole blood present in the ROI over time. The lung ROI is represented by the dashed grey line. Rate constants k_x are associated with arrows showing the direction of the kinetic transfer they describe. Panel B shows the two-tissue compartment model (2TCM), with the same design as the model presented in panel A, without the irreversible non-specific compartment. ROI: region of interest; 2TCM: two-tissue compartment model; 3TCM: three-tissue compartment model; TSPO: translocator protein.

Supplemental figure 2

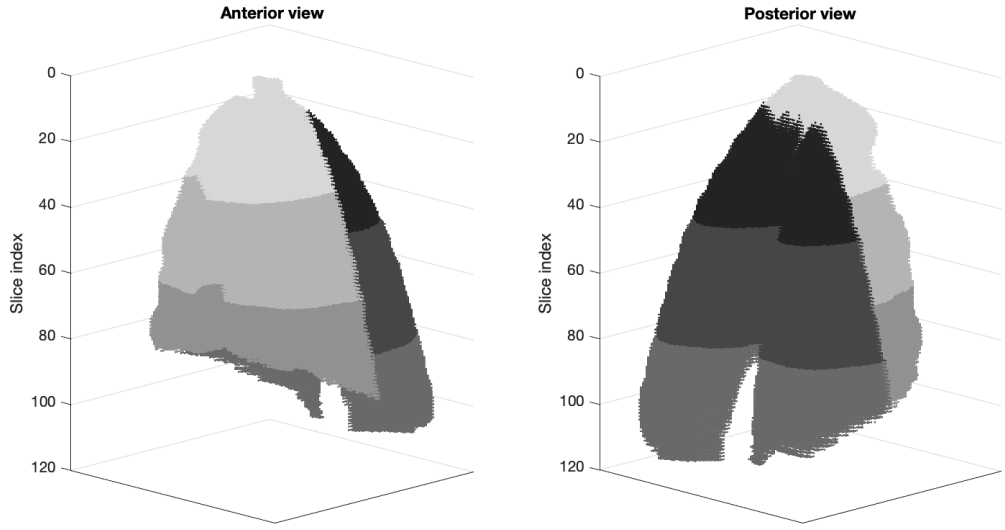


Study flowchart

The figure summarizes main protocol steps and the number of animals studied at each study step. Protocol 1 consisted of 2 PET/CT studies that evaluated animals before experimental ARDS, and after 4 hours of experimental ARDS, with half of animals randomized to be proned for 4 hours. In Protocol 2, the first PET acquisitions were performed immediately after ARDS induction, and again after 4 hours, with half of animals randomized to receive ultra-low tidal volume ventilation, compared to conventional protective ventilation. Hence, in T1 PET studies, 2 types of experimental conditions were defined: *no ARDS* corresponding to PET studies performed on healthy lungs (protocol 1), and *early ARDS* corresponding to PET studies on injured lungs immediately after ARDS induction (protocol 2). At T2, all animals had experimental ARDS by design. In both protocols, H0 corresponded to the end of the first PET study, from which the 4-hours study period started. Successful protocols ended with surgical lung extraction and pathology study of lung samples. Animal deaths in protocol 2 were related to refractory vasoplegic shock. Failed T2 PET studies were related to failed [^{11}C](R)-PK11195

radiosynthesis. ARDS: acute respiratory distress syndrome; PET: positron emission tomography.

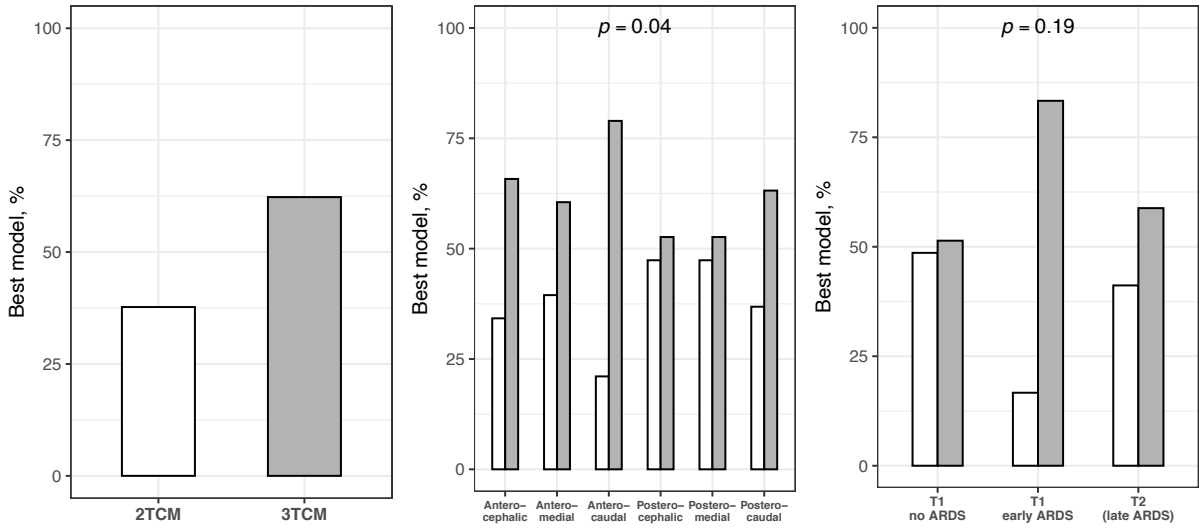
Supplemental figure 3



Lung ROI segmentation

The figure shows a 3D representation of the regional segmentation performed on PET/CT images in the present study. The 6 regions are represented using a gray scale, with anterior regions with lighter gray, compared to posterior regions.

Supplemental figure 4



Distribution of algorithm-based model selection

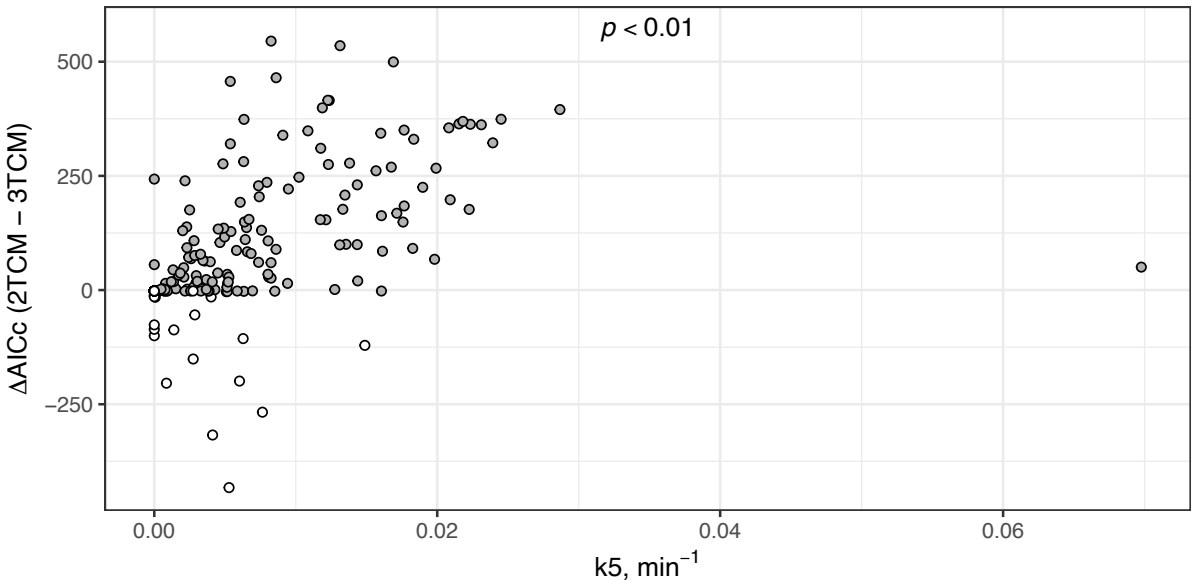
The three panels show the proportion of preferred kinetic model (3TCM or 2TCM) selected by the algorithm in each lung ROI, with the first panel showing the overall distribution of model selection, the second panel showing how the proportion varied between lung ROIs, and the third panel showing the proportion of preferred model based on experimental condition (T1 with no ARDS, T1 with early ARDS, and T2 = late ARDS). The *p* values examine the difference in distribution of model selection between lung ROIs or ARDS type, using a generalized regression analysis with mixed effects, using the animal identification number as the random effect. There was a significant difference in model selection distribution between the antero-caudal ROI, and the postero-medial and postero-caudal ROIs in the pairwise post-hoc analysis. ARDS: acute respiratory distress syndrome; ROI: region of interest; 2TCM: two-tissue compartment model; 3TCM: three-tissue compartment kinetic model.

Supplemental figure 5

Model fit residual analysis

The figure shows the residual values (black dots) of each individual region fit of the best model selected by the algorithm, pooled by animal and PET study time (T1 or T2). Red dots help identify the 5 lung ROIs in which the fit quality was deemed insufficient due to large residual values (> 5000 $Bq.ml^{-1}$), and/or systematic bias in the residuals.

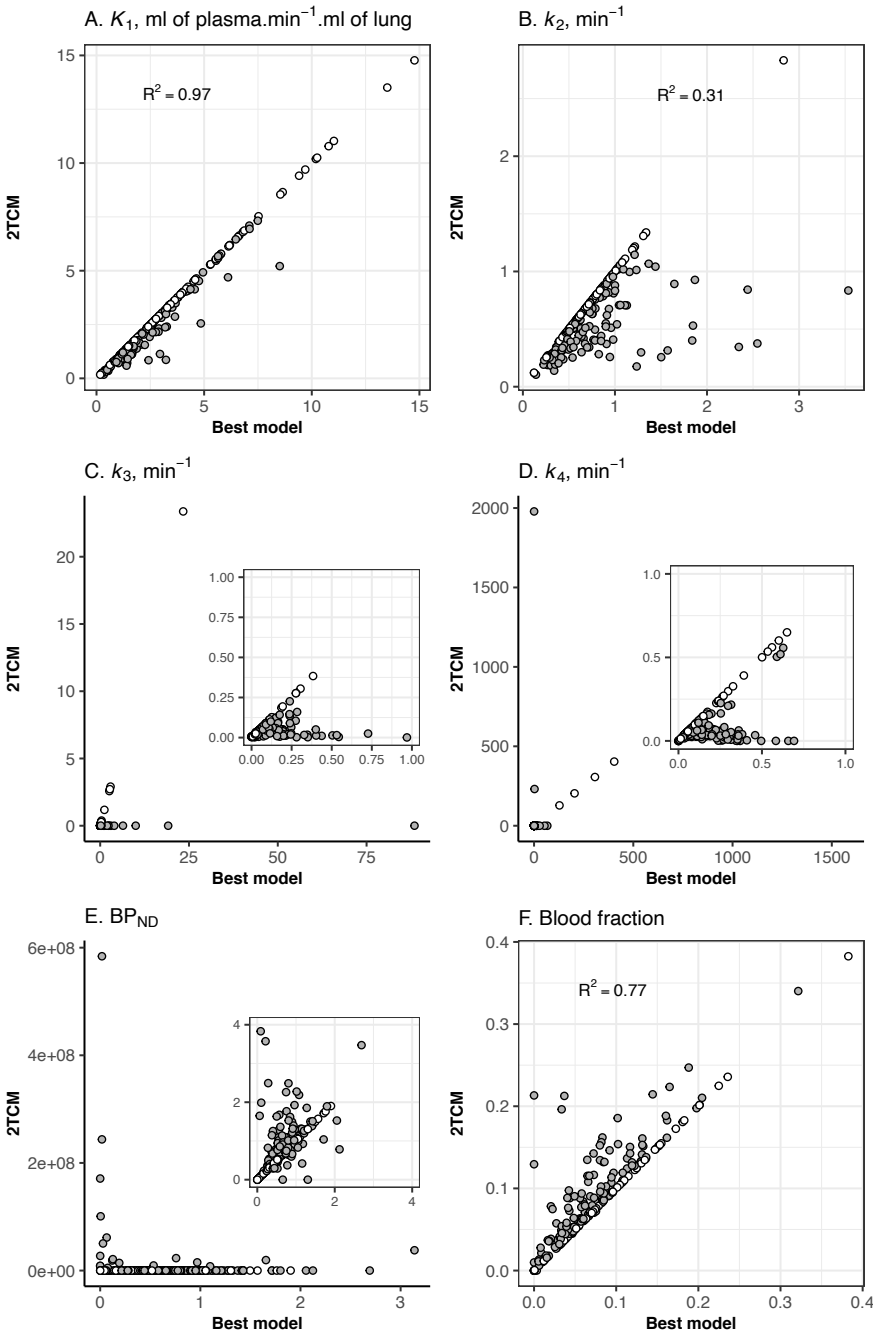
Supplemental figure 6



Association of goodness of fit with the k_5 constant rate

The figure shows the ΔAICc between the two models used to fit the data (3TCM or 2TCM) in all lung regions of all animals and at all study times. The grey dots represent the 3TCM-type ROI, and the open dots the 2TCM-type ROIs, after application of the selection algorithm. The ΔAICc difference is plotted against the ROI k_5 rate constant, to observe its impact on the algorithm result. The *p* value examines the association between the studied variable and the ΔAICc, using a mixed effects linear model, in which the animal ID was sued as the random effect to account for the repetition of measurements in a given animal. Marginal R2 of the linear regression = 0.25. ΔAICc: difference in corrected Akaike information criterion; ROI: region of interest.

Supplemental figure 7

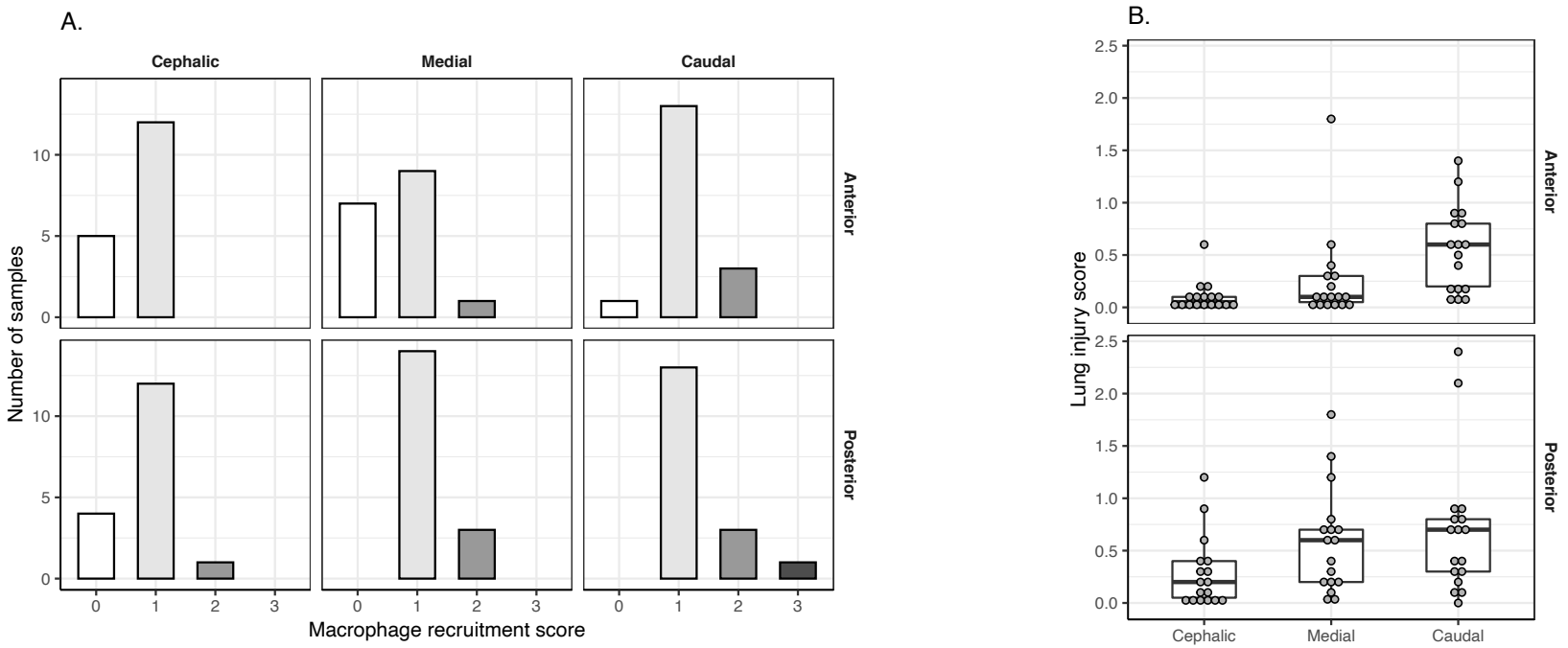


Correlation of the 2TCM derived parameters with the best model-derived parameters

The figure shows the relationship between the regional rate constant K_1 (panel A), k_2 (B), k_3 (C), k_4 (D), BP_{ND} (E) and blood fraction (F) estimated by the best model (TCM or 2TCM) in each lung ROI using the selection algorithm, against the same parameter estimated by the 2TCM model. Panel C, D et E show an inset due to the existence of outliers. Grey dots correspond to TCM-type ROI and open dots to 2TCM-type ROIs, as per the selection algorithm decision for the best model. The marginal R^2 examine the strength of correlation between the 2 fixed variables, estimated from a linear mixed effects model (with the animal ID as random effect), taking into account the repetition of measurements in a given animal. The marginal R2

is only presented in case of significant association with linear regression. BP_{ND}: binding potential; ROI: region of interest; TCM: three-compartment model.

Supplemental figure 8



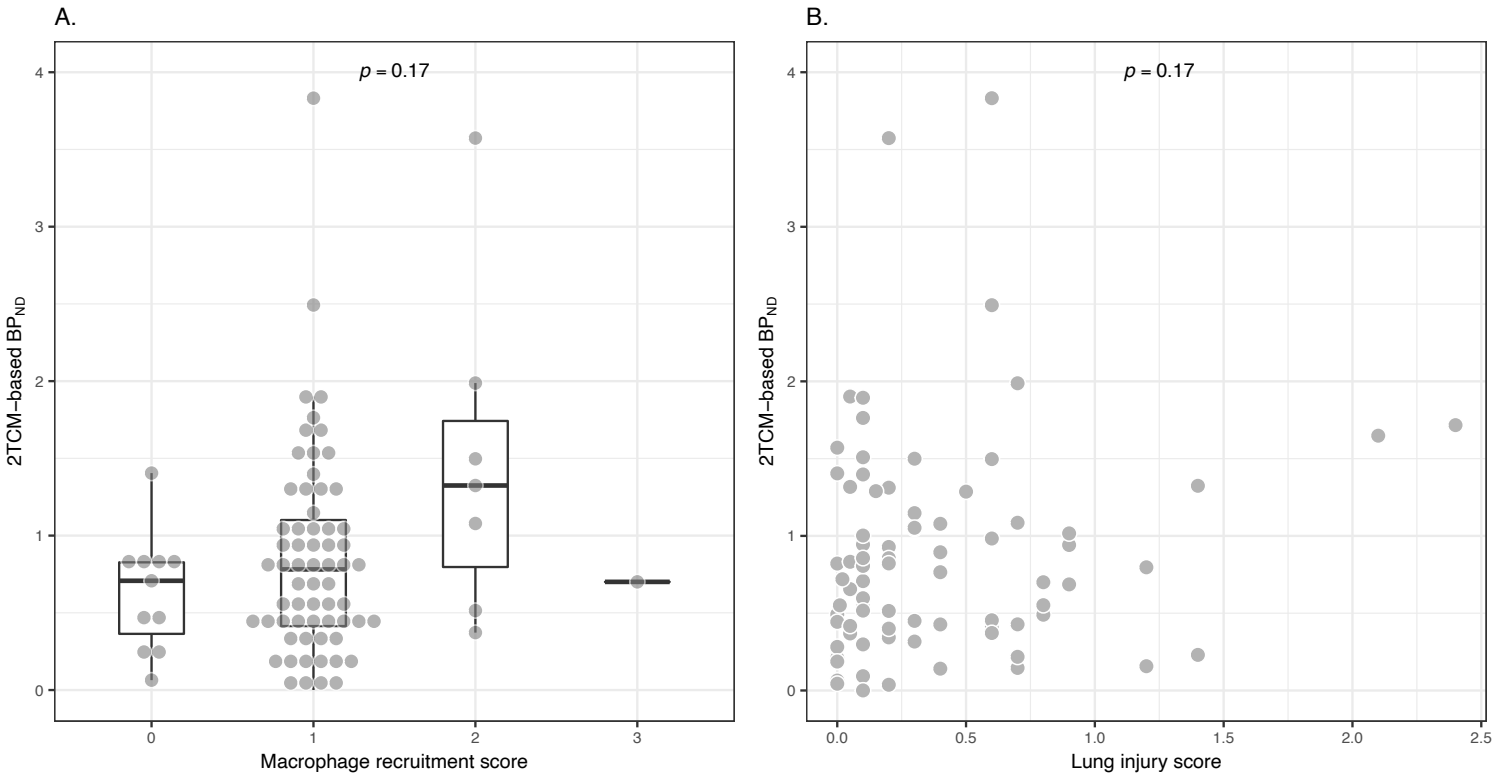
Regional distribution of pathology scores

Panel A shows the distribution of macrophage recruitment score in the 6 lung ROIs, ranging from 0 to 3 (with a gray scale). The vertical bar represents the number of samples with a given score in a lung region, over a total of 102 pathology samples (i.e. obtained in the 17 animals with complete T2 PET studies). There was a significant difference in the distribution of macrophage score between regions, with the antero-caudal, the postero-medial and the postero-caudal regions showing a significantly higher number of high scores, compared to the antero-cephalic region ($P<0.001$), with nearly all 3 regions showing no scores of 0 (statistical method: linear mixed effect regression, with the macrophage score considered as a continuous variable, and the lung region as the fixed effect and the animal ID as the random effect to account for the repetition of measurements in a given animal).

Panel B shows the histologic lung injury score in the 6 lung ROIs, with a boxplot summarizing the data in each lung ROI. The score was significantly higher in the antero-caudal, the postero-medial and the postero-caudal regions, compared to the antero-cephalic region ($P<0.001$, statistical

method: linear mixed effect regression, with the ALI score considered as a continuous variable, and the lung region as the fixed effect and the animal ID as the random effect to account for the repetition of measurements in a given animal). ROI: region-of-interest.

Supplemental Figure 9

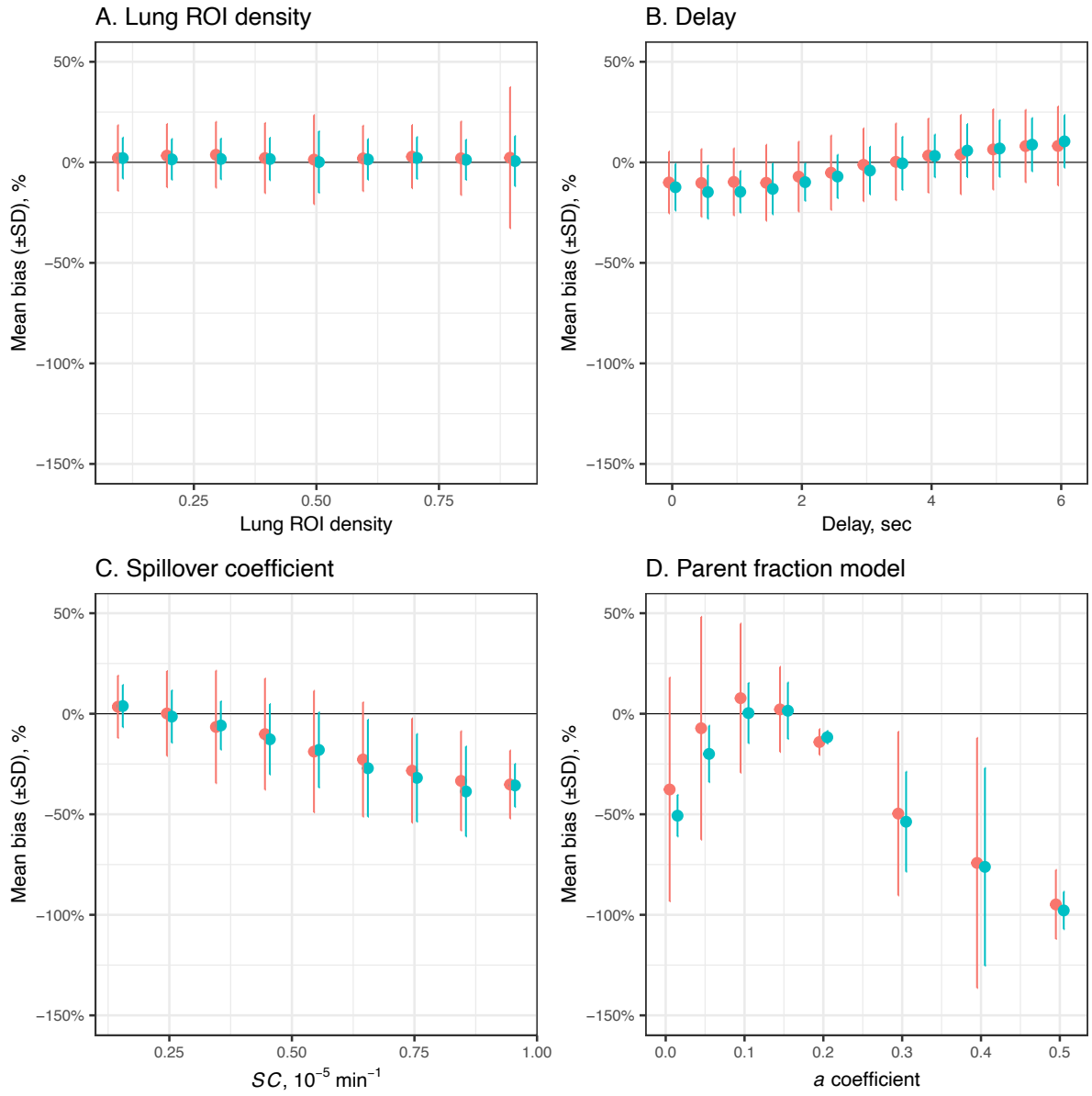


Association of [^{11}C](R)-PK11195 binding potential derived form the 2TCM with lung pathology scores

The figure shows the values of BP_{ND} computed by the 2TCM model, as a function of the macrophage recruitment score (panel A) and of the lung injury score (panel B) in all animals with available pathology samples (N=17). For graphical representation purposes, we excluded from this analysis all ROIs with BP_{ND} value > 10^6 (N=19/102, 18%). The dots show the individual regional BP_{ND}. In panel A, the boxplot help summarize the individual regional data for each macrophage score value (0 to 3). The *p* value examines the association of pathology scores with BP_{ND} regional

values, using linear regression analysis with mixed effects, in which the animal number is the random effect to account for the repetition of measurements. BP_{ND}: binding potential.

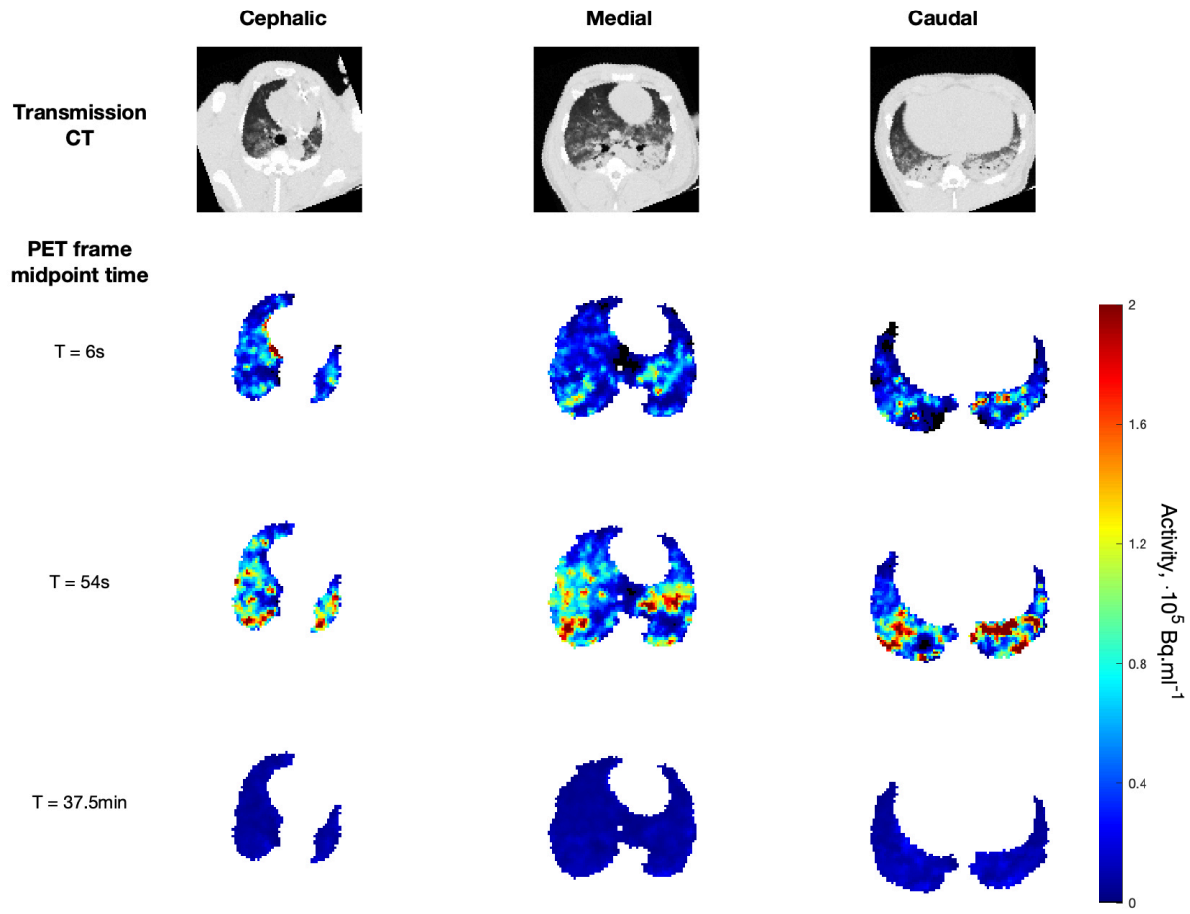
Supplemental figure 10



[^{11}C](R)-PK11195 binding potential bias estimated with simulation studies

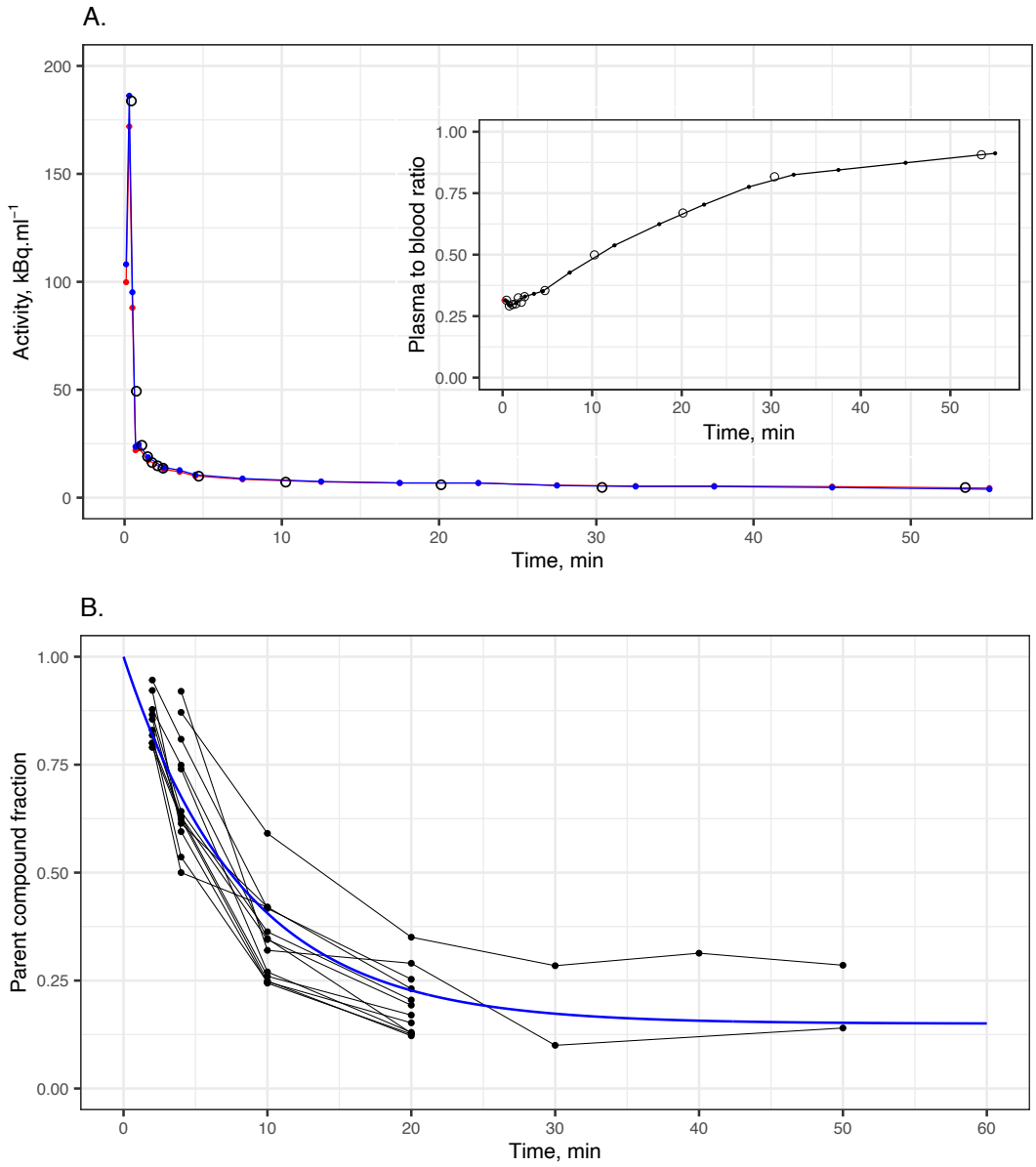
The figure shows the bias in simulated BP_{ND} across a realistic range of values of lung ROI density (A), regional arrival delay (B), spillover coefficient (C), and parent compound fraction (D), at 2 levels of gaussian noise (5% in blue, 10% in red). The simulation was performed using thousands fit runs performed on an ideal tissue time-activity curve generated with the coefficients obtained using an ideal input function, to which a 5% or a 10% gaussian noise was added. For each parameter of interest, we varied the variable of interest over a given range: 0.1 to 0.9 fraction for lung ROI density, 0 to 6 seconds for regional arrival delay, 0^{th} to 90^{th} percentile value for SC, and 0.01 to 0.5 for the α coefficient of the parent fraction fit. Bias was estimated as the difference between the simulated BP_{ND} and the ideal BP_{ND}, normalized to the ideal BP_{ND} value (relative bias). The figure shows the mean value of bias with its standard deviation for each value of the studied variable. BP_{ND}: binding potential; F_D: lung ROI density; SC: spillover coefficient; SD: standard deviation.

Supplemental figure 11



Illustrative dynamic lung PET with [11C](R)-PK11195
The figure shows an illustrative CT and PET slice, at the cephalic (1st column), mid-lung (2nd column) and caudal extremity (3rd column) of lungs of an animal with late ARDS. The top row shows the transmission CT scan at each studied level. PET dynamic acquisitions are shown at 6 seconds (12s frame), 54 seconds (12s frame) and 37.5 min (5 min frame) after radiotracer injection. All PET images are scaled to the same radioactivity scale length, represented on the right side of the figure, in $Bq.ml^{-1}$. The figure visual analysis using this scale, and without post-processing does not allow the identification of increased uptake in regions that are evidently injured ion the CT scan (caudal slice). ALI: acute lung injury; CT: computerized tomography; PET: positron emission tomography.

Supplemental figure 12



Illustrative examples of input function elements

Panel A shows the course over time of the image derived input function measured in the pulmonary artery of an animal with late experimental ARDS, before (red curve) and after the correction for spillover and partial volume was applied (blue curve). The invasive input function is represented with open dots. The inset of panel A shows the course over time of the plasma to blood ratio in the same animal, with open dots corresponding the invasive measurements of plasma to blood ratio, and black dots corresponding to the linear interpolation of the ratio the PET frame midpoint times.

Panel B shows all individual parent fraction data collected in 12 PET studies. The blue line represents the fit obtained using this data and the formula: $f_{PK}(t) = \alpha + (1 - \alpha)e^{-\beta t}$, with t = time from radiotracer injection.

The following coefficients were determined after fitting: α = 0.15 (95% confidence interval, 0.09 to 0.22), β = 0.002 (95% CI, 0.002 to 0.003), root mean squared error = 0.10. ARDS: acute respiratory distress syndrome.

References

1. Matute-Bello G, Downey G, Moore BB, et al. An official American Thoracic Society workshop report: features and measurements of experimental acute lung injury in animals. *Am J Respir Cell Mol Biol.* 2011;44:725-738.

2. Rosenthal C, Caronia C, Quinn C, Lugo N, Sagy M. A comparison among animal models of acute lung injury. *Crit Care Med.* 1998;26:912-916.

3. The ARDS Definition Task Force. Acute respiratory distress syndrome: the Berlin Definition. *JAMA.* 2012;307:2526-2533.

4. The Acute Respiratory Distress Syndrome Network. Ventilation with lower tidal volumes as compared with traditional tidal volumes for acute lung injury and the acute respiratory distress syndrome. *N Engl J Med.* 2000;342:1301-1308.

5. Mercat A, Richard JC, Vielle B, et al. Positive end-expiratory pressure setting in adults with acute lung injury and acute respiratory distress syndrome: a randomized controlled trial. *JAMA.* 2008;299:646-655.

6. Barberis L, Manno E, Guerin C. Effect of end-inspiratory pause duration on plateau pressure in mechanically ventilated patients. *Intensive Care Med.* 2003;29:130-134.

7. Hashimoto K, Inoue O, Suzuki K, Yamasaki T, Kojima M. Synthesis and evaluation of 11C-PK 11195 for in vivo study of peripheral-type benzodiazepine receptors using positron emission tomography. *Ann Nucl Med.* 1989;3:63-71.

8. Gattinoni L, Caironi P, Cressoni M, et al. Lung recruitment in patients with the acute respiratory distress syndrome. *N Engl J Med.* 2006;354:1775-1786.

9. Gattinoni L, Pesenti A, Bombino M, et al. Relationships between lung computed tomographic density, gas exchange, and PEEP in acute respiratory failure. *Anesthesiology.* 1988;69:824-832.

10. Schroeder T, Vidal Melo MF, Musch G, Harris RS, Venegas JG, Winkler T. Image-derived input function for assessment of 18F-FDG uptake by the inflamed lung. *J Nucl Med.* 2007;48:1889-1896.

11. Kropholler MA, Boellaard R, Elzinga EH, et al. Quantification of (R)-[11C]PK11195 binding in rheumatoid arthritis. *Eur J Nucl Med Mol Imaging.* 2009;36:624-631.

12. De Vos F, Dumont F, Santens P, Slegers G, Dierckx R, De Reuck J. High-performance liquid chromatographic determination of [11C]1-(2-chlorophenyl)-N-methyl-N-(1-methylpropyl)-3-isoquinoline carboxamide in mouse plasma and tissue and in human plasma. *J Chromatogr B Biomed Sci Appl.* 1999;736:61-66.

13. Wellman TJ, Winkler T, Vidal Melo MF. Modeling of Tracer Transport Delays for Improved Quantification of Regional Pulmonary ^{18}F-FDG Kinetics, Vascular Transit Times, and Perfusion. *Ann Biomed Eng.* 2015;43:2722-2734.

14. Kropholler MA, Boellaard R, Schuitemaker A, et al. Development of a tracer kinetic plasma input model for (R)-[11C]PK11195 brain studies. *J Cereb Blood Flow Metab.* 2005;25:842-851.

15. Broccard AF, Shapiro RS, Schmitz LL, Ravenscraft SA, Marini JJ. Influence of prone position on the extent and distribution of lung injury in a high tidal volume oleic acid model of acute respiratory distress syndrome. *Crit Care Med.* 1997;25:16-27.

2. ONLINE SUPPLEMENT DU TRAVAIL N°3

APPENDIX

SUPPLEMENTAL METHODS

PET image acquisition

[^{11}C](R)-PK11195 synthesis was performed on site as previously described, using a C-11 Pro2 synthesizer (iPHASE, Melbourne, Victoria, Australia) (1). Radiochemical purity at the end of radiosynthesis was >99%.

A Siemens BioGraph TruePoint PET/CT camera was used for all experiments (Siemens, Germany). The 216-mm longitudinal field-of-view extended over the whole lung area, from the most caudal extremity in sagittal view to the apex. PET acquisitions lasted 60 min, starting at the onset of the [^{11}C](R)-PK11195 injection (body weight dose of 6.3 [5.3–7.0] MBq.kg^{-1}). The radiotracer was administered on the proximal port of the central venous line, at a rate of 20 ml.min^{-1} over 30 seconds.

PET acquisitions were a dynamic series of 18 frames with increasing durations: 5×12 s, 4×60 s, 7×300 s, and 2×600 s. PET frames were reconstructed in 3D volumes of 112 slices (thickness 2 mm) with in-plane 128×128 matrices (2.1×2.1 mm pixel size). Data were corrected for random coincidences, attenuation (using the preceding transmission CT with similar reconstruction parameters), scatter, and ^{11}C isotope decay.

Volumetric lung regions of interest (ROIs) were drawn on transmission CT scans, using OsiriX (Bernex, Switzerland), excluding intrathoracic large vessels and large airways (2). Initial drawing was automatically segmented using the Mialite module for OsiriX (using a radiological attenuation frame between –950 and –50 Hounsfield units [HU]) and secondarily hand-corrected in lung regions that had been erroneously excluded by the automatic segmentation algorithm. Bullae and pneumothorax were excluded from the ROIs. Correct alignment of volumetric ROI mask with PET images was checked visually.

Then, 10 lung levels were defined by dividing the lung ROI in 10 equally sized sections along the ventro-dorsal axis (**Figure S2**); the 2 most extreme lung levels (#1 and #10) were excluded to avoid excessively small ROIs, resulting in 8 lung levels for sectional analysis. Volumetric ROI masks (lung levels and whole lung) were then applied to PET frames, allowing the computation of regional PET TACs in the 8 lung levels and on the whole lung.

Also, transmission CT voxels were indexed using their HU value, to define 4 lung aeration compartments as previously described [nonaerated (-100 to +100), poorly aerated (-500 to -101), normally aerated (-900 to -501), and hyperinflated (-1000 to -901)] (3). Based on aeration

indexing, PET TACs were generated for each aeration compartment, by matching CT voxels indices with PET voxels. Image post-processing was performed using MatLab (Natick, MA, USA) dedicated scripts.

Determination of the image-derived input function

First, an invasive input function (IF) was obtained during all experiments by the mean of pulmonary arterial blood sampling, consisting of 5 ml blood manual sampling performed at 10, 20, 30, 40, 50 et 60 seconds, and 4, 10, 20, 30 and 50 minutes after PET acquisition start. The sampling line was flushed after each blood draw for samples collected more than 1 minute after PET acquisition onset. A 500 µL aliquot of whole blood was retrieved from each sample and was counted for 30 seconds using a Wizard^2 gamma counter (PerkinElmer, MA, USA), with application of corrections for decay and background noise. Meanwhile, a whole blood sample was centrifugated for 5 minutes at 3000 rpm, and a 500 µL aliquot of supernatant plasma was counted as described above. The gamma-counter was cross-calibrated with the PET camera, and times were synchronized between the 2 devices.

From these invasive measurements, we computed a plasma to blood radioactivity ratio $f_p(t)$, which was secondarily interpolated to PET frame midpoint times of measurement using linear interpolation. In studies in which no invasive plasma to blood ratio was available before or at the time of the first PET mid-frame time (at 6 seconds), then its value was considered as equal to the first invasive obtained plasma to blood ratio.

The image-derived IF was obtained by drawing a 1 cm^3 ROI in the main pulmonary artery. The main pulmonary artery was located using early PET frames (< 1 minute) on which the injected radiotracer was easily identifiable in the vascular lumen. The drawing was made easier by the presence of the pulmonary artery catheter in the lumen of the vessel. Cautious attention was made to exclude the catheter from the ROI to prevent contamination of the image-derived IF by the radiotracer-containing blood present in the catheter during blood sampling.

The image-derived IF was then corrected for partial volume and spill-over phenomena using the methodology developed by Schroeder et al. for [^{18}F]-fluorodeoxyglucose (4). Shortly, using 2 values of the invasive IF interpolated to PET frame midpoint times, one early (corresponding to a invasive IF value measured between 2 and 4 minutes after injection), and one late (50 minutes after injection), the image-derived IF measured in the blood-pool ROI is corrected using a iterative algorithm, which computes a recovery coefficient (RC) and a spillover coefficient (SC), which respectively reflects the partial volume effect which leads to underestimation of the initial part of the non-invasive TAC, and overestimation of the late part of the curve due to spillover from surrounding structures (especially the myocardium). The calibration time point was selected between 3 iterations of the algorithms, performed at 2, 3 and 4 minutes of radiotracer injection. The optimal calibration time point was selected based

on the lowest value of mean squared error between the corrected image-derived IF and the reference invasive IF.

The population-based function of fraction of radioactivity originating from the parent compound of [^{11}C](R)-PK11195 in plasma over time was computed using metabolite data obtained from the experiments in which it was performed (5). In short, parent fraction and metabolites were quantified in 500 µL of plasma sampled at 2, 4, 10, 20 and 30 minutes, using high performance liquid chromatography (LC Hypersil GOLD C8 column, ThermoFisher, MA, USA) (6). The peak activity of the parent fraction of [^{11}C](R)-PK11195 is identified at a retention time of 9 minutes or more, with metabolite fractions M1 and M2 being retained earlier.

From these parent fraction, the [^{11}C](R)-PK11195 parent fraction was fitted to a simplified version of a previously published function, using α and β as positive fitted parameters (5):

$$f_{PK}(t) = \alpha + (1 - \alpha)e^{-\beta t} \quad \text{Eq. (1)}$$

Then, the resulting fit was applied to individual input function to account for the parent fraction of circulation radioligand.

Finally, radiotracer regional tissue arrival delay into the lung ROI was computed using a single-compartment reversible pharmacokinetic model, including a blood fraction compartment, fitted over the first 60 seconds of the ROI TAC (increased to 90 seconds for animals with radiotracer injection over 60 seconds) (7). To do this, regional tissue arrival delay ranged from 0 seconds to 6 seconds by steps of 0.1 seconds; for each delay value, a new (image-derived) IF was computed, and the single compartment model was fitted to the ROI TAC. The best delay was selected based on the lowest sum of least-square residuals of the fit. Dispersion was not fitted.

Multi-tissue compartment kinetic models

Lung uptake of [^{11}C](R)-PK11195 may be described by the mean of 2 kinetic models, one a 2-tissue compartment kinetic model, the second being a derivation of the first with the addition of an irreversible non-specific compartment. Our strategy was to apply both models to PET TAcs and select the model that best described the data and use its parameters for analysis.

Indeed, lung [^{11}C](R)-PK11195 uptake may be described using a three-tissue compartment pharmacokinetic model, using the [^{11}C](R)-PK11195 parent plasma input function (IF) $C_{PK}(t)$, and the PET time-activity curve (TAC) in the lung region-of-interest $C_{ROI}(t)$ as the model inputs. The model encompasses 3 tissue compartments representing the concentration of [^{11}C](R)-PK11195 free in tissue, $C_f(t)$, TSPO-bound in tissue, $C_b(t)$, and irreversibly and non-specifically bound in tissue, $C_{ns}(t)$ (presumably by liphophilic compounds such as cell membranes) (8). An additional parameter F_{WB} relates the vascular whole blood fractional concentration $C_{wb}(t)$ in the region-of-interest (ROI).

The model requires determination of F_{WB} and five rate constants K_1, k_2, k_3, k_4 and k_5 which are: the entry rate constant from blood to tissue, (K_1 in ml of plasma.min^{-1}.ml^{-1} of lung, the backward rate constant of transfer from tissue to blood (k_2 in min^{-1}), the rate constant representing [^{11}C](R)-PK11195 binding to the TSPO receptor (k_3 in min^{-1}), the rate constant corresponding to its dissociation from its receptor (k_4 in min^{-1}), and the rate constant of irreversible uptake by the non-specific compartment (k_5 in min^{-1}).

The non-displaceable binding potential BP_{ND} of [^{11}C](R)-PK11195 by the 3TCM was computed as the ratio of k_3 to k_4. BP_{ND} corresponds to the ratio of specifically bound [^{11}C](R)-PK11195 to its non-displaceable concentration in tissue at equilibrium (9).

We also used the 2TCM (Sokoloff) model, which is the most commonly used kinetic model to describe the reversible association of [^{11}C](R)-PK11195 to TSPO in tissues (10). The 2TCM was similar to the 3TCM, with the exception of the non-specific irreversible compartments, and requires the determination of 4 rate constants K_1, k_2, k_3, k_4, and F_{WB}, which have the same definition as for the 3TCM.

To determine and select the model that best described the lung regional TACs of [^{11}C](R)-PK11195, we applied the 3TCM and the 2TCM to all lung ROIs, and then applied a 2-step model selection algorithm. We first calculated their respective value of the corrected Akaike Information Criterion (AICc); the best model was that with the lowest AICc value (11). Second, for ROIs in which the value of k_4 determined by the 2TCM was near zero (*i.e.* k_4<10^{-6} min^{-1}, leading to unrealistically high values of BP_{ND} incompatible with reversible binding), 3TCM was considered as the most appropriate model, even if AICc favored the 2TCM over the 3TCM. In case of a 2TCM-type TAC, k_5 was considered as equal to 0 min^{-1}.

Resolution of kinetic models equations

The 3TCM can be expressed and resolved using the differential equations presented here:

$$C_{ROI}(t) = F_B C_{wb}(t) + C_f(t) + C_b(t) + C_{ns}(t) \quad \text{Eq. (1)}$$

$$\frac{dC_f(t)}{dt} = K_1 C_{PK}(t) - (k_2 + k_3 + k_5) C_f(t) + k_4 C_b(t) \quad \text{Eq. (2)}$$

$$\frac{dC_b(t)}{dt} = k_3 C_f(t) - k_4 C_b(t) \quad \text{Eq. (3)}$$

$$\frac{dC_{ns}(t)}{dt} = k_5 C_f(t) \quad \text{Eq. (4)}$$

After Laplacian transform, and rearrangement, we get: Eq. (5)

$$C_f(s) = K_1 \frac{s + k_4}{[s^2 + (k_2 + k_3 + k_4 + k_5)s + k_4(k_2 + k_5)]} \times C_{PK}(s) \quad \text{Eq. (6)}$$

The denominator is of the format $as^2 + bs + c$, with:

$$a = 1$$
$$b = k_2 + k_3 + k_4 + k_5 \quad \text{Eq. (7)}$$
$$c = k_4(k_2 + k_5)$$

Finding the 2 real roots φ_i of a second-degree polynomial gives:

Eq. (8)

$$\varphi_1 = \frac{b + \sqrt{b^2 - 4c}}{2} \text{ and } \varphi_2 = \frac{b - \sqrt{b^2 - 4c}}{2}$$

After factorizing, we get:

$$C_f(s) = K_1 \frac{s + k_4}{(s + \varphi_1)(s + \varphi_2)} \times C_{PK}(s) \quad \text{Eq. (9)}$$

which develops into:

$$C_f(s) = K_1 \left[\frac{s}{(s + \varphi_1)(s + \varphi_2)} + \frac{k_4}{(s + \varphi_1)(s + \varphi_2)} \right] \times C_{PK}(s) \quad \text{Eq. (10)}$$

Knowing that $\mathcal{L}^{-1}\left\{\frac{s^n}{\hat{A}(s)}\right\} = \sum_{i=1}^{m} \frac{\varphi_i^n}{\hat{A}'(\varphi_i)} e^{\varphi_i t}$ with φ_i the root of the denominator, after inverse Laplacian transform, we get that: Eq. (11)

$$C_f(t) = \frac{K_1}{\varphi_1 - \varphi_2} \left[(\varphi_1 - k_4) e^{-\varphi_1 t} - (\varphi_2 - k_4) e^{-\varphi_2 t} \right] \otimes C_{PK}(t) \quad \text{Eq. (12)}$$

The same development gives:

$$C_b(t) = K_1 k_3 \left[\frac{(e^{-\varphi_2 t} - e^{-\varphi_1 t})}{(\varphi_1 - \varphi_2)}\right] \otimes C_{PK}(t) \quad \text{Eq. (13)}$$

The development of the tracer concentration $C_{ns}(t)$ in the non-specific compartment requires the computation of the 3 real roots λ_i of a third-degree polynomial present in the denominator of the following formula:

$$C_{ns}(s) = K_1 k_5 \frac{s + k_4}{[s^3 + (k_2 + k_3 + k_4 + k_5)s^2 + k_4(k_2 + k_5)s]} \times C_{PK}(s) \quad \text{Eq. (14)}$$

The denominator is of the format $as^3 + bs^2 + cs + d$, with:

$$a = 1 \quad \text{Eq. (15)}$$

$$b = k_2 + k_3 + k_4 + k_5$$

$$c = k_4(k_2 + k_5)$$

$$d = 0$$

Finding the 3 real roots λ_i of a third-degree polynomial:

$$p = c - \frac{b^2}{3} \text{ and } q = \frac{b}{27}(2b^2 - 9c) + d \quad \text{Eq. (16)}$$

which further develops into $R = \left(\frac{q}{2}\right)^2 + \left(\frac{p}{3}\right)^3$; $u = \sqrt[3]{-\frac{q}{2} + \sqrt[2]{R}}$; $v = \sqrt[3]{-\frac{q}{2} - \sqrt[2]{R}}$ and $Q = -\frac{u}{2} - \frac{v}{2} - \frac{a}{3}$ Eq. (17)

The 3 real roots are: $\lambda_1 = u + v - \frac{a}{3}$; $\lambda_2 = Q + \frac{1}{2} i \sqrt[2]{3}(u - v)$; $\lambda_3 = Q - \frac{1}{2} i \sqrt[2]{3}(u - v)$ with *i* being the unit imagery number Eq. (18)

After factorizing the third degree polynomial, we get:

$$C_{ns}(s) = K_1 k_5 \frac{s + k_4}{(s - \lambda_1)(s - \lambda_2)(s - \lambda_3)} \times C_{PK}(s) \quad \text{Eq. (19)}$$

Recalling the Laplacian inverse transformation presented in formula 11, we get:

$$C_{ns}(t) = K_1 k_5 \left[\frac{\lambda_1+k_4}{[\lambda_1(\lambda_1-\lambda_2-\lambda_3)+\lambda_2\lambda_3]} e^{\lambda_1 t} + \frac{\lambda_2+k_4}{[\lambda_2(\lambda_2-\lambda_1-\lambda_3)+\lambda_1\lambda_3]} e^{\lambda_2 t} + \frac{\lambda_3+k_4}{[\lambda_3(\lambda_3-\lambda_1-\lambda_2)+\lambda_1\lambda_2]} e^{\lambda_3 t}\right] \otimes C_{PK}(t) \quad \text{Eq. (20)}$$

Using convolution, non-linear least-square resolution was performed using the [^{11}C](R)-PK11195 parent plasma input function $C_{PK}(t)$, and the lung ROI TAC $C_{ROI}(t)$. The initial guesses of rate constants K_1, k_2, k_3, k_4, k_5 and F_{WB} were 1 ml.min^{-1}.ml lung^{-1}, 0.25 min^{-1}, 0.01 min^{-1}, 0.04 min^{-1}, 0.001 min^{-1}, and 0.05, respectively. The initial guess of K_1 was corrected for the computerized tomography (CT) -measured lung density F_D to account for its heterogeneity in different ROIs (3).

The regression algorithm used trust-region reflective algorithm, aiming to minimize the sum of squares between fitted and observed values, *i.e.* $C_{ROI}(t)$, with weighting by PET frame length. Fitted parameters, including F_{WB} were all constrained between 0 and +∞. Non-linear least-square resolution of the 2TCM was performed using the exact same methodology as for the 3TCM (using the same initial guesses and constraints of rate constants, with the exclusion of k_5). BP_{ND} was computed similarly to the 3TCM.

SUPPLEMENTAL TABLES

Table S1. Lung pathology scores

	Macrophage Score	Lung Injury Score*
0	Absence of alveolar macrophage.	Normally-appearing lung or atelectasis (atelectasis *per se* is disregarded and not scored as abnormality)
1	Mild macrophage recruitment, following a scattered pattern.	Mild congestion, interstitial edema, and neutrophilic infiltrate, with red blood cells and/or neutrophils only occasionally in the alveolar spaces
2	Moderate macrophage recruitment, organized in clusters.	Moderate congestion and interstitial edema, with neutrophils partially filling the alveolar spaces but without consolidation
3	Major macrophage recruitment, diffusely distributed.	Marked congestion and interstitial edema, with neutrophilic infiltrate nearly or completely filling the alveolar spaces (consolidation)

*For each regional sample, the percentage of extent of histological acute lung injury was multiplied by the histologic score to calculate a weighted lung injury score.

Table S2. Computed tomography-derived static parameters over time

Variables (whole lung)	Supine n=5	Prone n=6	Effect of group, *p*	Effect of time, *p*	Group × time, *p*
Functional residual capacity (FRC), ml			-	-	**0.01**
T1	428 [401–472]	455 [434–487]			
T2	351 [327–357][a]	484 [373–485]			
T3	344 [293–366][a]	316 [283–345][b]			
End-expiratory aerated lung volume (EELV), ml			0.61	**<0.01**	0.17
T1	607 [545–622]	600 [596–607]			
T2	458 [441–476]	475 [382–566]		#	
T3	430 [408–472]	393 [359–434]		#	
End-inspiratory aerated lung volume, ml			0.53	**<0.01**	0.14
T1	763 [745–816]	753 [728–795]			
T2	641 [554–678]	637 [522–730]		#	
T3	614 [560–651]	546 [528–573]		#	
Lung tissue weight at end-expiration, g			0.43	**<0.01**	0.46
T1	466 [420–493]	405 [391–436]			
T2	568 [512–625]	510 [501–571]		#	
T3	599 [559–621]	565 [544–588]		#	
Gas fraction at end-expiration			0.98	**<0.01**	0.18
T1	0.56 [0.54–0.58]	0.58 [0.57–0.6]			
T2	0.45 [0.42–0.47]	0.42 [0.41–0.44]		#	
T3	0.42 [0.39–0.45]	0.41 [0.37–0.43]		#	
Index of lung heterogeneity at end-expiration			0.77	**<0.01**	0.08
T1	0.15 [0.13–0.16]	0.14 [0.12–0.14]			
T2	0.42 [0.36–0.46]	0.57 [0.36–0.66]		#	
T3	0.60 [0.4–0.62]	0.43 [0.36–0.46]		#	

Values are median with interquartile range.

The analysis used all data collected in both groups at the 3 study time points, using a mixed effects linear regression with study group and study time point as independent variables, and animal identification number as the random effect. Interaction of time with study group was systematically checked for. If no interaction was identified, the p value of the effect of Group and Time are given, respectively.

In case of a significant interaction, a pairwise post-hoc multiple comparison was performed to compare groups at each time points on the one side, and compare T2 and T3 to T1 in each group, on the other.

#: p<0.05 compared to T1 at the time point (no interaction with study group)

[a]: p<0.05 compared to T1 in the supine group in multiple comparison

[b]: p<0.05 compared to T1 in the prone group in multiple comparison

EELV: end-expiratory aerated lung volume; FRC: functional residual capacity

Table S3. Computed tomography-derived dynamic parameters over time (whole lung measurements)

Variables (whole lung)	Supine n=5	Prone n=6	Effect of group, *p*	Effect of time, *p*	Group × time, *p*
Tidal volume (V_T), ml			0.64	0.32	0.85
T1	146 [146–217]	154 [137–173]			
T2	173 [147–200]	152 [137–158]			
T3	165 [131–206]	164 [144–179]			
Tidal volume (V_T), ml.kg^{-1}			0.81	0.36	0.90
T1	5.6 [5.4–6.5]	5.5 [5.3–5.8]			
T2	5.7 [5.7–6.4]	5.4 [4.9–5.8]			
T3	6.1 [5–6.4]	5.9 [5.6–6.2]			
Tidal recruitment, ml			0.83	**<0.01**	0.43
T1	7 [-4–13]	6 [-8–13]			
T2	23 [9–42]	29 [20–40]		#	
T3	30 [27–43]	25 [19–34]		#	
Tidal hyperinflation, ml			0.99	0.11	0.70
T1	1 [1–2]	3 [1–4]			
T2	3 [3–4]	4 [2–6]			
T3	3 [1–8]	4 [3–4]			
PEEP-related increase in gas volume (V_{PEEP}), ml			**0.01**	**<0.01**	0.99
T1	150 [147–168]	131 [122–155]			
T2	125 [101–131]	93 [85–94]		#	
T3	109 [106–112]	77 [67–92]		#	
PEEP-related alveolar recruitment, ml			0.14	0.96	0.57
T1	18 [5–35]	-3 [-10–20]			
T2	14 [13–23]	3 [-3–29]			
T3	18 [17–20]	11 [7–14]			
Dynamic strain			0.87	0.48	0.16
T1	0.22 [0.22–0.35]	0.25 [0.23–0.31]			
T2	0.33 [0.23–0.33]	0.23 [0.21–0.24]			
T3	0.28 [0.21–0.37]	0.34 [0.30–0.36]			
Static strain			0.59	0.45	0.75
T1	0.28 [0.23–0.29]	0.29 [0.25–0.31]			
T2	0.31 [0.20–0.31]	0.15 [0.11–0.28]			
T3	0.23 [0.21–0.23]	0.20 [0.15–0.30]			

Values are median with interquartile range.
The analysis used all data collected in both groups at the 3 study time points, using a mixed effects linear regression with study group and study time point as independent variables, and animal identification number as the random effect. Interaction of time with study group was systematically checked for. If no interaction was identified, the p value of the effect of Group and Time are given, respectively.
#: p<0.05 compared to T1 at the time point (no interaction with study group)
V_{PEEP}: PEEP-related increase in gas volume; V_T: tidal volume

SUPPLEMENTAL FIGURES

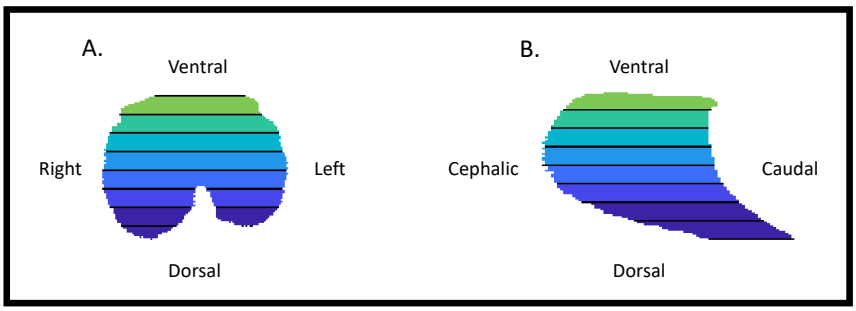


Figure S1. Lung segmentation

The figure shows the 8 lung levels along the ventro-dorsal axis in an illustrative animal, in the axial view (A, at mid-lung level) and the sagittal view (B, through the right lung).

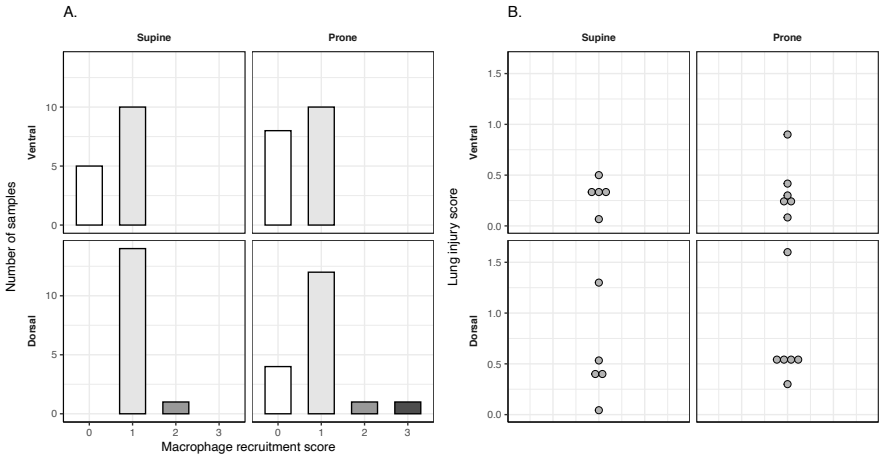


Figure S2. Lung pathology scores in both study groups

Panel A shows the distribution of macrophage recruitment score in the ventral and dorsal halves of lung, ranging from 0 to 3 (with a gray scale). The vertical bar represents the number of samples with a given score in a lung region, knowing that the score was calculated on 3 samples for each of the ventral or dorsal clusters in each animal. There was a significant difference in the distribution of macrophage score between regions, with the dorsal region showing a significantly higher number of high scores, compared to the ventral region (p<0.01). Study group was not significantly associated with the macrophage score (p=0.37).

Panel B shows the histologic lung injury score in the ventral and dorsal halves of lung, with individual data represented. The scores of the 3 samples of each ventral or dorsal region were averaged in each animal. The score was significantly higher in the dorsal regions, compared to the ventral regions (p=0.02). Study group was not significantly associated with the lung injury score (p=0.64).

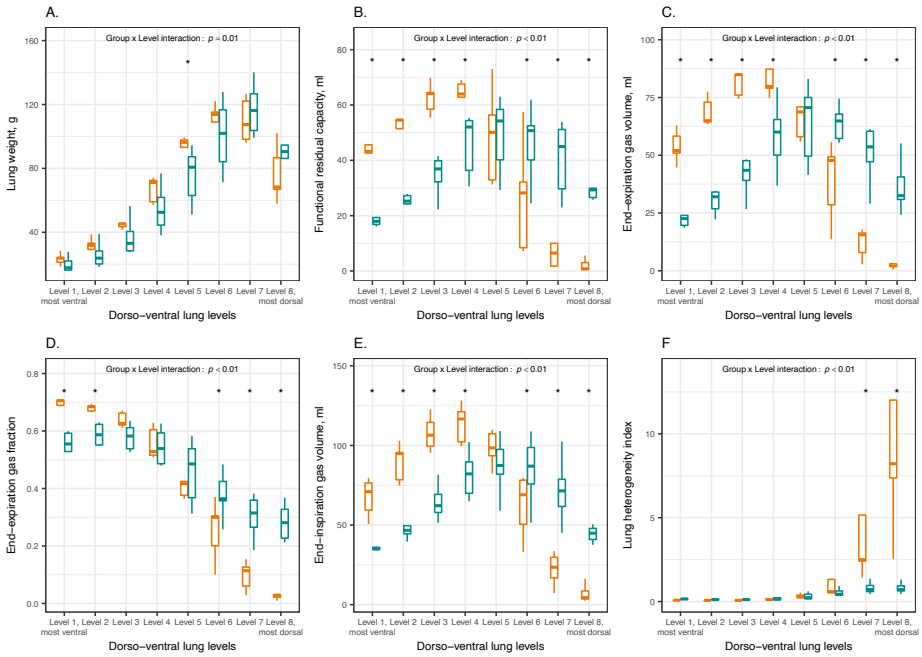


Figure S3. Regional lung mass, volumes and heterogeneity in both study groups at T3

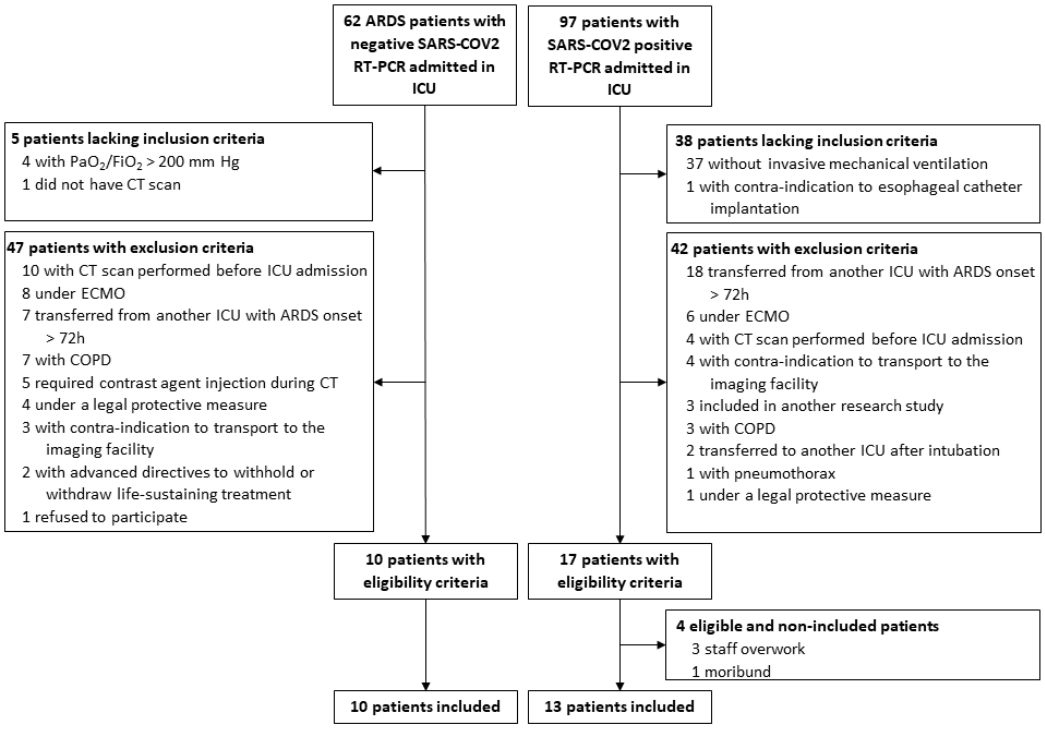
The figure shows the values of the lung mass (A), functional residual capacity (B), end-expiratory gas fraction (C) and volume (D), end-inspiratory gas volume (E), and lung heterogeneity index (F) in each of the 8 lung levels, in animals in the supine position (orange boxplots) and those in the prone position (green boxplots). The data is presented with boxplots. The p value examines the association of the studied parameter with interaction of Study Group x Lung Level. In case of a non-significant interaction term, then the p value of the independent effect of Group is presented. In case of a significant interaction of Study Group x Lung Level, we performed a post-hoc multiple comparison between study groups at each lung level (*: p<0.05).

REFERENCES

1. Hashimoto K, Inoue O, Suzuki K, Yamasaki T, Kojima M. Synthesis and evaluation of 11C-PK 11195 for in vivo study of peripheral-type benzodiazepine receptors using positron emission tomography. Ann Nucl Med. 1989;3(2):63-71.
2. Gattinoni L, Caironi P, Cressoni M, Chiumello D, Ranieri VM, Quintel M, et al. Lung recruitment in patients with the acute respiratory distress syndrome. N Engl J Med. 2006;354(17):1775-86.
3. Gattinoni L, Pesenti A, Bombino M, Baglioni S, Rivolta M, Rossi F, et al. Relationships between lung computed tomographic density, gas exchange, and PEEP in acute respiratory failure. Anesthesiology. 1988;69(6):824-32.
4. Schroeder T, Vidal Melo MF, Musch G, Harris RS, Venegas JG, Winkler T. Image-derived input function for assessment of 18F-FDG uptake by the inflamed lung. J Nucl Med. 2007;48(11):1889-96.
5. Kropholler MA, Boellaard R, Elzinga EH, van der Laken CJ, Maruyama K, Kloet RW, et al. Quantification of (R)-[11C]PK11195 binding in rheumatoid arthritis. Eur J Nucl Med Mol Imaging. 2009;36(4):624-31.
6. De Vos F, Dumont F, Santens P, Slegers G, Dierckx R, De Reuck J. High-performance liquid chromatographic determination of [11C]1-(2-chlorophenyl)-N-methyl-N-(1-methylpropyl)-3-isoquinoline carboxamide in mouse plasma and tissue and in human plasma. J Chromatogr B Biomed Sci Appl. 1999;736(1-2):61-6.
7. Wellman TJ, Winkler T, Vidal Melo MF. Modeling of Tracer Transport Delays for Improved Quantification of Regional Pulmonary ^{18}F-FDG Kinetics, Vascular Transit Times, and Perfusion. Ann Biomed Eng. 2015;43(11):2722-34.
8. Hatty CR, Le Brun AP, Lake V, Clifton LA, Liu GJ, James M, et al. Investigating the interactions of the 18kDa translocator protein and its ligand PK11195 in planar lipid bilayers. Biochim Biophys Acta. 2014;1838(3):1019-30.
9. Innis RB, Cunningham VJ, Delforge J, Fujita M, Gjedde A, Gunn RN, et al. Consensus nomenclature for in vivo imaging of reversibly binding radioligands. J Cereb Blood Flow Metab. 2007;27(9):1533-9.
10. Kropholler MA, Boellaard R, Schuitemaker A, van Berckel BN, Luurtsema G, Windhorst AD, et al. Development of a tracer kinetic plasma input model for (R)-[11C]PK11195 brain studies. J Cereb Blood Flow Metab. 2005;25(7):842-51.
11. Golla SSV, Adriaanse SM, Yaqub M, Windhorst AD, Lammertsma AA, van Berckel BNM, et al. Model selection criteria for dynamic brain PET studies. EJNMMI Phys. 2017;4(1):30.

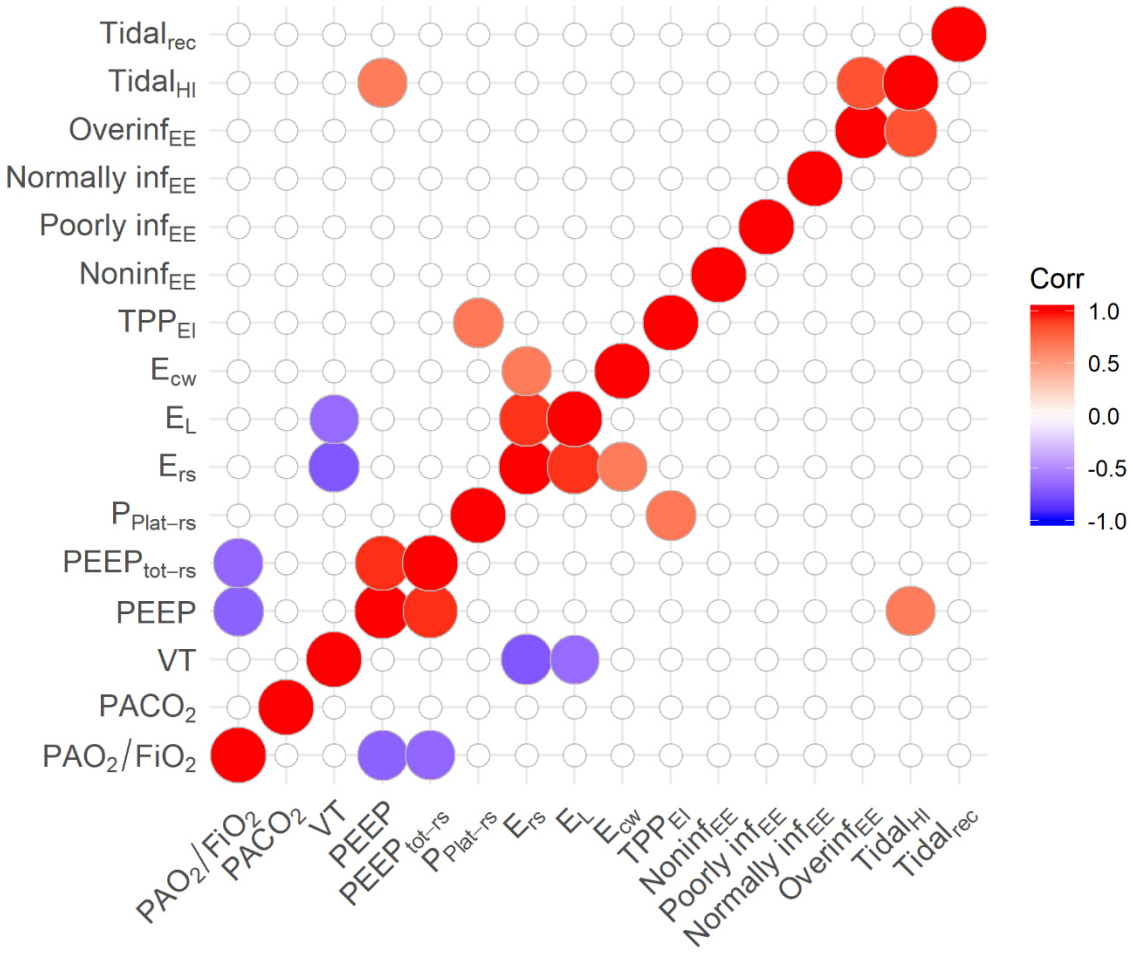
3. ONLINE SUPPLEMENT DU TRAVAIL N°4

Additional file 1-Figure S1. Flow chart.



ARDS = acute respiratory distress syndrome; COPD = chronic obstructive pulmonary disease; CT = computed tomography; ECMO = extracorporeal membrane oxygenation; ECMO = extracorporeal membrane oxygenation; ICU=intensive care unit; RT-PCR = real-time reverse transcriptase polymerase chain reaction.

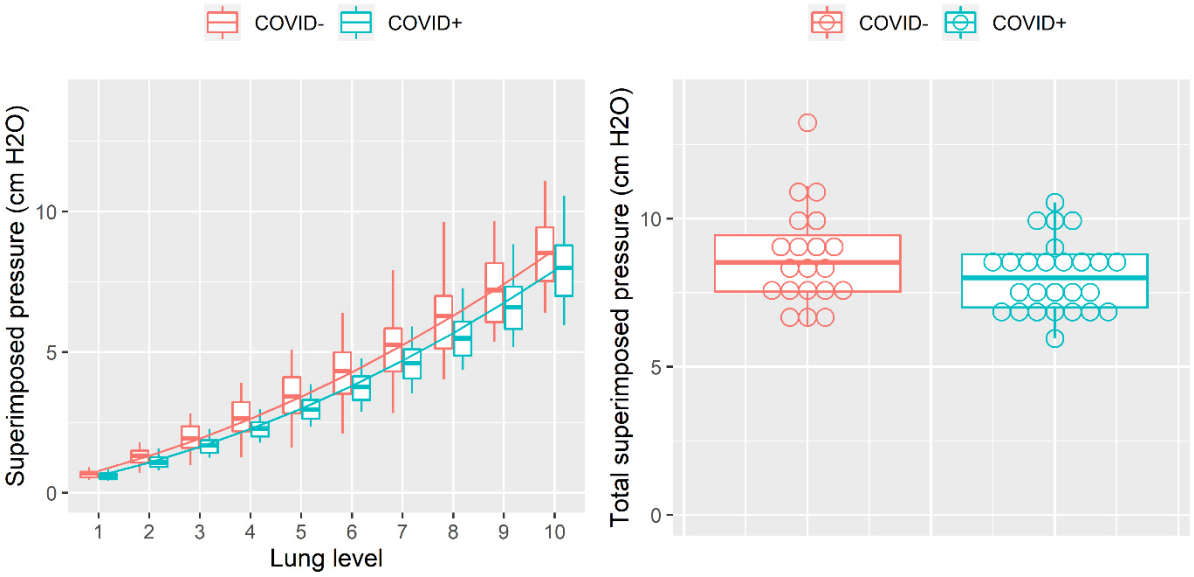
Additional File 2-Figure S2. Correlation matrix between blood gas, respiratory mechanics and CT-derived variables.



Correlations with p values ≥0.001 are not shown to account for multiple testing (n=128).

Corr = Pearson correlation coefficient; CT = computed tomography; PaO2/FiO2= ratio of arterial oxygen partial pressure over inspired oxygen fraction, PaCO2 = arterial carbon dioxide partial pressure, VT=tidal volume, PEEP = positive end-expiratory pressure, $PEEP_{tot-rs}$ = total PEEP of the respiratory system, Pplat = plateau pressure of the respiratory system, E_{rs} = Elastance of the respiratory system, E_L = lung elastance, E_{cw} = Elastance of the chest wall, TPP_{EI} = elastance-derived transpulmonary pressure at end-inspiration, $noninf_{EE}$= volume of the noninflated compartment at end-expiration, poorly inf_{EE}= volume of the poorly inflated compartment at end-expiration, normally inf_{EE}= volume of the normally inflated compartment at end-expiration, $overinf_{EE}$= volume of the overinflated compartment at end-expiration, $tidal_{HI}$ = tidal hyperinflation, $tidal_{rec}$ = tidal recruitment.

Additional file 3-Figure S3. Superimposed pressure (left panel) and total superimposed pressure (right panel) in non-COVID-19 (COVID-) and COVID-19 (COVID+) ARDS patients.



Lines are quadratic regression lines. Green boxplots, line and circles refer to COVID+ ARDS patients. Red boxplots, line and circles refer to COVID- ARDS patients. Lung levels span from ventral regions (level 1) to dorsal regions (level 10). Open circles are individual datapoints.

Additional file 4-Table S1. Respiratory, blood gas, CT variables and ICU mortality as a function of COVID-19 subtypes.

	COVID- (n=10)	Type H (n=5)	Type L (n=8)	p
Sex male	8 (80%)	4 (80%)	8 (100%)	0.41
Age (yr)	60±15	59±16	68±15	0.44
Delay between ICU admission and inclusion (day)	2±2	2±2	2±1	0.79
Delay between inclusion and ARDS onset (day)	1±1	1±1	1±1	0.84
SAPS 2 at ICU admission	49±18	35±14	40±11	0.25
SOFA score at inclusion	13±3	11±1	12±2	0.15
ARDS severity				0.06
• moderate	3 (30%)	2 (40%)	7 (88%)	
• severe	7 (70%)	3 (60%)	1 (12%)	
PEEP (cm H2O)	9±3	11±2	11±2	0.27
VT (ml.kg^{-1} PBW)	6.0±0.2	6.0±0.0	6.0±0.0	0.94
RR (min^{-1})	25±5	23±2	23±4	0.62
$PEEP_{tot,rs}$ (cm H2O)	11±3	12±2	11±2	0.51
$P_{plat,rs}$ (cm H2O)	21±2	22±2	18±2	**<0.05**
ΔP_{rs} (cm H2O)	10±3	10±1	7±1	**<0.01**
ΔP_L (cm H2O)	8±2	7±2	4±1	**<0.001**
E_{rs} (cm H2O. L^{-1})	28±13	27±9	17±2	0.06
E_L (cm H2O.L^{-1})	22±9	19±7	11±3	**<0.01**
E_{cw} (cm H2O.L^{-1})	6±5	8±5	7±2	0.67
End-inspiratory TPP_{EI}	17±3	16±4	11±2	**<0.01**
pH	7.34±0.09	7.35±0.12	7.37±0.09	0.75
PaO_2/F_iO_2 (Torr)	122±41	124±30	133±29	0.79
$PaCO_2$ (Torr)	48±8	45±10	46±7	0.88
Bicarbonates (mmol.L^{-1})	25±6	24±3	27±5	0.74
Lactate (mmol.L^{-1})	4.8±4.4	1.3±0.3	2.1±0.2	0.09
Lung weight (% theoretical lung weight)	195±46	151±17	170±29	0.09
Tidal hyperinflation (%VT)	22±32	20±22	23±16	0.99
End-expiratory lung volume (mL)	1815±1252	1079±457	2131±521	0.15
Tidal recruitment of the noninflated compartment (%VT)	20±12	15±10	5±10	**<0.05**
Tidal recruitment of the poorly inflated compartment (%VT)	18±25	7±17	17±14	0.59
Total superimposed pressure (cm H_2O)	9±2	9±1	8±1	0.18
Noninflated compartment at end-expiration (%total lung weight)	36±14	40±11	17±8	**<0.01**
Poorly inflated compartment at end-expiration (%total lung weight)	36±12	37±10	40±8	0.78
Normally inflated compartment at end-expiration (%total lung weight)	27±12	22±6	42±11	**<0.01**
Overinflated compartment at end-expiration (%total lung weight)	1±1	0±0	1±1	0.61
ICU mortality	5 (50%)	2 (40%)	3 (38%)	0.87

P values refer to overall p value of the model. Multiple comparisons between groups were not performed due to the low number of patients in some groups.

ARDS= acute respiratory distress syndrome; COVID- = non-COVID-19 ARDS patients; ΔP_{rs} = driving pressure of the respiratory system; ΔP_L = transpulmonary driving pressure; E_{cw} = chest wall elastance; E_L = lung elastance; E_{rs} = elastance of the respiratory system; F_iO_2 = inspired fraction of oxygen; ICU = intensive care unit; PaO2 = oxygen partial pressure in arterial blood; PaCO2 = carbo dioxide partial pressure in arterial blood; PBW = predicted body weight; PEEP=positive end-expiratory pressure; $PEEP_{tot,rs}$ = total PEEP of the respiratory system; $P_{plat,rs}$ = plateau pressure of the respiratory system; RR= respiratory rate; SAPS2 = simplified acute physiology score; Ti/Ttotal = ratio of inspiratory time over total time of the respiratory cycle; TPP_{El} = elastance-derived transpulmonary pressure; type H = COVID ARDS patients with abnormally elevated elastance of the respiratory system; type L = COVID ARDS patients with normal elastance of the respiratory system; VT=tidal volume.