

## Traitement des métastases hépatiques par Ultrasons Focalisés de Haute Intensité (HIFU) guidés par l'imagerie ultrasonore. Premiers résultats cliniques

Melodelima David<sup>1</sup>, Dupré Aurélien<sup>2</sup>, Gandini Alessandro<sup>2</sup>, Chen Yao<sup>2</sup>, Chapelon Jean-Yves<sup>1</sup> and Rivoire Michel<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Inserm, U1032, Lyon, F-69003, France; Université de Lyon, Lyon, F-69003, France.

<sup>2</sup>Centre Léon Bérard – Institut de Chirurgie Expérimentale, Lyon, F-69008, France.

Un applicateur d'Ultrasons Focalisés de Haute Intensité (HIFU) muni d'un transducteur de géométrie torique a été évalué cliniquement pour le traitement de métastases hépatiques. L'objectif à long terme est de pouvoir associer ce traitement ultrasonore à une chirurgie de résection. Cette approche doit permettre de traiter par HIFU les métastases qui sont difficiles ou impossible à réséquer chirurgicalement. Dans cette étude, nous rapportons les premiers résultats cliniques d'évaluation de ce dispositif HIFU sur 6 patients pour qui une chirurgie de résection a été réalisée. L'objectif principal était d'évaluer l'efficacité, la tolérance et la sécurité d'utilisation des paramètres de traitement HIFU. De plus, le traitement par HIFU était guidé par une sonde d'imagerie ultrasonore intégrée dans le transducteur de thérapie. Les observations échographiques faites lors du traitement ont été comparées à l'analyse anatomopathologique.

Le transducteur HIFU avait une forme torique avec un diamètre de 70 mm et était divisé de manière radiale en 8 émetteurs ultrasonore de 4,16 cm<sup>2</sup> chacun. Le rayon de courbure du tore était de 70 mm afin de permettre des traitements dans les régions les plus profondes du foie. Les 8 émetteurs étaient divisés en 32 éléments pilotables individuellement et fonctionnant à une fréquence de 3 MHz. Une sonde d'imagerie ultrasonore fonctionnant à 7,5 MHz (bande passante : 63%) était placée au centre du transducteur de thérapie pour guider le traitement. Le plan d'imagerie était aligné avec la zone focale du transducteur HIFU.

Cette essai de phase I prévoyait d'inclure 6 patients. Deux ablations HIFU devaient être réalisées sur chaque patient avec un taux de succès d'au moins 85% pour démarrer la phase II de l'étude. Les ablations étaient réalisées après la laparotomie et avant la chirurgie de résection. L'objectif secondaire était d'évaluer la précision de l'échographie pour visualiser les ablations HIFU produites. Le volume hépatique accessible pour ce traitement était également évaluer. Pour cela, 15 repères anatomiques vasculaires ont été définis et devaient pouvoir être placés dans la zone focale du transducteur en utilisant le guidage échographique.

Les 12 ablations HIFU prévues ont été réalisées. Toutes étaient visibles sur les images échographiques. La différence entre les zones traitées et non traitées par HIFU était clairement visible sur les échographies sous la forme d'un bord hypoéchogène et d'une large zone centrale hyperéchogène. Les dimensions des ablations mesurées sur les échographies étaient corrélée ( $r=0,92$ ) avec les dimensions mesurées sur les pièces opératoires durant l'analyse anatomopathologique. Le volume d'ablation moyen obtenu pour une ablation HIFU de 40 secondes était de  $5,6 \pm 2,6$  cm<sup>3</sup> (valeurs extrêmes : 1,9 – 11,4 cm<sup>3</sup>). Le diamètre moyen des ablations était de  $21,6 \pm 4,5$  mm (valeurs extrêmes : 12,0 – 28,0 mm), la profondeur moyenne des ablations était de  $28,4 \pm 6,3$  mm (valeurs extrêmes : 20,0 – 43,0 mm). Les patients ont bien toléré le traitement, aucune modification hémodynamique ou respiratoire a été relevée durant le traitement. Aucune lésion

secondaire sur un organe de voisinage a été produite. Aucune complication due au traitement HIFU est survenue durant la chirurgie ou durant les 30 jours d'observation postopératoire prévus pour ce protocole. Le volume hépatique moyen accessible pour cette thérapie était de 88%. Selon les patients, entre 10 et 15 repères vasculaires (sur les 15 prévus) ont pu être correctement placés dans la zone focale du transducteur sous guidage échographique.

Ce traitement par HIFU utilisant un transducteur torique est faisable, sur et bien toléré. L'approche décrite ici est caractérisée par la brièveté du traitement (40 seconds pour une ablation de 5 à 6 cm<sup>3</sup>). Ce dispositif est capable de réaliser une ablation précise et sélective d'une zone de foie prédéfinie. L'imagerie échographique a permis pour chaque patient d'estimer correctement la zone traitée.

## **Thermal ablation by high-intensity-focused ultrasound guided by ultrasound imaging for the treatment of liver metastases. First clinical results.**

Melodelima David<sup>1</sup>, Dupré Aurélien<sup>2</sup>, Gandini Alessandro<sup>2</sup>, Chen Yao<sup>2</sup>, Chapelon Jean-Yves<sup>1</sup> and Rivoire Michel<sup>2</sup>

<sup>1</sup>*Inserm, U1032, Lyon, F-69003, France; Université de Lyon, Lyon, F-69003, France.*

<sup>2</sup>*Centre Léon Bérard – Institut de Chirurgie Expérimentale, Lyon, F-69008, France.*

Présentation souhaitée : Orale

Thème : La thérapie guidée par l'image

In this study an ultrasound device that uses a toroidal High Intensity Focused Ultrasound (HIFU) transducer guided by ultrasound imaging was evaluated clinically for the treatment of liver metastases during an open procedure. Our long-term objective is to associate the HIFU treatment with hepatic resection. With this approach it would be possible using HIFU to treat the metastases which are difficult or impossible to remove surgically. Here we report the first clinical results obtained on six patients with liver metastases and scheduled for elective surgical resection of their tumors. The principal objective was to validate the effectiveness, tolerance and safety of the HIFU parameters defined during preclinical studies. In addition, the response to HIFU was assessed using the ultrasound imaging probe integrated in the HIFU device and compared directly with histological analysis.

The HIFU transducer has a toroidal shape of 70 mm in diameter and was divided into 8 radial ultrasound emitters of 4.16 cm<sup>2</sup> each. The radius of curvature was 70 mm to enable the treatment of the deepest regions of the liver. Each of the 8 emitters was divided into 32 individual transducers operating at 3 MHz. A 7.5 MHz ultrasound imaging probe (fractional bandwidth: 63%) was placed in the centre of the device to guide the treatment. The imaging plane was aligned with the HIFU focal zone.

It was planned to include 6 patients in this Phase I trial. Two single thermal ablations were created in each patient after laparotomy and just before the planned liver resection. A 85% ablation rate success was required to continue the study (Phase II). Secondary endpoint was to evaluate the preciseness of ultrasound imaging to visualize HIFU ablations. The hepatic volume accessible to such a therapy was also estimated. Fifteen anatomic vascular zones were defined to reach this goal. Using the ultrasound imaging guidance, it was planned to place these 15 zones in the focal zone of the transducer.

As expected, 12 HIFU lesions were performed. All were visible on ultrasound images. Consistent with our previous experience, the demarcation between ablated and non-ablated tissues was apparent in ultrasound images as a hypoechoic boundary and a large central hyperechoic zone. The dimensions measured on ultrasound imaging were correlated ( $r=0.92$ ) with dimensions measured during histological analysis. The average coagulated volume obtained from a 40 s total exposure in the liver was  $5.6 \pm 2.6$  cm<sup>3</sup> (extreme values: 1.9 – 11.4 cm<sup>3</sup>) with an average diameter of  $21.6 \pm 4.5$  mm (extreme values: 12.0 – 28.0 mm) and an average depth of  $28.4 \pm 6.3$  mm (extreme values: 20.0 – 43.0 mm). The patients have tolerated the treatment well. There was no hemodynamics and respiratory changes. No secondary HIFU lesion was observed in adjacent organs. No HIFU-related complications occurred during surgery and 30 days postoperatively. The average hepatic volume accessible using this device was on average 88%. Between 10 to 15 vascular zones (over the 15 planned) were

correctly placed in the focal zone of the transducer using the ultrasound imaging guidance.

This HIFU treatment using a toroidal transducer is feasible, safe and well tolerated. The HIFU approach presented in this study is characterized by the brevity of the treatment (40 seconds for one single ablation of 5-6 cm<sup>3</sup>). This device is capable of achieving selective ablation of predefined liver regions. Ultrasound imaging evidence of complete ablation of the target region can be taken to infer histological success.

## POCI, TRECAM : DEUX IMAGEURS GAMMA MINIATURISES POUR LE CANCER DU SEIN

Marie-Alix Duval<sup>1,2</sup>, Emmanuel Barranger<sup>3</sup>, Alexandre Bricou<sup>4</sup>, Batiste Janvier<sup>1</sup>,  
Françoise Lefebvre<sup>1</sup>, Laurent Ménard<sup>1</sup>, Estelle Netter<sup>1</sup>, Laurent Pinot<sup>1</sup>, Stéphanie Pitre<sup>5</sup>,  
Rainer Siebert<sup>1</sup> et Yves Charon<sup>1</sup>

<sup>1</sup> IMNC - UMR 8165 CNRS IN2P3 – Univ. Paris 7 et Paris 11, 91405 Orsay Cedex

<sup>2</sup> Département de physique, Université d'Evry Val d'Essonne, 91025 Evry Cedex

<sup>3</sup> Service de gynécologie obstétrique, Hôpital Lariboisière, 2, rue Ambroise Paré, 75010 Paris

<sup>4</sup> Service de gynécologie obstétrique, Hôpital Jean-Verdier, av du 14 Juillet, 93143 Bondy

<sup>5</sup> CSNSM - UMR 8609 CNRS IN2P3 – Univ. Paris 11, 91405 Orsay Cedex

Outils complémentaires des sondes mono-pixels, les gamma caméras compactes sont utiles pour localiser, faciliter l'exérèse des structures radio-marquées et simplifier les procédures. En permettant la réalisation d'images scintigraphiques, elles apportent une aide lors de la procédure du ganglion sentinelle (GS) dans le cancer du sein, et pourraient améliorer l'exérèse des tumeurs mammaires non palpables.

Dans ce contexte nous avons développé un imageur per-opératoire, POCI (Per-Operative Compact Imager), qui a été évalué lors d'un programme hospitalier de recherche clinique (P040417) incluant 162 patientes dans le protocole du GS du cancer du sein à l'hôpital Tenon. La gamma caméra POCI (Fig.1) a un champ de vue de 40 mm de diamètre et un poids total de 1,2 kg. Sa technologie permet une utilisation au contact du site opératoire. Dans l'étude, POCI a montré sa capacité à localiser les GS axillaires radioactifs aussi bien que la gamma caméra grand champ (lymphographie standard, LS). Parmi les 162 patientes, 138 ont pu être évaluées par POCI et par la LS en pré-opératoire [1]. Pour 25% des patientes, POCI a détecté moins de GS axillaires que la LS, pour 39%, autant et pour 36%, plus, ce qui a conduit à prouver la non-infériorité de POCI pour cet examen (95% IC 30-52%) avec une différence statistiquement significative ( $P = 0,025$ ). L'exploration de 131 patientes par POCI en per-opératoire a permis la détection uniquement par POCI de 21 GS résiduels chez 20 patientes (15%). Parmi ces 21 GS, 5 étaient métastasés. En moyenne les durées d'utilisation de POCI étaient de 15,7 minutes en pré-opératoire et de 7,5 minutes en per-opératoire. Il ressort que dans la procédure GS, POCI peut se substituer à la caméra grand champ et jouer un rôle décisif en per-opératoire.

Dans la continuité du projet POCI, une caméra pixelisée offrant de meilleures performances de détection, TReCam, (Tumor Resection Camera) a été développée dans le but d'un transfert industriel. Cette caméra est en cours d'évaluation dans le service de gynécologie de l'hôpital Lariboisière pour la procédure SNOLL (Sentinel Node and Occult Lesion Localization) permettant la prise en charge des cancers invasifs infra-cliniques du sein grâce à un repérage isotopique des tumeurs qui bénéficie aussi aux GS. Ce protocole prévoit l'utilisation de la sonde mono-pixel que viendra compléter l'imageur.

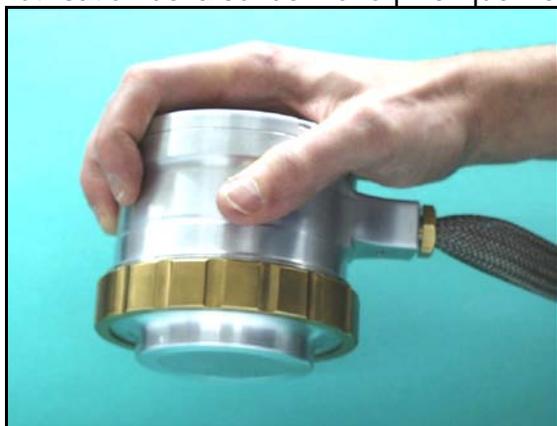


Fig 1 POCI



Fig 2 TReCam

La gamma caméra TReCam (Fig.2) offre un champ de vue carré de 25 cm<sup>2</sup> et un poids de 2,2 kg. Sa plus grande surface d'analyse permet une exploration plus rapide du champ opératoire. L'étude en cours prévoit l'inclusion d'une trentaine de patientes. La caméra sera utilisée pour le repérage des lésions radiomarquées, puis pour le contrôle après exérèse de la loge et de la pièce de tumorectomie. Il s'agit d'une étude sur la faisabilité et l'intérêt de l'utilisation de ce radio-imageur lors de la procédure SNOLL. Si l'intérêt de TReCam est démontré, une étude randomisée bicentrique comparant la procédure SNOLL avec et sans l'utilisation de TReCam sera effectuée.

[1] Kerrou et al. The Usefulness of a Preoperative Compact Imager, a Hand-Held  $\gamma$ -Camera for Breast Cancer Sentinel Node Biopsy: Final Results of a Prospective Double-Blind, Clinical Study. *Journal of Nuclear Medicine* 2011; **52**: 1346–53

## POCI, TRECAM : TWO PORTABLE GAMMA CAMERAS FOR BREAST CANCER

Marie-Alix Duval<sup>1,2</sup>, Emmanuel Barranger<sup>3</sup>, Alexandre Bricou<sup>4</sup>, Batiste Janvier<sup>1</sup>,  
Françoise Lefebvre<sup>1</sup>, Laurent Ménard<sup>1</sup>, Estelle Netter<sup>1</sup>, Laurent Pinot<sup>1</sup>, Stéphanie Pitre<sup>5</sup>,  
Rainer Siebert<sup>1</sup> et Yves Charon<sup>1</sup>

<sup>1</sup> IMNC - UMR 8165 CNRS IN2P3 – Univ. Paris 7 et Paris 11, 91405 Orsay Cedex

<sup>2</sup> Département de physique, Université d'Evry Val d'Essonne, 91025 Evry Cedex

<sup>3</sup> Service de gynécologie obstétrique, Hôpital Lariboisière, 2, rue Ambroise Paré, 75010 Paris

<sup>4</sup> Service de gynécologie obstétrique, Hôpital Jean-Verdier, av du 14 Juillet, 93143 Bondy

<sup>5</sup> CSNSM - UMR 8609 CNRS IN2P3 – Univ. Paris 11, 91405 Orsay Cedex

Mini gamma cameras are shown to be useful tools to complement mono-pixel probes in the localization and excision of radio-marked tissues. They make the procedures faster and simpler. During the sentinel node (SN) biopsy in breast cancer they help the surgeon who can thus perform intraoperative scintigraphy. They could also improve the ablation of non-palpable mammary tumours.

In this frame we have developed a per-operative imager, POCI (Per-Operative Compact Imager), that has been evaluated in a clinical trial (P040417) including 162 breast cancer patients in the SN protocol at Tenon hospital, Paris. The gamma camera POCI (Fig.1) has 40 mm diameter field of view and a total weight of 1.2 kg. Its technology allows it to be used in contact with the operating field. The results show that POCI is able to localize radioactive axillary SN as well as the large field-of-view gamma camera (standard lymphoscintigraphy, LS). Among the 162 patients included, 138 were evaluated preoperatively by POCI and the LS [1]. POCI detected more axillary SN than did the LS in 50 patients (36%), the same number of in 54 patients (39%), and fewer SN in 34 patients (25%) which has lead to the conclusion that POCI was non-inferior for that examination with a statistically significant difference (95% CI 30-52%,  $P = 0,025$ ). In the operating room, 131 patients were evaluated. Twenty-one residual SN were found in 20 patients (15%) by POCI only and not by the mono-pixel probe. Among these nodes 5 were metastasized. The mean whole procedure acquisition time for POCI was 15.7 mins for preoperaptive imaging and 7,5 mins intraoperatively. The trial shows that POCI can replace the large gamma camera and that it plays a crucial role in the operating room.



Fig 1 POCI

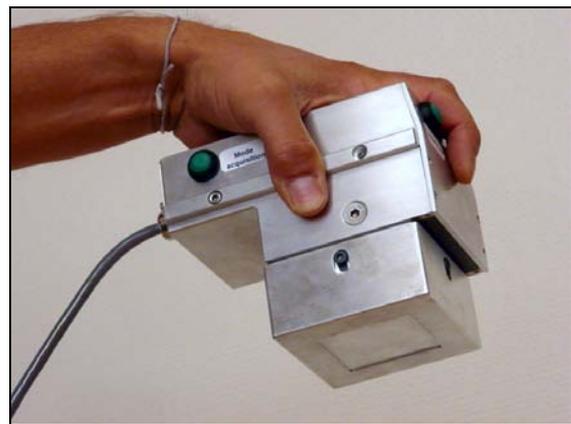


Fig 2 TReCam

After that, a pixelated camera, TReCam, (Tumor Resection Camera) was built. It offers better detection performances, and above all its development was conducted to lead to an industrial transfer. This camera is now being tested in the gynecology department at Lariboisière hospital, Paris, in the SNOLL (Sentinel Node and Occult Lesion Localization) protocol allowing the isotopic detection of non palpable invasive breast cancer and associated SN. So far this procedure was performed with the mono-pixel probe only.

The gamma camera TReCam (Fig.2) offers a square field of view of 25 cm<sup>2</sup> and a weight of 2.2 kg. Its larger sensitive area allows a quicker scan of the operative field. The ongoing trial will include about 30 patients. The camera will be used to localize radioactive lesions, and to control the lumpectomy bed and specimen after excision. This study is about feasibility and interest of using this radio-imaging device during the SNOLL procedure. If TReCam shows any interest, a randomised bi-centric study comparing the SNOLL procedure with and without Trecam will be launched.

[1] Kerrou et al. The Usefulness of a Preoperative Compact Imager, a Hand-Held  $\gamma$ -Camera for Breast Cancer Sentinel Node Biopsy: Final Results of a Prospective Double-Blind, Clinical Study. *Journal of Nuclear Medicine* 2011; **52**: 1346–53

## ADRESSAGE D'UN GENE A UNE TUMEUR VIA DES CELLULES SANGUINES CIRCULANTES: CONTROLE DE L'EXPRESSION PAR HYPERTHERMIE LOCALE ET SUIVI PAR IMAGERIE

FORTIN Pierre-Yves<sup>1,2</sup>, LEPETIT-COIFFE Matthieu<sup>2</sup>, GENEVOIS Coralie<sup>3</sup>, DEBEISSAT Christelle<sup>1</sup>, QUESSON Bruno<sup>1</sup>, MOONEN Chrit<sup>1</sup>, KONSMAN Jan Pieter<sup>2</sup>, COUILLAUD Franck<sup>2</sup>.

<sup>1</sup> Laboratoire d'Imagerie Moléculaire et Fonctionnelle, CNRS/UMR5231 Université Bordeaux2.

<sup>2</sup> Laboratoire de Résonance Magnétique des Systèmes Biologiques (RMSB), CNRS/UMR 5536 Université Bordeaux 2

<sup>3</sup> UMS 3428, Université Bordeaux Segalen

Contact e-mail: [py.fortin@rmsb.u-bordeaux2.fr](mailto:py.fortin@rmsb.u-bordeaux2.fr)

**Introduction:** Les thérapies géniques et cellulaires ouvrent de nouvelles perspectives pour le traitement de pathologies très diverses. Cependant, l'adressage à un organe cible, le contrôle non invasif de l'expression d'un transgène et le suivi par imagerie constituent encore des défis majeurs pour le développement de ces approches thérapeutiques. La combinaison entre l'utilisation d'un vecteur cellulaire et une modification génique de ce vecteur pour exprimer un transgène spécifique semble une solution prometteuse. Mais même adressé, il reste très difficile de restreindre l'expression du transgène exclusivement à la région cible et de contrôler l'expression génique dans le temps et l'espace. C'est pourquoi nous proposons une approche originale pour l'activation contrôlée de l'expression génique *in vivo* qui consiste à utiliser une greffe de moelle osseuse génétiquement modifiée pour exprimer des gènes thérapeutiques placés sous le contrôle d'un promoteur thermo-inductible et à coupler cette procédure à une hyperthermie localisée induite par des ultrasons focalisés guidés par Imagerie de Résonance Magnétique (IRM) de température (MRgHIFU).

**Méthode:** La stratégie consiste à générer une souris chimère par greffe de moelle osseuse. La souris donneuse est une souris transgénique qui exprime le gène rapporteur bioluminescent de la luciférase Firefly (lucF) et le gène rapporteur fluorescent de la protéine mPlum sous le contrôle du promoteur thermosensible Hsp70a1b. La souris receveuse est une souris congénique prétraitée au Busilvex® pour créer une aplasie médullaire. Deux mois après, le pourcentage de greffe est déterminé par cytométrie de flux puis une tumeur sous-cutanée est induite sur la patte arrière gauche des souris par injection sous-cutanée de cellules tumorales de souris (Carcinoma Mouse Tumor: CMT-93). Pendant la période de croissance tumorale (1 mois) les processus physiologiques conduisent au recrutement des cellules sanguines circulantes dans la zone péri-tumorale sans expression des transgènes. L'activation du promoteur Hsp70 est alors réalisée en créant une hyperthermie locale grâce aux MRgHIFU. L'IRM permet d'obtenir des cartes thermiques utilisées pour asservir un générateur d'ultrasons et pour contrôler le chauffage (45°C, 8 min, +/- 1°C).

**Résultats:** L'expression de la lucF est détectée *in vivo* par imagerie de bioluminescence (BLI) 6 H après chauffage alors que l'expression de la protéine mPlum est quant à elle révélée 30 H après chauffage par imagerie de fluorescence (FRI). A la suite de l'imagerie, les souris sont sacrifiées et une analyse histologique de la tumeur et des tissus aux alentours est réalisée grâce à l'expression de la protéine mPlum. L'expression thermo-induite de la lucF et de la protéine mPlum a été

caractérisée *in vivo* et *in vitro*. L'expression des gènes rapporteurs lucF et mPlum est réalisée de façon inductible dans les cellules hématopoïétiques de la souris chimère et intervient, comme attendu, dans les zones péri-tumorales chauffées. Mais parfois, de façon plus surprenante, dans des zones spécifiques (os) non chauffées. Après identification par histologie de la protéine mPlum, nous retrouvons le signal transgénique au niveau de la tumeur principalement dans les macrophages mais aussi dans quelques lymphocytes. Au niveau des os, l'expression transgénique thermo-induite est retrouvée dans des macrophages ou des progéniteurs myéloïdes. Nous avons pu démontrer la faisabilité de cette approche.

## DELIVERY OF A BIOLUMINESCENT TRANSGENE TO A TUMOR VIA BONE MARROW ENGRAFTMENT AND LOCAL CONTROL OF GENE EXPRESSION BY NON INVASIVE LOCAL HYPERTHERMIA

FORTIN Pierre-Yves<sup>1,2</sup>, LEPETIT-COIFFE Matthieu<sup>2</sup>, GENEVOIS Coralie<sup>3</sup>, DEBEISSAT Christelle<sup>1</sup>, QUESSON Bruno<sup>1</sup>, MOONEN Chrit<sup>1</sup>, KONSMAN Jan Pieter<sup>2</sup>, COUILLAUD Franck<sup>2</sup>.

<sup>1</sup> Laboratoire d'Imagerie Moléculaire et Fonctionnelle, CNRS/UMR5231 Université Bordeaux2.

<sup>2</sup> Laboratoire de Résonance Magnétique des Systèmes Biologiques (RMSB), CNRS/UMR 5536 Université Bordeaux 2

<sup>3</sup> UMS 3428, Université Bordeaux Segalen

Contact e-mail: [py.fortin@rmsb.u-bordeaux2.fr](mailto:py.fortin@rmsb.u-bordeaux2.fr)

Présentation orale

Thème: La thérapie guidée par l'imagerie

**Introduction:** Success of a gene therapy strategy depends on several parameters including the choice of the therapeutic gene, the efficiency of the delivery method and the reliability of the control of gene expression. Molecular imaging tools are of utmost importance to follow the time course of gene therapy at preclinical and clinical levels. In the present study, we investigate an *in vivo* strategy to deliver a transgene to a tumor and to locally control its expression. This strategy includes bone marrow engraftment of genetically engineered cells to create a chimera with nucleated circulating blood cells (CBCs) expressing the firefly luciferase (LucF) and mPlum protein under the transcriptional control of a thermosensitive promoter. Later on, a subcutaneous tumor is induced. LucF and mPlum expression are detected by bioluminescence imaging (BLI) and fluorescence imaging (FRI) induced "on demand" by local hyperthermia using MR guided high-intensity focused ultrasound (MRgHIFU). When a subcutaneous tumor is induced, circulating leukocytes accumulate into and around the tumor as part of an inflammatory process. In the present study, using a double transgenic (luciferase + mPlum) mouse as BMC donor, we followed *in vivo* leukocyte accumulation using both bioluminescence imaging (BLI) and fluorescence imaging (FRI). In addition, we identified cell types expressing the transgene by fluorescent microscopy on tissue sections.

**Methods:** BMC were obtained from C57/BL6 (CD45.2) transgenic mice expressing firefly luciferase (LucF) and mPlum genes under transcriptional control of the heat shock protein 70 (Hspa1b) promoter. BMC were transplanted into CD45.1 mouse pre-treated with Busilvex® (25 mg/Kg) to induce medular aplasia. Engraftment efficiency was measured 2 months later by flux cytometry (CD45.1/CD45.2). Tumors (CMT-93) were implanted subcutaneously on the leg and heated by focused ultrasound (44°C, 8 min) 1 month later for transgene activation. LucF and mPlum expression were monitored *in vivo* by BLI and FRI. Chimeric mice were then fixed by intracardiac perfusion of 4% paraformaldehyde. Double immunohistochemistry was performed on 30 µm-thick tumor sections. mPlum was revealed using rabbit polyclonal DsRed primary antibody and anti-rabbit Alexa 546 secondary antibody. Macrophages and lymphocytes were revealed using CD68 and CD45-R antibodies, respectively, biotinylated secondary antibody and avidin-coupled Alexa 488. Slices were mounted with medium including DAPI coloration and visualized by epifluorescence and confocal microscopy.

**Results:** After 2 months, about 80% of engrafted mice exhibited more than 65% of donor CBCs. CMT-93 cells formed tumors ranging from 5 and 10 mm in one month. Tumors heated (44°C, 8 min) by dipping the tumor-bearing leg into a water bath, in mice exhibiting more than 65% of engraftment, induced lucF activation and transient light emission 6 hours later. Local heating (44°C, 8 min) of the tumor allowed for detection of BLI and FRI signals in and around the tumor. Maximum BLI signal was found 6 hrs post-heating while FRI signal appeared later (around 30 hrs). In tissue sections, mPlum was mainly detected in CD68-positive cells and much more rarely in CD45-R-positive cells.

**Conclusions:** Local heating of tumors induced expression of transgenes placed under the Hspa1b promoter in bone marrow-derived cells. Most of these cells remained in the vicinity of or within the tumor as both luciferase activity 6 hrs and mPlum fluorescence 30 hrs post-heating were concentrated at the tumor site. Transgenic bone marrow derived cells were identified as macrophages in tumor sections. Bone marrow engraftment of genetically engineered cells may thus be used to address transgenes to a tumor. The bioluminescent chimera mice express the lucF reporter in hematopoietic cells. This model allows for studying gene delivery to tumor using circulating blood cells. Local gene expression was induced “on demand” by local hyperthermia.

# RADIOTHERAPIE ADAPTATIVE APPLIQUEE AUX CANCERS DE LA TETE ET DU COU

HUGER Sandrine<sup>1-2</sup>, GRAFF Pierre<sup>2-3</sup>, MARCHESI Vincent<sup>2</sup>, DIAZ Jean-Christophe<sup>4</sup>, WOLF Didier<sup>1</sup>, PEIFFERT Didier<sup>1-2</sup>, NOEL Alain<sup>1-2</sup>

<sup>1</sup>*Centre de Recherche en Automatique de Nancy (CRAN - UMR 7039), Nancy-Université, CNRS*

<sup>2</sup>*Centre Alexis Vautrin, avenue de Bourgogne, Nancy*

<sup>3</sup>*Ecole BioSe, Unité EA 4360, Nancy*

<sup>4</sup>*Dosisoft, 45/47 avenue Carnot, Cachan*

## **Introduction**

Les plans prévisionnels des traitements de radiothérapie sont calculés à partir d'une imagerie scannographique de référence. Néanmoins la pertinence d'utiliser une imagerie unique pour l'ensemble des séances de radiothérapie est remise en cause.

Le déplacement des organes, la fonte tumorale peuvent modifier l'anatomie du patient au cours des semaines d'irradiation.

Ces changements risquent d'altérer la distribution de dose du traitement planifié et pourraient affecter la dose délivrée à la tumeur ou aux organes à risques.

Ces dernières années, des systèmes d'imagerie couplés aux appareils de traitement ont été développés. Ils autorisent l'acquisition d'une imagerie tomographique 3D (Cone Beam Computed Tomography, CBCT-Varian®) du patient en position de traitement avant une séance d'irradiation.

Une caractéristique importante de cette imagerie réside dans la possibilité d'étalonner son signal en fonction de la densité électronique permettant d'effectuer un recalcul in vivo de la distribution de dose. Ce calcul est le reflet de la dose réellement délivré le jour du traitement.

Les différences entre la distribution de dose planifiée et la distribution de dose délivrée peuvent ainsi être appréhendées.

Le déploiement de ces systèmes a ouvert l'ère de la radiothérapie adaptative. L'objectif final est de développer des systèmes d'alerte dosimétrique pour identifier les situations où la replanification du traitement est requise. Si le recalcul de dose est acquis sur une imagerie CBCT, les outils de cumul des répartitions de dose provenant de plusieurs images CBCT restent à développer. Notre travail a pour objectif de valider les outils de recalage élastique, présent dans le logiciel Isogray (Dosisoft®), qui permettent le transfert automatique des structures dessinés sur le scanner de planification vers les images CBCT, en tenant compte de la déformation entre ces deux images. La validation de ce processus est l'étape préliminaire indispensable à la validation des informations dosimétriques cumulées.

## **Matériel et Méthode**

Un travail préliminaire a été mené sur plusieurs patients. Pour chacun, plusieurs organes à risque initialement dessinés sur le scanner de planification ont été redessinés sur chacune des imageries CBCT acquises au cours du traitement. L'adéquation de position et de conformation des volumes générés automatiquement par le processus de recalage élastiques et des volumes redessinés par le médecin a été analysée en utilisant, d'une part, l'indice de similarité DICE\* et d'autre part, un outil original qui permet la mesure de la position relative des organes à risque par rapport à certaines structures anatomiques de référence dans le patient.

## **Résultats**

La pertinence du développement des processus de radiothérapie adaptative semble confirmée. Un patient a présenté sur une image CBCT une fonte tumorale significative générant une majoration > 15% de la dose délivrée à la moelle et au tronc cérébral et responsable du dépassement des seuils de tolérance autorisés.

La valeur médiane de l'indice de similarité Dice pour tous les volumes étudiés est de 0,86, se rapprochant des données de la littérature. Cependant, cet indice s'avère peu fiable lorsque le volume de la structure étudiée est faible et il ne permet pas de quantifier la position relative des volumes.

L'analyse du positionnement des volumes relativement à certains repères anatomiques de référence est en cours mais les résultats semblent plus prometteurs car ils permettent de quantifier (mm) les écarts géographiques entre les volumes générés par le recalage élastique et ceux redessinés par le médecin.

### **Perspectives**

Les perspectives de travail s'orientent vers le développement d'un outil d'alerte dosimétrique in vivo simple, ne requérant pas la redélimitation des structures sur les images CBCT, et permettant de détecter les situations où la replanification du plan de traitement est requise.

\* Indice de similarité DICE (pour 2 volumes A et B) :  $2 | A \cap B | / | A | + | B |$ .

# RADIOTHERAPIE ADAPTATIVE APPLIQUEE AUX CANCERS DE LA TETE ET DU COU

HUGER Sandrine<sup>1-2</sup>, GRAFF Pierre<sup>2-3</sup>, MARCHESI Vincent<sup>2</sup>, DIAZ Jean-Christophe<sup>4</sup>, WOLF Didier<sup>1</sup>, PEIFFERT Didier<sup>1-2</sup>, NOEL Alain<sup>1-2</sup>

<sup>1</sup>*Centre de Recherche en Automatique de Nancy (CRAN - UMR 7039), Nancy-Université, CNRS*

<sup>2</sup>*Centre Alexis Vautrin, avenue de Bourgogne, Nancy*

<sup>3</sup>*Ecole BioSe, Unité EA 4360, Nancy*

<sup>4</sup>*Dosisoft, 45/47 avenue Carnot, Cachan*

## Introduction

In radiotherapy the projected treatment plans are computed from a reference scanned image. Nevertheless the relevance of using a single imaging for the radiotherapy session is reconsidered. The organ displacement, the tumour wasting can modify the patient anatomy during the irradiation weeks. These changes risk damaging the treatment plan and could affect the tumour and organs at risk delivered dose.

These last years, imaging systems coupled to treatment device have been developed. They authorize the patient 3D tomography acquisition (Cone Beam Computed Tomography, CBCT - Varian®) in treatment position before an irradiation session. An important feature of this imaging reside in the possibility of calibrate the signal in function of the electronic density allowing the in vivo dose distribution recalculation. This calculation reflects the real treatment dose of the day. Differences between planned dose and delivered dose can be studied, opening the field of adaptive radiotherapy.

The main goal is to develop a dosimetric alert to identify the necessity of treatment replanning. If the dose recalculation on one CBCT image is acquired, the add-up tools for dose distribution coming from different CBCT images remain to develop. Our work has for objective to validate the deformable registration present in the Isogray software (Dosisoft®), which allows the automatic transfer of the drawing structures from the CT imaging to the CBCT images considering the deformation between the two imaging.

The validation of this process is the essential preliminary step to the add-up dosimetric information validation.

## Material and Method

A preliminary work has been conducted on some patients. For each, several initial CT drawing organs at risks have been redrawn on each CBCT acquired during the treatment.

The position and conformation adequacy of the automatic generated volumes and the medical volumes has been analysed with two tools: the DICE similarity index and another original tool which allows the organs at risks relative position measure in comparison to others references structures in the patient.

## Results

The relevant of the adaptive radiotherapy process development seems confirming.

A patient has presented a significant tumour wasting on a CBCT imaging yielding a >15 % increased delivered dose to the spinal cord and the brainstem and responsible for the exceeding of the authorized tolerance thresholds.

The DICE similarity index median value for all the studied volumes is 0.86, close to bibliography data. However, this index is not very reliable especially when the studied structure volume is small and it does not allow the relative organs at risks position quantification.

The analyse of the volumes position in relative to some reference anatomic marks is in progress but the results seem more hopeful because they let us to quantify (mm) the geographic gaps between the deformable registration generate volumes and those redrawn by the doctor.

## Perspectives

The work perspectives focus on a simple dosimetric in vivo alert tool development, which don't require the CBCT images structures drawing and allowing the situations when treatment replanning is needed.

\* DICE similarity index:  $2 |A \cap B| / (|A| + |B|)$

## Stereotactic High Intensity Focused Ultrasound: a novel non invasive modality for brain treatments

AUBRY Jean-Francois<sup>1</sup>, MARSAC Laurent<sup>1,2</sup>, YOUNAN Youliana<sup>1</sup>, PERNOT Mathieu<sup>1</sup>, CHAUVET Dorian<sup>3</sup>, BOCH Anne-Laure<sup>3</sup>, LEHERICY Stéphane<sup>4</sup>, SALAMEH Najat<sup>5</sup>, DARRASSE Luc<sup>5</sup>, FINK Mathias<sup>1</sup>, TANTER Mickaël<sup>1</sup>

<sup>1</sup> *Institut Langevin, CNRS UMR 7587, INSERM U979, ESPCI ParisTech, France*

<sup>2</sup> *SuperSonic Imagine, Aix en Provence, France*

<sup>3</sup> *Neurosurgery Department, Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière, Paris, France*

<sup>4</sup> *Centre de NeuroImagerie de Recherche - CENIR,*

*Centre de Recherche de l'Institut du Cerveau et de la Moelle épinière,*

*Université Pierre et Marie Curie-Paris 6 UMR-S975, Inserm U975, CNRS UMR 7225,*

*Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière, Paris, France*

<sup>5</sup> *IR4M, UMR8081 CNRS - Université Paris Sud 11*

Focaliser des ultrasons à travers la boîte crânienne est un défi en raison de la forte atténuation par l'os et des aberrations de phase qu'il induit, en particulier aux hautes fréquences utilisées ici (1 MHz). Pour maximiser l'intensité au foyer, la meilleure façon d'effectuer une correction d'aberration est d'utiliser le retournement temporel. Des études antérieures sur des crânes secs explantés ont démontré la faisabilité du retournement temporel non-invasif basé sur la simulation de la propagation acoustique transcrânienne. Dans ce cas, la simulation acoustique 3D s'appuie sur les paramètres du crâne à chaque point obtenu par tomodensitométrie scanner. Cette approche a été validée ici en conditions pré-cliniques sur des têtes de cadavre en utilisant l'IRM pour la sélection de cibles anatomiques et le scanner pour la simulation basée sur la correction des aberrations. La mesure de la température par des séquences IRM dédiée ont permis de localiser la position réelle des tissus chauffés ainsi que d'estimer l'élévation de température. Les objectifs de la présente étude étaient en effet d'estimer la précision de l'ensemble de la procédure, et d'évaluer les performances de la simulation basée sur la focalisation.

Douze têtes de cadavre (avec consentement des donneurs avant décès, tous de plus de 70 ans) ont été extraits 24 à 72 heures après la mort. La planification du traitement a été effectuée en utilisant des images IRM de haute résolution (0.8x0.8x0.8 mm<sup>3</sup>) et le noyau thalamique ventral intermedium situé au centre du cerveau a été la cible, dans l'un des hémisphères. Le scanner de la tête a ensuite été effectué à une résolution de 0.4x0.4x0.7 mm<sup>3</sup>, puis fusionné avec les images IRM et utilisé pour effectuer la simulation acoustique de la propagation transcrânienne. Ce travail a été effectué dans un scanner clinique Philips 1.5T Achieva. Le faisceau d'ultrasons focalisés de haute intensité a été généré en utilisant un appareil compatible IRM de 512 éléments dédié à la focalisation transcrânienne et fonctionnant à 1MHz (SuperSonic Imagine, France). La séquence d'imagerie de température IRM est une séquence de décalage de fréquence du proton utilisant un écho de gradient 3D (TE: 20 ms / TR: 100 ms, résolution spatiale: 1.5x1.5x3 mm<sup>3</sup>, angle de bascule: 20 °, durée d'acquisition: 2,5 s). Des sonications avec et sans correction d'aberration ont été effectuées pendant 10 s. Après traitement, les crânes

de neuf têtes ont été extraits, nettoyés et dégazés pour réaliser des mesures d'atténuation par hydrophone.

Des élévations de température de +6°C à +10°C ont été atteintes à l'endroit ciblé. Basé sur des données d'IRM, la précision du traitement était de 0,4 +/- 1 mm dans la direction gauche / droite, 0,7 +/- 1,2 mm dans la direction antéro / postérieur et 0,5 +/- 2,4 mm dans la direction pied / tête. L'atténuation des crânes mesurés sur les crânes extraits valait en moyenne -11,4 dB. Les variations d'absorption du crâne (-16 dB à -8 dB) sont corrélées avec l'élévation de la température maximale atteinte dans la tête correspondante.

## Stereotactic High Intensity Focused Ultrasound: a novel non invasive modality for brain treatments

AUBRY Jean-Francois<sup>1</sup>, MARSAC Laurent<sup>1,2</sup>, YOUNAN Youliana<sup>1</sup>, PERNOT Mathieu<sup>1</sup>, CHAUVET Dorian<sup>3</sup>, BOCH Anne-Laure<sup>3</sup>, LEHERICY Stéphane<sup>4</sup>, SALAMEH Najat<sup>5</sup>, DARRASSE Luc<sup>5</sup>, FINK Mathias<sup>1</sup>, TANTER Mickaël<sup>1</sup>

<sup>1</sup> *Institut Langevin, CNRS UMR 7587, INSERM U979, ESPCI ParisTech, France*

<sup>2</sup> *SuperSonic Imagine, Aix en Provence, France*

<sup>3</sup> *Neurosurgery Department, Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière, Paris, France*

<sup>4</sup> *Centre de NeuroImagerie de Recherche - CENIR,*

*Centre de Recherche de l'Institut du Cerveau et de la Moelle epiniere,*

*Université Pierre et Marie Curie-Paris 6 UMR-S975, Inserm U975, CNRS UMR 7225,*

*Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière, Paris, France*

<sup>5</sup> *IR4M, UMR8081 CNRS - Université Paris Sud 11*

Focusing beams through the human skull is challenging because of its strong attenuation and phase aberration, especially at the high frequency used here (1 MHz). For intensity maximization at focus, the optimal way to perform aberration correction for is to use the time reversal or phase conjugation. Previous studies on explanted desiccated skulls demonstrated the feasibility of non invasive phase conjugation based on high frequency transcranial acoustic simulation. In this case the 3D acoustic simulation relies on skull parameters at each point obtained by CT scan. This work is extended here on intact ex-vivo human head using MRI for anatomic target selection and CT scan for simulation-based aberration correction. MR temperature monitoring of the target area enabled to locate the actual position of the heated tissue as well as to estimate the temperature elevation. The aims of the present study were indeed to estimate the accuracy of the whole procedure, evaluate the simulation-based focusing performance and attenuation of the skulls.

Twelve cadaver heads (full consent donors, all over 70 years old) were extracted 24 to 72 hours after death. Treatment planning was done using high resolution MR images (0.8x0.8x0.8 mm<sup>3</sup>) and the thalamic nucleus ventrointermedius located at the center of the brain was targeted, in one of the hemispheres. The CT scan of the head was then done at a resolution of 0.4x0.4x0.7 mm<sup>3</sup>, registered with the MR images and used to perform the time reversal acoustic simulation through the skull by 3D finite difference time domain. This work was done in a clinical Philips 1.5 T Achieva scanner. The High Intensity Focused Ultrasound (HIFU) beam was generated using a MR compatible 512 elements US phased array dedicated to transcranial human experiments and operating at 1 MHz (SuperSonic Imagine, France). A MR proton frequency shift sequence using 3D gradient echo EPI (TE: 20 ms / TR: 100 ms, spatial resolution: 1.5x1.5x3 mm<sup>3</sup>, flip angle: 20°, time: 2.5 s) was implemented to accurately measure temperature elevations. Sonications with and without aberration correction were done during 10 s with the same acoustic power and the maximum temperature elevation reached was recorded. After the treatment the skulls of nine heads were extracted, cleaned and degassed in water tank for hydrophone attenuation measurements.

Temperature elevations of +6°C to +10°C were reached at the targeted location. Based on MRI data, the accuracy of MR-guided HIFU was 0.4 +/- 1 mm in the Right/Left direction, 0.7 +/- 1.2 mm in the Antero/Posterior direction and 0.5 +/- 2.4 mm in the Foot/Head direction. Global skull attenuations measured on extracted skulls were found to be -11.4 dB. Skull to skull variations in attenuation (-16 dB to -8 dB) correlates well with the maximum temperature elevations reached in the corresponding heads.